



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**USO DE MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS NA CULTURA
DO FEIJOEIRO**

CÁSSIA CRISTINA REZENDE

**Orientador:
Dr. Adriano Stephan Nascente**

Goiânia, GO
Fevereiro - 2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☒ Dissertação ☐ Tese

2. Nome completo do autor

Cássia Cristina Rezende

3. Título do trabalho

Uso de microrganismos multifuncionais na cultura do feijoeiro

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☐ SIM ☒ NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
 - b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por ADRIANO STEPHAN NASCENTE, Usuário Externo, em 24/02/2021, às 17:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por CÁSSIA CRISTINA REZENDE, Discente, em 24/02/2021, às 19:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1827330 e o código CRC C1E03DCA.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☒ [X] Dissertação ☐ [] Tese ☐ [] Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Cássia Cristina Rezende

3. Título do trabalho

Uso de microrganismos multifuncionais na cultura do feijoeiro

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☒ [X] SIM ☐ [] NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **ADRIANO STEPHAN NASCENTE, Usuário Externo**, em 01/02/2023, às 10:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cassia Cristina Rezende, Discente**, em 01/02/2023, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3496293** e o código CRC **34A37A62**.

CÁSSIA CRISTINA REZENDE

**USO DE MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS NA CULTURA DO
FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Produção vegetal

Orientador:

Dr. Adriano Stephan Nascente

Coorientadora 1:

Prof^a. Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi

Coorientadora 2:

Prof^a. Dr^a. Anna Cristina Lanna

Goiânia, GO - Brasil

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Rezende, Cássia Cristina
Uso de Microrganismos Multifuncionais na Cultura do Feijoeiro
[manuscrito] / Cássia Cristina Rezende. - 2021.
LXXXI, 81 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Stephan Nascente; co-orientadora
Dra. Marta Cristina Corsi de Filippi; co-orientador Dr. Anna Cristina
Lanna.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Agronomia (EA), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Goiânia,
2021.

Bibliografia. Apêndice.
Inclui fotografias, tabelas.

1. Phaseolus vulgaris. 2. Promoção de crescimento. 3. Trocas
gasosas. 4. Biomassa. 5. Rendimento. I. Nascente, Adriano Stephan,
orient. II. Título.

CDU 631/635



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata Nº 16/2021 da sessão de Defesa de Dissertação de Cássia Cristina Rezende que confere o título de Mestra em Agronomia, na área de concentração em Produção Vegetal.

Aos 23/02/2021 vinte e três dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um, a partir das 14:00 quatorze horas, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal na cultura do feijoeiro”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador e Presidente da Banca Examinadora, Dr. Adriano Stephan Nascente (Embrapa Arroz e Feijão) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Profa. Moemy Gomes de Moraes (ICB/UFG), membro titular interno; Dr. Mabio Chrisley Lacerda (Embrapa Arroz e Feijão), membro titular externo. Durante a arguição, os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho, conforme explicitado abaixo. Após a arguição, a Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata APROVADA pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Presidente da Banca Examinadora, Dr. Adriano Stephan Nascente, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos 23/02/2021 vinte e três dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Uso de microrganismos multifuncionais na cultura do feijoeiro



Documento assinado eletronicamente por ADRIANO STEPHAN NASCENTE, Usuário Externo, em 23/02/2021, às 16:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Mabio Chrisley Lacerda, Usuário Externo, em 24/02/2021, às 05:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Moemy Gomes De Moraes, Professora do Magistério Superior, em 24/02/2021, às 13:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 informando o código verificador 1827291 e o código CRC 47F3D071.

Referência: Processo nº 23070.003852/2021-63

SEI nº 1827291

À Deus minha fonte de forças,
pela concretização de mais uma batalha.
Aos meus pais, a quem amo profundamente, e
agradeço por terem me apoiado ao longo de toda essa jornada.
À minha avó Maria Aparecida Bastos (*in memoriam*) e
meu avô Revalino Neca da Silva (*in memoriam*), essa vitória
também é de vocês!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me concedeu o dom da vida e me permitiu chegar até aqui, me dando sabedoria, paciência e força para superar os obstáculos e realizar essa conquista.

À minha família, em especial a minha mãe Lucia Helena da Silva, ao meu pai José Carlos Rezende, minha irmã Kézia Cristina Rezende e ao meu irmão Paulo César Rezende. Vocês são meu porto seguro, sem vocês nada do que conquistei até agora seria possível. Obrigada por confiarem que eu seria capaz de concretizar essa jornada! Amor incondicional!

Ao meu namorado Mohmed Luqman Mirza por todo apoio emocional, parceria, suporte e paciência. Obrigada por me incentivar e acreditar no meu potencial! Amo você!

Aos meus afilhados José Otávio Ribeiro Silva e Anna Clara Resende Silva e aos meus sobrinhos Aaira e Aahil por me fazerem querer ser uma pessoa melhor a cada dia. Ao Cleiton, Washington, Clarissy, Tia Aparecida e Tia Teca por me incentivarem e se alegrarem pelas minhas conquistas.

Aos amigos que compartilharam essa jornada comigo, Aline Franciel de Andrade, Jaqueline Lima da Conceição e Denner Robert Faria e aqueles que tive a oportunidade de conhecer e firmar um verdadeiro laço de amizade, Mariana Aguiar Silva e Laylla Luanna de Mello Frasca.

Ao meu orientador Dr. Adriano Stephan Nascente e às minhas co-orientadoras Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi e Dr^a. Anna Cristina Lanna. Obrigada por compartilharem todo conhecimento teórico e prático durante esse tempo. Obrigada por fazerem parte dessa jornada comigo e me tornar uma profissional melhor.

A Embrapa Arroz e Feijão, equipe técnica e estagiários pelo auxílio na execução da minha pesquisa, em especial ao Jadelson, Rafael e Caiado.

A Universidade Federal de Goiás pela oportunidade de realizar essa jornada do Mestrado;

A Capes pela concessão da bolsa de estudo;

Aos pesquisadores Dr. Mábio, Dr^a. Moemy, Dr. José Francisco, Dr^a. Adriane e Dr. Tarcísio pela disponibilidade, contribuição e parceria;

É muito difícil expressar em palavras a gratidão que sinto por todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho. Entretanto, tentei fazê-lo da melhor forma possível. Muito obrigada!

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas continue em frente de qualquer jeito.” (Martin Luther King)

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS: USE IN AGRICULTURE	16
2.1 INTRODUÇÃO	17
2.2 DESENVOLVIMENTO	18
2.2.1 Aspectos gerais dos microrganismos multifuncionais	18
2.2.2 Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal	20
2.2.3 Fungos promotores de crescimento vegetal	21
2.2.4 Mecanismos de ação dos microrganismos multifuncionais	21
2.2.4.1 Fixação biológica de nitrogênio	21
2.2.4.2 Solubilização de fosfato	23
2.2.4.3 Produção de hormônios	24
2.2.4.4 Produção de sideróforos	25
2.2.4.5 Produção de biofilme	26
2.2.4.6 Controle biológico	26
2.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
2.4 REFERÊNCIAS	28
3 PHYSIOLOGICAL AND AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF THE COMMON BEAN AS AFFECTED BY MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS	33
3.1 INTRODUCTION	34
3.2 MATERIAL AND METHODS	35
3.3 RESULTS AND DISCUSSION	38
3.4 CONCLUSION	47
3.5 REFERENCES	47
4 PHYSIOLOGICAL AND AGRONOMIC PERFORMANCE OF THE COMMON BEAN TREATED WITH MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS	52
4.1 INTRODUCTION	53
4.2 MATERIAL AND METHODS	53
4.3 RESULTS	56
4.4 DISCUSSION	61
4.5 CONCLUSION	63
4.6 REFERENCES	63
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
6 REFERÊNCIAS	68
APÊNDICES	70

RESUMO

REZENDE, C. C. **Uso de microrganismos multifuncionais na cultura do feijoeiro**. 2021. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção vegetal) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2021¹.

O feijão-comum é um produto com alta importância econômica e social no Brasil sob o ponto de vista alimentar. Atualmente, o desafio está no aumento da produtividade aliado a redução do uso de agrotóxicos e fertilizantes sintéticos, buscando uma produção sustentável com ganhos sociais, ambientais e econômicos. Nesse aspecto, a utilização de alternativas tecnológicas como os microrganismos multifuncionais (MM) é considerada uma opção para melhoria das práticas agrícolas. O objetivo desta pesquisa foi determinar o efeito do uso de microrganismos multifuncionais, isolados ou em mistura nas trocas gasosas, produção de biomassa de parte aérea, de raiz e total, acúmulo de nutrientes na parte aérea, raízes e grãos, componentes de produção e produtividade na cultura do feijão-comum. Foram conduzidos dois experimentos em condições controladas (casa de vegetação), no primeiro e segundo semestre de 2019. Nos dois experimentos, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo 26 tratamentos e três repetições. Os tratamentos consistiram na aplicação de MM e suas combinações em pares, com nove rizobactérias isolados BRM 32109, BRM 32110 e 1301 (*Bacillus* sp.), BRM 32111 e BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.) e Ab-V5 (*Azospirillum* brasilense), um isolado fúngico edáfico T-26 (*Trichoderma koningiopsis*) e um controle (sem MM). Esses MM foram aplicados em três momentos: microbiolização das sementes, rega do solo sete dias após a semeadura (DAS) e pulverização das plantas 21 DAS. A diferença entre os experimentos foi a cultivar de feijoeiro utilizada, BRS Uai no primeiro e BRS FC 402 no segundo. Com base nos resultados, pode-se inferir que alguns dos microrganismos testados, aplicados isoladamente ou em combinação, proporcionaram incrementos significativos nas trocas gasosas, produção de biomassa de parte aérea, de raiz e total, acúmulo de nutrientes e rendimento de grãos na cultura do feijão-comum. No primeiro experimento, os isolados 1301 e T-26, além das combinações Ab-V5 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110 e 1381 + T-26 proporcionaram melhores resultados, uma vez que permitiram aumentar 36,5% na produção de grãos, maior acúmulo de biomassa (78,0%) e maior teor de N, P e K (42,6; 67,8 e 25,7%, respectivamente) na parte aérea do feijão-comum. No segundo experimento, os isolados Ab-V5 e BRM 32112, além das combinações BRM 32114 + T-26, 1301 + BRM 32110 e BRM 32114 + BRM 32110 foram os tratamentos de destaque, proporcionando aumentos nas trocas gasosas (condutância estomática - 79,1% e transpiração - 10,0%), no teor de macronutrientes (N - 63,3% e P - 56,7%, na parte aérea e P - 42,7%, nas raízes) e no desempenho agrônômico, proporcionando o dobro do rendimento de grãos. Portanto, os resultados permitem inferir que o uso de MMs é uma boa estratégia para proporcionar aumentos no rendimento de grãos de feijão-comum. Entretanto, estudos devem ser realizados em campo para confirmar os bons resultados obtidos em condições controladas.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*, promoção de crescimento, trocas gasosas, biomassa, acúmulo de nutrientes, rendimento.

¹Orientador: Dr. Adriano Stephan Nascente. Embrapa Arroz e Feijão.

Coorientadora 1: Dr^a Marta Cristina Corsi de Filippi. Embrapa Arroz e Feijão.

Coorientadora 2: Dr^a. Anna Cristina Lanna. Embrapa Arroz e Feijão.

ABSTRACT

REZENDE, C. C. **Use of multifunctional microorganisms in common bean crop.** 2021. 81 f. Dissertation (Master in Agronomy: Plant Production) - School of Agronomy, Federal University of Goiás, Goiânia, 2021¹.

Common beans are a product with high economic and social importance in Brazil from the food point of view. Currently, the challenge is to reduce the use of pesticides and synthetic fertilizers, seeking more sustainable production with social, environmental and economic gains. In this regard, the use of biotechnological alternatives such as multifunctional microorganisms (MM) are considered an option for improving agricultural practices. The objective of this research was to determine the effect of the use of multifunctional microorganisms, isolated or in mixture, in gas exchange, production of shoots, root and total biomass, accumulation of nutrients in the shoots, roots and grains, components of grain production and productivity in common bean culture. Two experiments were carried out under controlled conditions (greenhouse), in the first and second half of 2019. In both experiments, the experimental design was completely randomized, with 26 treatments and three replications. The treatments consisted of the application of MM and their combinations in pairs, with nine rhizobacteria isolated BRM 32109, BRM 32110 and 1301 (*Bacillus* sp.), BRM 32111 and BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.) And Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*), a T-26 edaphic fungal isolate (*Trichoderma koningiopsis*) and a control (without MM). These MM were applied in three moments: microbiolization of the seeds, watering of the soil seven days after sowing (DAS) and spraying of the plants 21 DAS. The difference between the experiments was the common bean cultivar used, BRS Uai in the first and BRS FC 402 in the second. Based on the results, it can be inferred that some of the tested microorganisms, applied alone or in combination, provided significant increases in gas exchange, production of shoot, root and total biomass, accumulation of nutrients and grain yield in the common bean crop. In the first experiment, isolates 1301 and T-26, in addition to the combinations Ab-V5 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110 and 1381 + T-26 provided better results, since they allowed a 36.5% increase in grain production, higher biomass accumulation (78.0%) and higher N, P and K content (42.6; 67.8 and 25.7%, respectively) in the shoot of common beans. In the second experiment, the isolates Ab-V5 and BRM 32112, in addition to the combinations BRM 32114 + T-26, 1301 + BRM 32110 and BRM 32114 + BRM 32110 were the outstanding treatments, providing increases in gas exchange (stomatal conductance - 79, 1% and transpiration - 10.0%), in the content of macronutrients (N - 63.3% and P - 56.7%, in the shoots and P - 42.7%, in the roots) and in the agronomic performance, providing twice the grain yield. Therefore, the results allow to infer that the use of MMs is a good strategy to provide increases in the yield of common bean grains. However, studies must be carried out in the field to confirm the good results obtained under controlled conditions.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, growth promotion, gas exchange, biomass, nutrient accumulation, yield.

¹Advisor: Dr. Adriano Stephan Nascente. Embrapa Rice and Beans.

Co-advisor 1: Dr^a. Marta Cristina Corsi de Filippi. Embrapa Rice and Beans.

Co-advisor 2: Dr^a. Anna Cristina Lanna. Embrapa Rice and Beans.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A utilização intensiva da mecanização, de agrotóxicos, corretivos e adubos sintéticos, somada ao monocultivo, conduziu a grande maioria das lavouras brasileiras a um processo intenso de degradação (Kour et al., 2019). Entre todos os setores, a agricultura contribui com a quantidade máxima de poluentes químicos usando pesticidas e fertilizantes sintéticos (Senar, 2019). Além do Brasil ser o país que mais consome agrotóxicos, o ano de 2020 foi um marco, considerado o ano com maior aprovação de agrotóxicos (Rodrigues, 2020). As importações de pesticidas também bateram um recorde histórico, quase 335 mil toneladas de agrotóxicos em 2019, um aumento de 16% em relação a 2018. O Brasil usa 500 mil toneladas de agrotóxicos por ano, representando um gasto de US\$ 8,8 bilhões (cerca de R\$ 35 bilhões no câmbio atual) (Senar, 2019).

Em relação a adubação mineral, o Brasil é o quarto maior mercado de fertilizantes, perdendo apenas para China, Índia e Estados Unidos (Moraes, 2019). O país atingiu a marca histórica de 36,2 milhões de toneladas de NPK vendidas em 2019. A utilização dos adubos sintéticos cresceu 450% nos últimos 30 anos; nesse mesmo período, o aumento médio mundial não passou de 50% (Senar, 2019). Embora a aplicação de agrotóxicos e adubação mineral proporcione aumento da produtividade agrícola, o seu uso intensivo frequentemente gera um conjunto de externalidades negativas como impactos sobre seres humanos (Rastegari et al., 2020) e impactos ambientais como, contaminação da água, plantas e solo, diminuição no número de organismos vivos e aumento da resistência de pestes (Moraes, 2019). Adicionalmente, causa aumento dos custos de produção e redução da rentabilidade agrícola pelo produtor (Rai et al., 2020).

Um dos principais desafios da agricultura atualmente é uma produção agrícola sustentável, utilizando ambiente ecologicamente correto, socialmente aceito e economicamente viável para atender à demanda crescente de alimentos (Rodrigues, 2020). De acordo com o relatório do World Population Clock (2019), a população do mundo irá aumentar de 7,7 bilhões em 2019 para 10 bilhões em 2050, com isso, 70% alimentos excedentes serão necessários para nossas gerações futuras em 2050. Devido a isso, para

atender a essa demanda de alimentos sem precedentes, será necessário cerca de 2,7–4,9 Mha/ano de solo (Rai et al., 2020). Como o solo é um recurso limitado e 33% das terras cultivadas não são mais avaliáveis (devido à poluição ou atividades antropogênicas), uma tremenda pressão sobre a produção agrícola é atualmente desafiando e abordando a questão (Lopes et al., 2020).

Diante deste desafio, o Brasil é o país com maior potencial para crescer na produção agrícola (Rodrigues, 2020), sendo o Cerrado um dos principais produtores de alimento no país (Moraes, 2019). As culturas de subsistências como o feijão-comum têm destacada importância nutricional, sendo a principal fonte de proteínas vegetais da população de baixa renda (Salvador, 2017). O Brasil se destaca no Mercosul como maior produtor e consumidor (cerca de 90%) de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (Conab, 2019). Porém, para atender a demanda necessária de alimentos para os próximos anos serão necessários investimentos no uso de tecnologias alternativas que se diferenciam do modelo de produção utilizado atualmente (Pierangeli et al., 2017).

Assim, o uso de microrganismos multifuncionais (MM) que são fungos ou bactérias benéficos que apresentam mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento vegetal podem constituir uma alternativa biológica promissora para aumentar a produtividade das culturas (Marques et al., 2010) e reduzir as entradas de fertilizantes e agrotóxicos nos agroecossistemas (Adesemoye & Kloepper, 2009). Os principais microrganismos multifuncionais são fungos e bactérias que vivem no solo em um ambiente de íntima relação com a raiz da planta (Rastegari et al., 2020; Singh & Yadav, 2020). As rizobactérias promotoras de crescimento vegetal constituem um grupo heterogêneo de bactérias que podem ser encontrados na rizosfera, em superfícies radiculares e em associação com raízes (Ahemad & Kibret, 2014). Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Serratia*, e *Azotobacter* (Ratz et al., 2017). Quanto aos fungos com potencial de promoção do crescimento de plantas, podemos citar as espécies do gênero *Trichoderma* sp. Estes fungos atuam tanto na promoção de crescimento, quanto como agentes de biocontrole de doenças em plantas (Reis et al., 2013).

Os microrganismos multifuncionais podem proporcionar diferentes efeitos no desenvolvimento das plantas, tais como, aumentar a germinação das sementes, a emergência das plântulas e beneficiarem seu crescimento (Ahemad & Kibret, 2014). O crescimento vegetal pode ser promovido através de várias formas, dentre elas, aumento da disponibilidade de N fixado, síntese de hormônios e outras moléculas, controle biológico

de patógenos e pela solubilização de nutrientes com consequente aumento da oferta de fósforo biodisponível e outros oligoelementos para absorção pelas plantas (Canellas et al., 2015; Ratz et al., 2017).

Entretanto, muitos estudos ainda precisam ser feitos para entender melhor as interações que ocorrem entre os microrganismos, planta e ambiente para que se aproveite ao máximo o uso de MM nos sistemas agrícolas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi determinar o efeito de microrganismos multifuncionais, isolados ou em mistura, na produção de biomassa, trocas gasosas, acúmulo de nutrientes (NPK) e rendimento de grãos da cultura do feijão-comum.

CAPÍTULO 1

MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS: UTILIZAÇÃO NA AGRICULTURA¹

Cássia Cristina Rezende²; Mariana Aguiar Silva²; Laylla Luanna de Mello Frasca²; Denner Robert Faria²; Marta Cristina Corsi de Filippi³; Anna Cristina Lanna³; Adriano Stephan Nascente³

¹Capítulo publicado como artigo de revisão bibliográfica ao periódico científico – *Research, Society and Development Journal*.

² Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil.

³ Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil.

2 MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS: USE IN AGRICULTURE

Cássia Cristina Rezende⁽¹⁾; Mariana Aguiar Silva⁽¹⁾; Laylla Luanna de Mello Frasca⁽¹⁾; Denner Robert Faria⁽¹⁾; Marta Cristina Corsi de Filippi⁽²⁾; Anna Cristina Lanna⁽²⁾; Adriano Stephan Nascente⁽²⁾

⁽¹⁾Federal University of Goiás. Highway Goiânia /Nova Veneza. Km 0. CEP: 74001-970. Goiânia-GO, Brazil. cassiacristinarezende@hotmail.com, marianaaguiar23@hotmail.com, layllafrasca@gmail.com, dennerrobertpgtu@gmail.com.

⁽²⁾Embrapa Rice and Beans, Highway GO-462, Km 12, Capivara Farm, Countryside, Mailbox: 179, CEP: 75375-000 - Santo Antônio de Goiás - GO, Brazil. cristina.filippi@embrapa.br, anna.lanna@embrapa.br, adriano.nascente@embrapa.br.

Resumo

Microrganismos multifuncionais são microrganismos benéficos que apresentam mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento vegetal e apresentam um papel importante como uma tecnologia alternativa rumo à escala para uma agricultura sustentável. O aumento da demanda pela produção agrícola com uma redução significativa do uso de fertilizantes e pesticidas sintéticos é um grande desafio na atualidade. O estudo desses microrganismos vem merecendo destaque nos últimos anos em razão da grande demanda por tecnologias sustentáveis, podendo reduzir os custos de produção, aumentando a produtividade e a rentabilidade do agronegócio. A aplicação de microrganismos multifuncionais através de mecanismos diretos e indiretos tem mostrado que é possível tornar as práticas de manejo das culturas ambientalmente mais sustentáveis. Os mecanismos dos microrganismos multifuncionais incluem a regulação do equilíbrio hormonal, solubilização de nutrientes na solução do solo e indução de resistência contra patógenos. O objetivo do trabalho foi trazer informações referentes aos microrganismos multifuncionais priorizando os aspectos gerais, as características dos microrganismos (rizobactérias e fungos) promotores do crescimento vegetal e seus principais mecanismos de ação. Conclui-se que os microrganismos multifuncionais possuem diversas características favoráveis para serem utilizados como promotores de crescimento das plantas, na agricultura sustentável.

Palavras-chave: Produção agrícola; rizobactérias promotoras de crescimento vegetal; Fungo; Sustentabilidade.

Abstract

Multifunctional microorganisms are beneficial microorganisms that have direct and indirect mechanisms for promoting plant growth and play an important role as an alternative technology towards scale for sustainable agriculture. The increase in demand for agricultural production with a significant reduction in the use of synthetic fertilizers and pesticides is a major challenge today. The study of these microorganisms has been highlighted in recent years due to the great demand for sustainable technologies, which may reduce production costs, increasing the productivity and profitability of agribusiness. The application of multifunctional microorganisms through direct and indirect mechanisms has shown that it is possible to make crop management practices more environmentally sustainable. The mechanisms of multifunctional microorganisms include the regulation of hormonal balance, solubilization of nutrients in the soil solution and induction of resistance against pathogens. The objective of the work was to bring information regarding multifunctional microorganisms prioritizing the general aspects, the characteristics of the microorganisms (rhizobacteria and fungi) that promote plant growth and their main mechanisms of action. It is concluded that multifunctional microorganisms have several favorable characteristics to be used as promoters of plant growth in sustainable agriculture.

Keywords: Agricultural production; Plant growth promoting rhizobacteria; Fungi; Sustainability.

Resumen

Los microorganismos multifuncionales son microorganismos beneficiosos que tienen mecanismos directos e indirectos para promover el crecimiento de las plantas y juegan un papel importante como

tecnología alternativa a escala para la agricultura sostenible. El aumento de la demanda de producción agrícola con una reducción significativa en el uso de fertilizantes y pesticidas sintéticos es un desafío importante en la actualidad. El estudio de estos microorganismos se ha destacado en los últimos años debido a la gran demanda de tecnologías sostenibles, que pueden reducir los costos de producción, aumentando la productividad y rentabilidad de la agroindustria. La aplicación de microorganismos multifuncionales a través de mecanismos directos e indirectos ha demostrado que es posible hacer que las prácticas de manejo de cultivos sean más sostenibles ambientalmente. Los mecanismos de los microorganismos multifuncionales incluyen la regulación del equilibrio hormonal, la solubilización de nutrientes en la solución del suelo y la inducción de resistencia contra patógenos. El objetivo del trabajo fue traer información sobre los microorganismos multifuncionales priorizando los aspectos generales, las características de los microorganismos (rizobacterias y hongos) que promueven el crecimiento de las plantas y sus principales mecanismos de acción. Se concluye que los microorganismos multifuncionales tienen varias características favorables para ser utilizados como promotores del crecimiento vegetal en la agricultura sostenible.

Palabras clave: Producción de agricultura; Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal; Hongos; Sustentabilidad.

1. Introdução

A utilização massiva dos agrotóxicos se iniciou na década de 60, na chamada Revolução Verde – um movimento pela modernização da agricultura, utilizando máquinas, agrotóxicos e sementes geneticamente modificadas com o intuito de aumentar a produtividade. A partir desse momento, grande parte dos agricultores brasileiros passaram a utilizar esses produtos, inclusive pequenos agricultores (Carvalho & Chagas, 2019).

Porém, essa ação desencadeou uma degradação das terras agrícolas causada pela ação do homem no manejo do solo e das culturas, que afeta de maneira irreversível extensas áreas cultivadas e contribui para o decréscimo do rendimento das culturas (Rai et al., 2020). Este tipo de produção, considerada não sustentável, acarreta também problemas ambientais como poluição dos recursos hídricos, do solo e do ar; além de riscos econômicos como o aumento dos custos de produção (Pietro Souza et al., 2020). Assim, devido precauções com a saúde e meio ambiente intensificaram o interesse para o desenvolvimento de tecnologias alternativas, garantindo rendimentos competitivos e proteção das culturas, em uma abordagem sustentável levando a um equilíbrio ecológico à longo prazo (Singh et al., 2017).

Práticas de manejo de culturas estabelecidas há algumas décadas como rotação de culturas, desenvolvimento de cultivares com características agrônômicas e fisiológicas de interesse e o uso de plantas de cobertura quando utilizadas isoladamente, não estão sendo suficientemente adotadas para mitigar os impactos negativos da degradação das áreas cultivadas sem sustentabilidade (Abhilash et al., 2016). Para Lopes et al. (2020), essas práticas devem ser complementadas com alternativas racionais e seguras, como o uso de microorganismos multifuncionais, principalmente, rizobactérias promotoras de crescimento vegetal e fungos de solo como o *Trichoderma* sp. que promovem o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos.

As rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV) são definidas como bactérias que habitam a rizosfera de plantas realizando funções que promovem o crescimento vegetal e são beneficiadas pelos exsudados das raízes (Ahemad & Kibret, 2014). De acordo com Singh et al. (2017), essas rizobactérias exercem efeitos benéficos sobre as plantas por diferentes mecanismos de ação, sendo diretos (fixação biológica de nitrogênio, solubilização do fosfato, produção de fitormônios) ou indiretos (produção de sideróforos e biofilme). Vários gêneros de bactérias (*Acetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*,

Klebsiella, *Pseudomonas* e *Serratia*) foram relatados como capazes de promover o crescimento das plantas, incrementos na produtividade de grãos, aumento na emergência de sementes, biomassa vegetal e rendimento da colheita; e resistência às doenças (Kang et al., 2019).

Algumas espécies de fungos também apresentam potencial em promover crescimento em plantas (Cadore et al., 2018). O gênero *Trichoderma* sp., considerado como um dos mais explorados, é composto de fungos de vida livre e apresenta importância devido ao seu grande potencial de aplicação do ponto de vista agrícola, industrial e biotecnológico (Chagas et al., 2017). Diante deste desafio de produzir de forma mais sustentável, a produção de produtos biológicos para controle de pragas e doenças agrícolas cresceu mais de 70% no último ano no Brasil, movimentando R\$ 464,5 milhões. O resultado brasileiro é considerado o mais expressivo da história do setor e supera o percentual apresentado pelo mercado internacional (Brito, 2020).

Porém, devido as inconsistências nos trabalhos de pesquisa com esses microrganismos sob condições de campo, em todo o mundo, poucas são as espécies de RPCVs que são efetivamente transformadas em produtos comerciais para utilização em larga escala (Steffen et al., 2018). Estudos sobre o ambiente, a cultura, as condições do solo e as interações com os microrganismos nativos do solo são fatores que necessitam de investigação aprofundada e que podem contribuir para o avanço do conhecimento e a aplicabilidade nos sistemas agrícolas diversos (Kang et al., 2019).

Dessa forma, essa revisão objetiva trazer informações referentes aos microrganismos multifuncionais priorizando os aspectos gerais, as características dos microrganismos (rizobactérias e fungos) promotores do crescimento vegetal e seus principais mecanismos de ação, além de mostrar que os microrganismos multifuncionais são uma opção promissora na produção de alimentos através de tecnologias sustentáveis.

2. Desenvolvimento

Trata-se de um estudo de caráter teórico, através de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e abordagem qualitativa (Pereira et al., 2018), que envolveu, fundamentalmente, a análise de informações e características sobre os microrganismos multifuncionais e seus mecanismos de ação.

3. Aspectos gerais dos microrganismos multifuncionais

Diversos microrganismos quando associados à planta podem promover o seu crescimento e uma série de outros benefícios no seu desenvolvimento e são referidos na literatura como microrganismos promotores do crescimento vegetal (Abhilash et al., 2016). Esses microrganismos podem ser considerados insumos tecnológicos no contexto da economia verde, pois reduzem o uso de insumos sintéticos na produção agrícola (Chagas et al., 2017), representando assim alternativa estratégica para a intensificação sustentável de sistemas agrícolas (Steffen et al., 2018).

A rizosfera, camada do solo mais próxima das raízes, é o lugar onde ocorre o maior número de interações entre plantas e microrganismos (Bhattacharyya & Jha, 2012). Essa região compõe um habitat ideal para os microrganismos multifuncionais, pois nela encontram-se uma gama de compostos liberados pelas plantas (exsudatos radiculares), os quais são utilizados no metabolismo e crescimento microbiano (Rout, 2014). A interação dos microrganismos com as plantas na rizosfera pode ocorrer de diferentes formas: microrganismos de vida livre localizados na matriz do solo rizosférico, microrganismos associados à superfície da raiz da planta

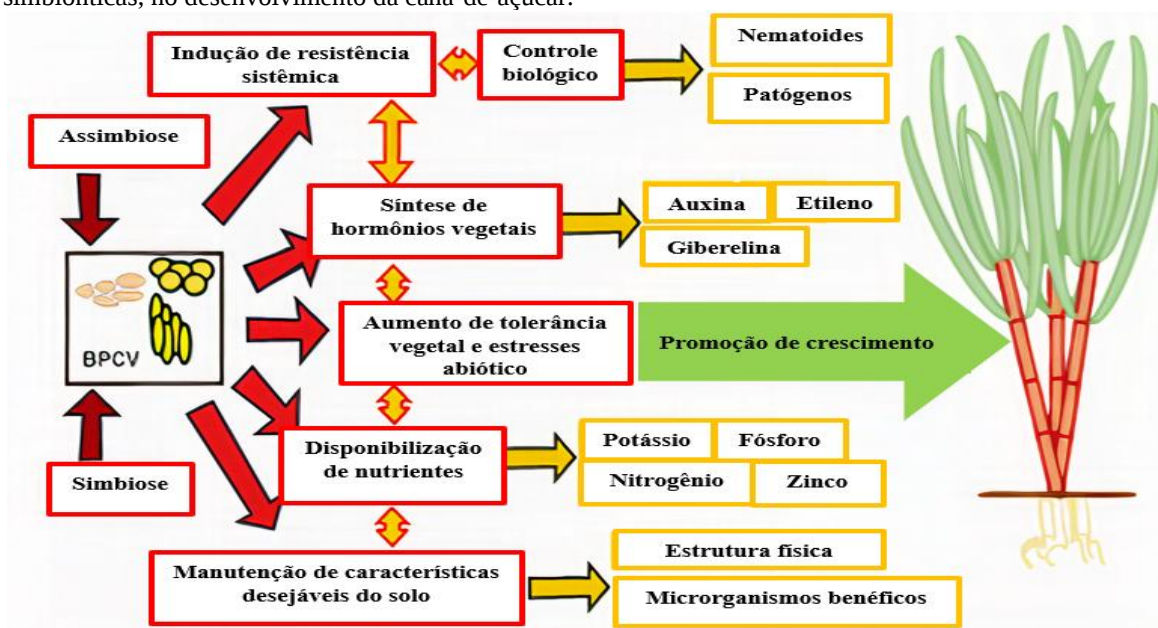
ou rizoplasma e microrganismos que se encontram dentro dos tecidos da raiz, nos espaços intercelulares ou intracelulares, sendo conhecidos como endofíticos (Santoyo et al., 2016).

Os mecanismos pelos quais os microrganismos multifuncionais promovem o crescimento das plantas podem ser diretos ou indiretos (Vejan et al., 2016). Diretamente, aprimorando a absorção e acúmulo de nutrientes essenciais às plantas (Schlaeppli & Bulgarelli, 2015), fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfato, secreção de sideróforos (Bashan et al., 2013) e produção de fitormônios (González et al., 2011). Indiretamente, destacam-se o biocontrole contra pragas e fitopatógenos (Liotti et al., 2018) e a indução de resistência das plantas aos estresses bióticos e abióticos como metais pesados, deficiência hídrica e salinidade (Pietro Souza et al., 2020). Silva et al. (2020) verificaram incremento de 25% na produção de biomassa de raiz de plantas de soja microbiolizadas com isolados de microrganismos multifuncionais (RPCVs e o fungo *Trichoderma asperellum*) quando comparados ao controle (sem microbiolização).

A promoção do crescimento radicular também é um dos efeitos benéficos dos microrganismos multifuncionais, pois o estabelecimento rápido das raízes laterais e adventícias é uma característica vantajosa para as plantas, aumentando a habilidade destas de se fixar ao solo e obter água e nutrientes do ambiente (Moreira & Araújo, 2013). Sousa et al. (2019), trabalhando com arroz irrigado por inundação, verificaram que sementes da cultivar BRS Catiana tratadas com os isolados BRM32110 (*Bacillus thuringiensis*) e BRM32112 (*Pseudomonas* sp.) apresentaram aumento médio de 25,7% no comprimento radicular, em comparação com o tratamento controle, enquanto para a cultivar BRS A702 CL, todos os microrganismos proporcionaram incrementos com um valor médio de 31% no comprimento radicular das plântulas de arroz.

A figura 1 mostra os efeitos benéficos das bactérias promotoras de crescimento vegetal simbióticas e não-simbióticas, apresentando os mecanismos como indução de resistência sistêmica em nematoides e patógenos, síntese de hormônios vegetais (auxina, etileno e giberelina), aumento de tolerância vegetal e estresses abióticos, disponibilização de nutrientes e manutenção das características desejáveis do solo.

Figura 1. Efeitos benéficos das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), simbióticas ou não-simbióticas, no desenvolvimento da cana-de-açúcar.



Fonte: Márcia Eugênia Amaral Carvalho (2015) (Adaptado de Maheshwari, 2011).

4. Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCVs)

Dentre os microrganismos presentes na rizosfera existe uma população variada de bactérias, denominadas rizobactérias. Essas são conhecidas como RPCVs quando apresentam efeitos benéficos sobre as culturas agrícolas (Montaldo, 2016). A promoção do crescimento vegetal pelas RPCVs está ligada a fatores como maior taxa germinativa das sementes, maior concentração de nutrientes nas plantas, aumento no acúmulo de fitomassa e altura de plantas, maior produção de grãos, dentre outros componentes da produtividade (Ratz, 2017).

As RPCVs, dependendo da proximidade, do grau de intimidade que estabelecem com as raízes e com as células do hospedeiro, podem ser classificadas em dois grupos: eRPCV (“rizobactérias promotoras de crescimento vegetal extracelulares”) e iRPCV (“rizobactérias promotoras de crescimento vegetal intracelulares”) (Vejan et al., 2016) (Figura 2). As eRPCV são aquelas presentes na rizosfera e rizoplane ou nos espaços intercelulares das células do córtex radicular tais como *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Pseudomonas* sp. e *Serratia* sp. Exemplos de iPGPR são *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*, normalmente encontradas em estruturas nodulares especializadas da raiz (Martínez Viveros et al., 2010).

Figura 2. iRPCV X eRPCV associadas com as raízes de plantas.



Fonte: Armando Silva (2016).

A eficiência das RPCVs pode ser incrementada pela técnica de co-inoculação, que consiste na combinação de isolados potenciais de diferentes espécies para somar os efeitos plurifacetados durante a interação microrganismos-plantas (Dalolio et al., 2018). Resultados positivos para o crescimento do milho derivados do uso combinado de RPCVs foram obtidos por Akhtar et al. (2014) ao verificarem aumento da

altura, diâmetro de colmo, massa seca de parte aérea e dos teores de fósforo e nitrogênio acumuladas nas plantas em resposta a aplicação simultânea de *Rhizobium sp.* e *Bacillus sp.* nas sementes.

5. Fungos promotores de crescimento vegetal

Os fungos, principalmente, os do gênero *Trichoderma sp.* exibem um papel consolidado na produção agrícola, devido a sua capacidade de colonizar a rizosfera e outros locais na parte aérea das plantas, promovendo efeitos benéficos no desenvolvimento vegetal (Mayo Pietro et al., 2020).

Trichoderma são fungos de vida livre que exibem a capacidade de atuarem em diversos mecanismos de controle biológico como: (a) parasitismo - relação nutricional entre dois seres vivos em que um dos componentes da relação, o parasita obtém todo ou parte de seu alimento às custas do outro componente, o hospedeiro; (b) hiperparasitismo - nível mais elevado de parasitismo, no qual o hospedeiro é também um parasita; (c) antibiose - interação na qual um ou mais metabólitos produzidos por um organismo têm efeito danoso sobre o outro; (d) competição - processo referente à interação entre dois ou mais organismos, empenhados na mesma ação e (e) indução de resistência de plantas às doenças - aumento da capacidade de defesa da planta contra amplo espectro de organismos fitopatogênicos (Guimarães et al., 2018).

Além do biocontrole mediado pelo contato físico com um outro microrganismo, o *Trichoderma* também libera diversos metabólitos voláteis e não voláteis (limita o crescimento do patógeno, ou da produção de metabólitos tóxicos, limitando assim o desenvolvimento do patógeno, da doença e favorecendo o desenvolvimento da planta hospedeira) (Cadore et al., 2018). Outro mecanismo observado neste gênero e capacidade de degradar paredes celular dos patógenos, alimentando-se do produto degradado e avançando rapidamente com o processo de colonização do patógeno (Guimarães et al., 2018).

Vários estudos mostram que *Trichoderma* também atua como microrganismo promotor de crescimento vegetal, uma vez que ele é capaz de produzir fitormônios, solubilizar fosfatos e outros minerais (França et al., 2017), melhorar a eficiência do uso de nitrogênio, quando em combinação com outras espécies como *Bacillus sp.* ou *Rhizobium sp.*, e induzir defesa contra estresses bióticos e abióticos, principalmente, o estresse salino (Rubio et al., 2017).

Estudos recentes demonstram efeitos benéficos do *Trichoderma sp.* no aumento da porcentagem de germinação, diâmetro do hipocótilo, comprimento do sistema radicular na cultura do feijão (Mayo Pietro et al., 2020), no acúmulo de biomassa na cultura do arroz e milho (Chagas et al., 2017), aumento da produção de ácido indol-3-acético e solubilização de fosfato na cultura do tomate (França et al., 2017) e na supressão da *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja (Macena et al., 2020).

6. Mecanismos de ação dos microrganismos multifuncionais

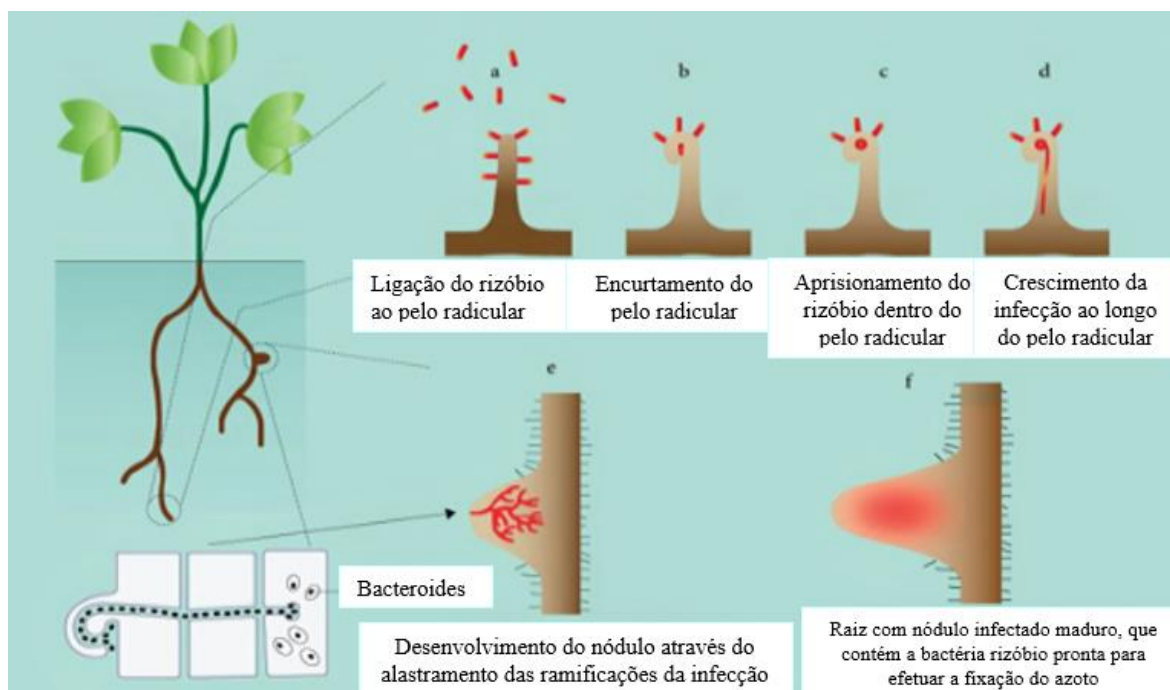
6.1 Fixação biológica de nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é considerada após a fotossíntese, o mais importante processo biológico para as plantas e foi o primeiro mecanismo de ação das RPCVs a ser descoberto (Elmerich, 2015). Segundo Chang et al. (2015), a FBN tem grande relevância econômica e ambiental, uma vez que as bactérias

fixadoras de N apresentam grande eficiência (principalmente para a cultura da soja) e o N é o principal nutriente mineral limitante do crescimento vegetal (Vicente & Dean, 2017).

O N é um nutriente fundamental para a síntese de biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e inúmeros metabólitos primários e secundários essenciais para o adequado funcionamento das plantas (Chang et al., 2015). Embora a molécula de nitrogênio, N_2 , seja abundante na atmosfera, as plantas não são capazes de assimilá-la e, em decorrência disso, há a necessidade da adubação nitrogenada (Vicente & Dean, 2017). A aplicação de fertilizante nitrogenado vem sendo a forma mais utilizada desde a década de 60; no entanto, com a descoberta das RPCVs diazotróficas, ou seja, aquelas que realizam FBN convertendo o N_2 em sua forma amoniacal (NH_3), novos rumos nas práticas agrícolas estão sendo traçados (Elmerich, 2015). Com conversão o N_2 em sua forma amoniacal (NH_3), o N se torna biodisponível para a absorção vegetal (Zgadaj et al., 2016) (Figura 3). Existe uma diversidade de RPCVs diazotróficas conhecidas, mas a base do processo de FBN é comum a todas elas por meio da ação da enzima nitrogenase, composta por proteínas codificadas pelo grupo de “operons” nif (Angel et al., 2018).

Figura 3. Processo de nodulação de rizóbios em raízes de leguminosas – planta hospedeira.



Fonte: Fernandes e Rodrigues (2014).

As principais bactérias fixadoras de N são as que estabelecem associação simbiótica com as leguminosas (todas as espécies do grupo iRPCV, que formam os nódulos), principalmente os gêneros *Rhizobium spp.* e *Bradyrhizobium spp.* No entanto, algumas espécies de eRPCV de vida livre ou endofíticas associadas a gramíneas também podem promover FBN, mas de maneira menos eficiente do que as iRPCV, como as espécies do gênero *Azospirillum sp.* (Chang et al., 2015).

A prática de inoculação de RPCVs fixadoras de nitrogênio em culturas de interesse econômico, especialmente soja e feijão, com o propósito de suplementação nitrogenadas, já é bem estabelecida, com

inúmeras linhagens comerciais disponíveis, principalmente de rizóbios (Baldani et al., 2014). No entanto são necessários mais estudos em relação a capacidade das eRPCV em promover a absorção de N em diferentes culturas, ou em auxiliar as iRPCV em aumentar a eficiência da FBN nas leguminosas, gramíneas dentre outras culturas, como espécies do gênero *Azospirillum* spp., que são bactérias diazotróficas (Chang et al., 2015). Aung et al. (2013) registraram aumento de 20 nódulos por planta de soja com a coinoculação de *B. japonicum* com *Azospirillum* sp. quando comparado a inoculação tradicional com somente *B. japonicum*.

6.2 Solubilização de fosfato

O fósforo é o segundo nutriente mais limitante ao crescimento das plantas, sendo componente estrutural de muitas coenzimas, fosfoproteínas, fosfolipídeos, ácidos nucleicos. Portanto, é um nutriente associado a vários processos fisiológicos primários como a fotossíntese, respiração e formação da membrana (Baby et al., 2016).

A solubilização de fosfato inorgânico é uma característica das bactérias independentemente de estar em interação com a planta. As rizobactérias e alguns fungos, incluindo o gênero *Trichoderma* sp. possuem papel fundamental na solubilização de fósforo não-lábil, apresentando-se como bioinsumo, alternativa ao uso de fertilizantes fosfatados sintéticos (Awais et al., 2017). O principal mecanismo de ação na solubilização de fosfatos inorgânicos é através dos ácidos orgânicos sintetizados por microrganismos, como por exemplo ácido glucônico, o que também promove a acidificação da célula microbiana e o ambiente ao seu redor (Fabianska et al., 2019).

Além dos ácidos orgânicos, ocorrem também a liberação de prótons H^+ , a produção de substâncias quelantes, ou a produção de ácidos inorgânicos (Gupta et al., 2015). A liberação de prótons H^+ para a superfície celular externa ocorre em processos de absorção de cátions ou com auxílio de ATPases. A produção de substâncias quelantes, ou a produção de ácidos inorgânicos, são mecanismos alternativos para a solubilização de fosfatos inorgânicos (Saber et al., 2009). Dentre os gêneros bacterianos solubilizadores de fósforo não-lábil citam-se: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus* e *Serratia* (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Por outro lado, a solubilização de fosfatos orgânicos, também chamada mineralização, ocorre a partir de restos vegetais e animais contendo elevados teores de compostos fosfatados (Ahemad & Kibret, 2014). Numerosas espécies saprofíticas realizam a decomposição da matéria orgânica do solo, que liberam o radical ortofosfato da estrutura de carbono da molécula, por processos de respiração e sob forte influência de fatores ambientais (Marra et al., 2012). As principais moléculas fornecedoras de P depois da mineralização são os ácidos nucleicos, fosfolipídeos e açúcares fosfatados e são considerados facilmente degradados, já os ácidos fítico, polifosfatos e fosfonatos são mineralizados lentamente (Baby et al., 2016).

Esta mineralização é promovida por enzimas chamadas fosfatases, ou fosfohidrolases, classificadas em ácidas ou alcalinas de acordo com o pH ótimo de atividade. Estas enzimas podem ser secretadas fora da membrana plasmática, ou permanecerem retidas na membrana como proteínas solúveis (Teymouri et al., 2016). Desta forma, microrganismos capazes de solubilizar e mineralizar fosfatos podem promover a utilização dos

fosfatos naturais do solo, beneficiando as culturas, diminuindo os custos de produção e aumentando a eficiência na adubação (Fabiańska et al., 2019).

Machado (2015), detectou linhagens bacterianas endofíticas do gênero *Bacillus* e *Citrobacter*, isoladas da cultura de pinhão-mansão, com potencial de solubilizar fosfato. Chauhan et al. (2015) trabalhando com bactérias isoladas de colmos de cana-de-açúcar, relataram a presença de quatro linhagens do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*, solubilizadoras de fósforo não-lábil que afetaram positivamente o desenvolvimento das plantas, evidenciando aumento da germinação (55%), número de colmos (20%), altura (18%), circunferência e peso de colmos (8 e 51%, respectivamente), produtividade (39%) e porcentagem de açúcares disponíveis (6%) em relação ao tratamento controle. Durán et al. (2016) inocularam *Bacillus* sp. e *Klebsiella* sp. em alface e mostraram maiores teores de fósforo, potássio e biomassa seca na parte aérea em plantas inoculadas quando comparadas às não inoculadas.

6.3 Produção de hormônios

Os hormônios vegetais são mensageiros químicos que influenciam a capacidade da planta de reagir ao ambiente (Enders & Strader, 2015). Estes são compostos orgânicos naturais que são eficazes em concentrações muito baixas e são principalmente sintetizados em certas partes da planta e transportados para outro local. Os hormônios vegetais, também chamados de fitormônios, influenciam os processos fisiológicos tais como crescimento, diferenciação, desenvolvimento; bem como movimento estomático (Sureshbabu et al., 2016). Ressalta-se que a resposta de cada planta geralmente é o resultado de dois ou mais hormônios agindo em paralelo (Kang et al., 2019). Por outro lado, as RPCVs e fungos do gênero *Trichoderma* sp. também produzem fitohormônios que podem influenciar os seus próprios processos fisiológicos como também os das plantas e, por isso, passam a ser denominados reguladores de crescimento das plantas (Singh et al., 2017).

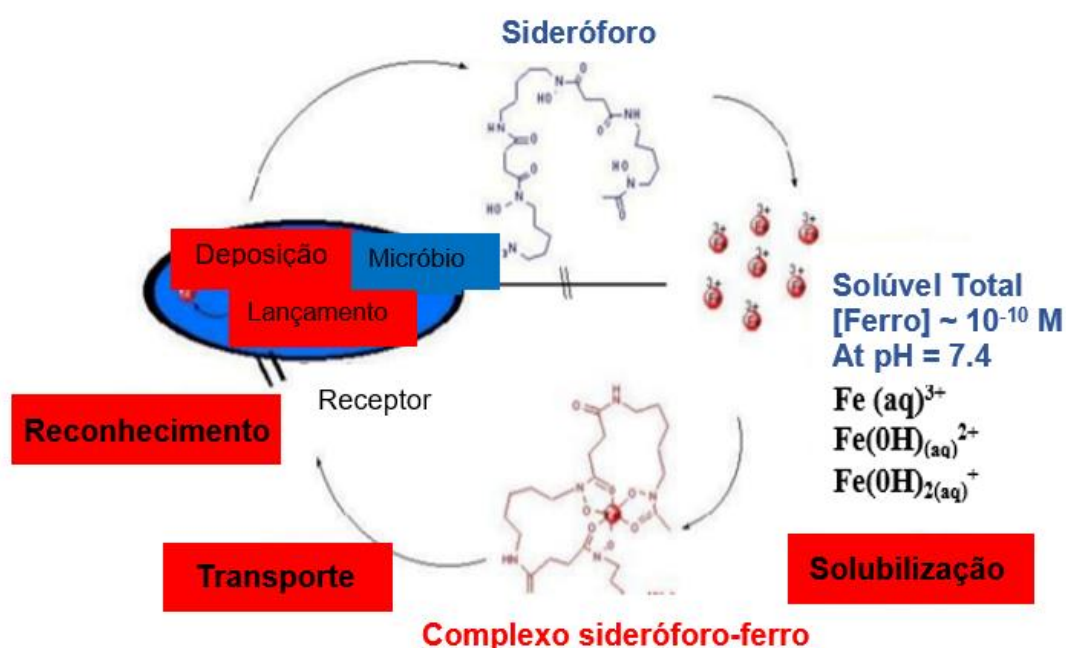
Microorganismos multifuncionais, em sua maioria, produzem hormônios como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno, e mais recentemente estrigolactonas e brassinosteroides que auxiliam o desenvolvimento vegetal (Sureshbabu et al., 2016). Auxinas são uma classe hormonal responsável em aumentar a formação de primórdios radiculares (Taiz & Zeiger, 2004). Dentre os gêneros conhecidos por expressar esse mecanismo citam-se *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Paenibacillus* (Singh et al., 2017).

De acordo Vejan et al. (2016), um microorganismo que possui a capacidade de produzir ou alterar a concentração de reguladores de crescimento vegetal como AIA, GA, citocininas e etileno é denominado fitoestimulador. A aplicação de RPCVs, produtoras de hormônios, pode ser útil para melhorar a fisiologia, biomassa e rendimento da cultura, aumentando o tamanho, número de ramos e área de superfície das raízes (Enders & Strader, 2015). Aumentos na área de superfície da folha facilitam a absorção da luz solar, enquanto o aumento da ramificação da raiz e da área de superfície facilitam a absorção de água e nutrientes (Kang et al., 2019). Araújo et al. (2014) observaram efeito significativo na altura, massa seca de parte aérea e sistema radicular em mudas micropropagadas de bananeira, tratadas com rizobactérias produtoras de AIA.

6.4 Produção de sideróforos

Os sideróforos são moléculas sequestradoras de ferro de baixo peso molecular (400 a 1000 Daltons) e elevada afinidade pelo substrato (K_d 10^{-20} a 10^{-50}), secretadas por microrganismos em resposta a baixa disponibilidade de Fe^{+3} em solução (Briat et al., 2015). Estes compostos atuam do lado externo da membrana celular, capturando moléculas de ferro em solução e ligando-se especificamente a receptores do complexo localizados na membrana, por onde são absorvidos, tornando assim o ferro absorvido disponível para o crescimento dos vegetais (Masepohl, 2017) (Figura 4).

Figura 4. Mecanismo de produção de sideróforos pelos microrganismo que se ligam a moléculas de Fe.



Fonte: Serrano (2009).

O ferro é um micronutriente essencial para as plantas e está envolvido em vários processos fundamentais como fotossíntese, respiração, síntese de DNA e hormônios (Puig et al., 2017). Ele atua como um catalisador na síntese de clorofila (Hu et al., 2017), processos enzimáticos envolvendo oxigênio (peroxidase, catalase), hidrogênio (hidrogenases), nitrogênio (nitrogenases) e processos de transferência de elétrons nos sistemas respiratório e fotossintético (Masepohl, 2017).

Embora amplamente disponível na natureza, o Fe nem sempre é acessível às plantas e muitas vezes limita a produtividade biológica de plantas (Briat et al., 2015). Assim, as plantas desenvolveram diferentes estratégias para combater esta limitação como a liberação de prótons e ácidos orgânicos pelas raízes para diminuir o pH do solo e aumentar assim a disponibilidade de ferro e/ou a liberação de moléculas de baixo peso molecular (sideróforos) que se ligam ao mineral (Fe) e, em seguida, são absorvidas pelas células da raiz (Johnstone & Nolan, 2015). Assim como as plantas, as rizobactérias e fungos do gênero de *Trichoderma* sp.

podem produzir uma ampla gama de sideróforos atuando como agentes quelantes de ferro a partir de compostos minerais ou orgânicos em condições de limitação do elemento (Huo et al., 2020).

Além da disponibilização de ferro para o desenvolvimento da bactéria, a formação do complexo ferro-sideróforo também impede a proliferação de patógenos devido à competição pelo nutriente no ambiente (Puig et al., 2017). Certas espécies do gênero *Pseudomonas* produzem sideróforos que quelam o ferro na rizosfera, inibindo o desenvolvimento de alguns microrganismos que dependem do ferro para sua sobrevivência, incluindo fitopatógenos, que têm menor capacidade de competição por ferro (Johnstone & Nolan, 2015).

Dimkpa et al. (2009) mostraram que sideróforos possibilitam a captação de Fe pelas plantas ao invés de outros minerais como Al, Cu, Mn e Ni em altas concentrações na solução do solo. Por outro lado, na ausência de sideróforos, esses metais inibiam a absorção de Fe para o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Rajkumar e Freitas (2008) verificaram que a produção de sideróforos por *Pseudomonas* sp. e *Bacillus megaterium*, em conjunto com outros mecanismos, como a produção de hormônios e a ação da enzima ácido 1-aminociclopropano-carboxílico (ACC desaminase), contribuíram para o incremento da produtividade em plantas de mostarda marrom (*Brassica juncea*).

6.5 Produção de biofilme

O biofilme pode ser definido como uma comunidade microbiana altamente aderente entre si ou a uma superfície, sendo composta por carboidratos extracelulares, proteínas, exopolissacarídeos e até mesmo DNA (Branda et al., 2005). As rizobactérias e alguns gêneros de fungos são conhecidas por formarem biofilme para auxiliar sua sobrevivência em várias condições de estresse: resistência a antibióticos, proteção contra fitopatógenos e dessecação e agentes estressantes antimicrobianos (Parsek & Fuqua, 2004). Kavamura et al. (2013) observaram a produção de biofilme pelas bactérias do gênero *Bacillus*, isoladas de cactáceas do semiárido brasileiro, sob condições estressantes. Timmusk (2005) mostrou que *Paenibacillus* também é capaz de colonizar raízes de plantas de trigo, cevada, alho e feijão-verde e formar biofilme.

Durante o crescimento de uma planta, o biofilme formado em decorrência da interação microrganismos-planta pode auxiliar na colonização radicular (Ramey et al., 2004), proteger as células da privação de nutrientes, fagocitose e alterações de pH e, através da secreção de substâncias polissacarídicas, conferir estabilidade às plantas em condições limitantes de água (Kasim et al., 2016). Os exopolissacarídeos formadores de biofilme são altamente hidratados e conseguem reter alta quantidade de água no interior de suas moléculas, conferindo-lhes característica hidrofílica, e portanto, com alta capacidade de absorção e retenção de água, que ao habitarem a região da rizosfera das plantas, conseguem proteger as raízes da secagem do solo (Rolli et al., 2014).

6.6 Controle biológico

As bactérias e fungos desempenham a função de agentes biológicos induzindo a resistência sistêmica em plantas, produzindo antibióticos e sideróforos que inibem o crescimento dos patógenos (Pinho et al., 2020). No contexto da resistência sistêmica, os hormônios produzidos por bactérias podem atuar como estimulantes do sistema imune das plantas, interferindo no funcionamento dos principais sistemas de defesa vegetal. Dentre

estes, destacam-se a resistência sistêmica adquirida (SAR) e a resistência sistêmica induzida (ISR) (Oliveira et al., 2017).

Resistência sistêmica adquirida (SAR) é um sistema de largo espectro que depende do hormônio ácido salicílico e não apresenta especificidade à infecção inicial, tendo efeito, principalmente, contra patógenos biotróficos (Neugebauer et al., 2019). Geralmente, a capacidade de defesa da planta é adquirida após a primeira infecção por um microrganismo patogênico, que leva a uma morte celular programada (Rocha & Moura, 2013). A ação se inicia em um sistema de defesa localizado chamado de hipersensibilidade, submergindo a acumulação de fitoalexinas e requerimento da síntese de aceleração de enzimas (enilalanina, amonialiase, calcone sintase, peroxidase e proteínas) associadas com a biossíntese fenólica (Pinho et al., 2020).

Resistência sistêmica induzida (ISR) é um sistema dependente do ácido jasmônico e da sinergia com o etileno, sendo ativada por microrganismos patogênicos (Neugebauer et al., 2019). Estudos recentes mostraram efeitos benéficos de rizobactérias na redução da população de nematoides de galha (*Meloigogyne* spp.) no feijão-comum (Oliveira et al., 2017), no controle de fungos e na qualidade sanitária de sementes de arroz, eficácia na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e produção de compostos orgânicos voláteis no controle do patógeno na cultura da soja (Pinho et al., 2020). Adicionalmente, atuam na resiliência dos sistemas de cultivo e na indução de resistência a doença (Nascente et al., 2017).

Os mecanismos de ação do *Trichoderma* sp. no controle biológico de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal são variados (Neugebauer et al., 2019). O *Trichoderma* sp. possui característica hiperparasitária, pois pode detectar e localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção, presumivelmente em resposta a estímulos químicos produzidos pela hifa hospedeira, formar estruturas semelhantes a apressórios e enrolar-se fortemente em toda a sua extensão para, então, penetrar e digerir a hifa, isso denomina-se micoparasitismo e ressalta ser um importante mecanismo de ação de biocontrole (Machado et al., 2012).

Dentre as substâncias que podem ser sintetizadas, muitas espécies de *Trichoderma* já estudadas produzem metabólitos secundários tóxicos, como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos (Chagas et al., 2017). A indução de resistência por *Trichoderma* sp. é outro mecanismo de ação que vem sendo pesquisado (Chen et al., 2015). Além disso, as plantas levadas ao estado de indução apresentam aumento nas atividades de enzimas, tais como, quitinases, glucanases e peroxidases, envolvidas nas rotas de percepção da presença de patógenos em potencial e nas rotas de sinalização bioquímica a pontos distantes do sítio onde o sinal foi originado. Por consequência, verifica-se um aumento nas atividades de enzimas envolvidas na síntese de componentes de resistência (Silva et al., 2018).

Estudos evidenciaram a ação de microrganismos como o *Trichoderma* sp. no potencial antagonístico contra *Fusarium moniliforme* na cultura do milho (Medeiros et al., 2020), no controle de nematoide *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja (Oliveira et al., 2021), promoção de crescimento com presença de *Rhizoctonia solani* no feijão-comum (Mayo Pietro et al., 2020).

7. Considerações Finais

A previsão de aumento populacional pressiona o cenário agropecuário por alternativas para suprir a necessidade alimentícia da população mundial. Os avanços tecnológicos advindos da industrialização e da era

digital são os grandes responsáveis pelo impulso científico e tecnológico que alavanca a agricultura e a produção agrícola. Mas, por outro lado, cria uma tensão na sustentabilidade das práticas agrícolas para a produção de alimentos. O mundo enfrenta colapsos ambientais e o cenário mercadológico atual tende pela procura de alimentos produzidos de forma sustentável. E, nesse sentido, os bioinsumos são vistos como tecnologias sustentáveis que atuam de forma intrínseca e extrínseca sobre as plantas contribuindo para o incremento produtivo e a estabilidade do equilíbrio do agroecossistema.

Os estudos mostram que microrganismos multifuncionais apresentam promoção no crescimento das plantas, rentabilidade das culturas, qualidade fitossanitária e consequentemente melhoria na performance/produtividade de culturas leguminosas e não leguminosas, além de redução do uso de agrotóxicos e adubos sintéticos, contribuindo para a redução dos impactos no meio ambiente. Portanto, o uso de microrganismos multifuncionais são uma opção viável ao produtor de alcançar a rentabilidade das culturas através de uma modelo sustentável.

Referências

- Abhilash, P. C. C., Dubey, R. K., Tripathi, V., Gupta, V. K. & Singh, H. B. (2016). Plant Growth-Promoting Microorganisms for Environmental Sustainability. *Trends in Biotechnology*, 34 (11), 847-850.
- Ahemad, M. S. & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26 (1), 1-20.
- Akhtar, N., Mujeeb, F., Qureshi, M. A., Rafique, M., Riaz, A. & Ali, M. A. (2014). Phosphate solubilizing potential of *Rhizobium* and *Bacillus* species for enhancing yield and available phosphorus in maize crop (*Zea mays*). *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 4 (1), 58-66.
- Angel, R., Nepel, M., Panhölzl, C., Schmidt, H., Herbold, C. W., Eichorst, S. A. & Wobken, D. (2018). Evaluation of Primers Targeting the Diazotroph Functional Gene and Development of NifMAP – A Bioinformatics Pipeline for Analyzing nifH Amplicon Data. *Frontiers in Microbiology*, 9 (703), 1-15.
- Araújo, K. S., Cardoso, K. G. V., Peixoto, C. C., Ramos, E., Silva, H. S. A. & Trindade, A. V. (2014). *Promoção do crescimento em mudas micropropagadas de bananeira por rizobactérias*. Retrieved from <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/873156/promocao-do-crescimento-em-mudas-micropropagadas-de-bananeira-por-rizobacterias>
- Aung, T. T. (2013). Enhanced soybean biomass by co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and plant growth promoting rhizobacteria and effects on microbial community structures. *African Journal of Microbiology Research*, 7 (29), 3858- 3873.
- Awais, M., Tariq, M., Ali, A., Ali, Q., Khan, A., Tabassum, B., Nasir, I. A. & Husnain, T. (2017). Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11 (1), 312-321.
- Baby, K., Kumar, A. & Mallick, M. A. (2016). Phosphate solubilizing microbes: an effective and alternative approach as biofertilizers. *International Journal Pharm Science*, 8 (2), 37-40.
- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H. & Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semisolid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384 (1), 413-431.
- Bashan, Y., Kamnev, A. A. & Bashan, L. E. (2013). Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphatesolubilizing bacteria that enhance plant growth: A proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils*, 49 (1), 465-479.
- Bhattacharyya, P. N. & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (4), 1327-1350.
- Branda, S. S., Vik, S., Friedman, L. & Kolter, R. (2005). Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*, 13 (1), 20-26.
- Briat, J. F., Dubos, C. & Gaymard, F. (2015). Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in Plant Science*, 20 (1), 33-40.
- Brito, D. (2020). *Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Retrieved from <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>
- Cadore, L. S., Vey, R. T., Fresinghelli, J. C. F., Dotto, L. & Ethur, L. Z. (2018). Evaluation of initial growth of soybean using *Trichoderma* formulations. *Enciclopédia Biosfera*, 15 (27), 170-179.

- Carvalho, T. & Chagas, I. (2019). *Brasil, campeão mundial em consumo de agrotóxicos*. Politize. Retrieved from <https://www.politize.com.br/brasil-campeao-mundial-em-consumo-de-agrotoxicos/>
- Chagas, L. F. B., Chagas Junior, A. F., Soares, L. P. & Fidelis, R. R. (2017). *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4 (3), 97-102.
- Chang, W. S., Lee, H. I. & Hungria, M. (2015). Soybean Production in the Americas. *Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture*, 393- 400.
- Chauhan, H., Bagyaraj, D. J., Selvakumar, G. & Sundaram, S. P. (2015). Novel plant growth promoting rhizobacteria - Prospects and potential. *Applied Soil Ecology*, 95 (1), 38-53.
- Chen, L., Jiang, H., Cheng, O., Chen, J., Wu, G., Kumar, A., Sun, M. & Liu, Z. (2015). Enhanced nematicidal potential of the *Chitinase pachi* from *Pseudomonas aeruginosa* in association with *Cry21Aa*. *Scientific Reports*, 24 (5), 1-11.
- Dalolio, R. S., Borin, E., Cruz, R. M. S. & Alberton, O. (2018). Co-inoculação de soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. *Journal of Agronomic Sciences*, 7 (2), 1-7.
- Dimkpa, C. O., Dirk, M., Ales, S., Georg, B. & Erika, K. (2009). Metal-induced oxidative stress impacting plant growth in contaminated soil is alleviated by microbial siderophores. *Soil Biology Biochemistry*, 41 (1), 154-162.
- Durán, P., Acuña, J. J., Armada, E., López Castillo, O. M., Cornejo, P., Mora, M. L. & Azcón, R. (2016). Inoculation with selenobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi to enhance selenium content in lettuce plants and improve tolerance against drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16 (1), 201-225.
- Elmerich, C. (2015). One Hundred Years Discovery of Nitrogen-Fixing Rhizobacteria Biological Nitrogen Fixation. *John Wiley & Sons*, 897-912.
- Enders, T. A. & Strader, L. C. (2015). Auxin activity: Past, present, and future. *American Journal of Botany*, 10 (2), 180-196.
- Fabiańska, I., Gerlach, N., Almario, J. & Bucher, M. (2019). Plant-mediated effects of soil phosphorus on the root-associated fungal microbiota in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 221 (4), 2123-2137.
- França, D. V. C., Kupper, K. C., Magri, M. M. R., Gomes, T. M. & Rossi, F. (2017). *Trichoderma* spp. isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 47 (4), 360-368.
- González, C. R., Aguilar, L. M., Trujillo, A. R., Santos, P. E., Mellado, C. J., Santos, P. & Mellado, J. C. (2011). High diversity of culturable *Burkholderia* species associated with sugarcane. *Plant and Soil*, 345 (1), 155-169.
- Guimarães, G. R., Pereira, F. T., Mello, S. C. M. & Carvalho, D. D. C. (2018). Employment of *Trichoderma* to control *Cladosporium* sp. and *Sclerotinia sclerotiorum* and bean growth promoting in Brazil. *Caderno de Pesquisa*, 30 (2), 28-37.
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. & Singh, V. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbiol & Biochemical Technology*, 7 (2), 96-102.
- Hu, X., Page, M. T., Sumida, A., Tanaka, A., Terry, M. J. & Tanaka, R. (2017). The iron-sulfur cluster biosynthesis protein *sufB* is required for chlorophyll synthesis, but not phytochrome signaling. *The Plant Journal*, 89 (6), 1184-1194.
- Huo, Y., Kang, J. P., Ahn, J. C., Kim, Y. J., Piao, C. H., Yang, D. U. & Yang, D. C. (2020). Siderophore-producing rhizobacteria reduce heavy metal-induced oxidative stress in Panax ginseng Meyer. *Journal of Ginseng Research*, 1226-1243.
- Johnstone, T. C. & Nolan, E. M. (2015). Beyond iron: non-classical biological functions of bacterial siderophores. *Dalton Transactions*, 44 (14), 6320-6339.
- Kang, S. M., Khan, A. L., Wagas, M., Asaf, S., Lee, K. E., Park, Y. G., Kim, A. Y., Khan, M. A., You, Y. H. & Lee, I. J. (2019). Integrated phytohormone production by the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus tequilensis* SSB07 induced thermotolerance in soybean. *Journal of Plant Interactions*, 14 (1), 416-423.
- Kasim, W. A., Gaafar, R. M., Abou-Ali, R. M., Omar, M. N. & Hewait, H. M. (2016). Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Annals of Agricultural Sciences*, 61 (2), 217-227.
- Kavamura, V. N., Santos, S. N., Silva, J. L., Parma, M. M., Avila, L. A. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 168 (4), 183-191.
- Liotti, R. G., Figueiredo, M. I. S., Silva, G. F., Mendonça, E. A. F. & Soares, M. A. (2018). Diversity of cultivable bacterial endophytes in *Paullinia cupana* and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control. *Microbiological Research*, 207 (1), 8-18.
- Lopes, R., Tsui, S., Gonçalves, P. J. R. O. & Queiroz, M. (2020). A look into a multifunctional toolbox: endophytic *Bacillus* species provide broad and underexploited benefits for plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34 (7), 94-102.
- Macena, A. M. F., Kabori, N. N., Mascarin, G. M., Vida, J. B. & Hartman, G. L. (2020). Antagonism of *Trichoderma*-based biofungicides against Brazilian and North American isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* and growth promotion of soybean. *BioControl*, 65 (1), 235-246.
- Machado, P. C. (2015). Identificação molecular e caracterização bioquímica de bactérias endofíticas associadas à cultura do pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) com potencial biotecnológico. (Dissertação em Biotecnologia). Universidade Federal de São Carlos.

- Machado, D. F. M., Parzianello, F. R., Silva, A. C. F., Antonioli, Z. I. (2012). *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias*, 35 (1), 274-288.
- Marra, L. M., Soares, C. R. F. S., Oliveira, S. M., Ferreira, P. A. A., Soares, B. L., Carvalho, R. F., Lima, J. M. & Moreira, F. M. S. (2012). Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. *Plant and Soil*, 357 (1), 289-307.
- Martínez Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by Rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10 (3), 293-319.
- Masepohl B. (2017). *Modern topics in the phototrophic prokaryotes: Metabolism, bioenergetics, and omics*. Springer: Cham.
- Mayo Pietro, S., Campelo, M. P., Lorenzana, A., Rodríguez González, A., Reinoso, B., Gutiérrez, S. & Casquero, P. A. (2020). Antifungal activity and bean growth promotion of *Trichoderma* strains isolated from seed vs soil. *European Journal of Plant Pathology*, 158, 817-828.
- Medeiros, J. C. D., Martins, W. S. & Miranda, F. F. R. (2020). Antagonism of *Trichoderma* spp. in *Fusarium moniliforme* biocontrol in corn culture. *Revista Sítio Novo*, 4 (4), 169-178.
- Montaldo, Y. C. (2016). *Bioprospecção e isolamento de bactérias associadas à cana-de-açúcar (Saccharum officinarum L.) com características para a promoção de crescimento vegetal*. Tese (Doutorado em Rede Nordeste de Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós Graduação em Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 101.
- Moreira, A. L. L. & Araújo, F. F. (2013). Bioprospecção de isolados de *Bacillus* spp. como potenciais promotores de crescimento de *Eucalyptus urograndis*. *Revista Árvore*, 37 (5), 933-943.
- Nascente, A. S., Fillipi, M. C., Lanna, A. C., Souza, V. L., Silva, L. & Silva, G. B. (2017). Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected application forms of microorganism growth promoters. *Environmental Science Pollution Research*, 24, 2956-2965.
- Neugebauer, W. C., Gomes, C. B. & Mota, M. (2019). Seleção de bactérias para controle biológico de *Meloidogyne incognita* em figueira. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 118 (1), 51-60.
- Oliveira, C. M., Almeida, N. O., Cortes, M. V. C. B., Lobo Júnior, M., Rocha, M. R. & Ulhoa, C. J. (2021). Biological control of *Pratylenchus brachyurus* with isolates of *Trichoderma* spp. on soybean. *Biological Control*, 152.
- Oliveira, G. R. F., Silva, M. S., Proença, S. L., Bossolani, J. W., Camargo, J. A., Franco, F. S. & SÁ, M. E. (2017). Influence of *Bacillus subtilis* in nematodes biological control and production aspects of bean. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 11 (1), 47-58.
- Parsek, M. R. & Fuqua, C. (2004). Biofilms: emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. *Journal of Bacteriology*, 186 (14), 4427-4440.
- Pereira A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J. & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. Retrieved from UAB/NTE/UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1
- Pietro Souza, W., Campos Pereira, F., Mello, I. S., Stachack, F. F. F., Terezo, A. J., Cunha, C. N., White, J. F., Li, H. & Soares, M. A. (2020). Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. *Chemosphere*, 240, 1-42.
- Pinho, R. S. C., Pozzebon, B. C., Rodrigues, K. R. R., Arns, R. B., Alves, C. A. & Bergmann, M. B. (2020). Rizobactérias no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, e efeitos no desenvolvimento vegetativo de plântulas de soja. *Colloquium Agrariae*, 16 (4), 110-120.
- Puig, S., Ramos Alonso, L., Romero, A. M. & Martínez Pastor, M. T. (2017). The elemental role of iron in DNA synthesis and repair. *Metallomics*, 9 (11), 1483-1500.
- Rai, P. K., Singh, M., Anand, K., Saurabh, S., Kaur, T., Kour, D., Yadav, A. N. & Kumar, M. (2020). Role and potential applications of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. *Trends of Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture and Biomedicine Systems: Diversity and Functional Perspectives*, 49-60.
- Rajkumar, M. & Freitas, H. (2008). Effects of inoculation of plant growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. *Bioresource Technology*, 99 (9), 3491-3498.
- Ramey, B. E., Koutsoudis, M., Von Bodman, S. B. & Fuqua, C. (2004). Biofilm formation in plant-microbe associations. *Current Opinion in Microbiology*, 7 (6), 602-609, 2004.
- Ratz, R. J., Palácio, S. M., Espinoza, F. R., Vicentino, R. C., Michelim, H. J. & Richter, L. M. (2017). Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. *Engvista*, 19 (4), 890-905.
- Rocha, D. J. A. & Moura, A. B. (2013). Biological control of tomato wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by rhizobacteria. *Tropical Plant Pathology*, 38 (5), 423-430.
- Rolli, E., Marasco, R., Vigani, G., Ettoumi, B., Mapelli, F., Deangelis, M. L., Gandolfi, C., Casati, E., Previtali, F., Gerbino, R., Cei, F. P., Borin, S., Sorlini, C., Zocchi, G. & Daniele, D. (2014). Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology*, 17, 316-331.
- Rout, M. E. (2014). The Plant Microbiome. *Advances in Botanical Research*. Academic Press, 69, 279-309.

- Rubio, M. B., Hermosa, R., Vicente, R., Gómez-Acosta, F. A., Morcuende, R., Monte, E. & Bettiol, W. (2017). The Combination of *Trichoderma harzianum* and Chemical Fertilization Leads to the Deregulation of Phytohormone Networking, Preventing the Adaptive Responses of Tomato Plants to Salt Stress. *Frontiers in Plant Science*, 8 (294), 1-14.
- Saber, W. I. A., Ghanem, K. M. & El Hersh, M. S. (2009). Rock phosphate solubilization by two isolates of *Aspergillusniger* and *Penicillium* sp. and their promotion to mung bean plants. *Research Journal of Microbiology*, 4 (1), 235-250.
- Santoyo, G., Moreno Hagelsieb, G., del Carmen Orozco Mosqueda, M. & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*. 183, 92-99.
- Schlaeppli, K. & Bulgarelli, D. (2015). The Plant Microbiome at Work. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 28 (3), 212-217.
- Silva, C. M., Pinheiro, C. C. C., Sousa, I. A. L., Lins, P. M. P., Silva, G. B. & Carvalho, E. A. (2018). Biologic control of *Bursaphelenchus cocophilus* with rhizobacteria and *Trichoderma* isolates. *Nativa*, 6 (3), 233-240.
- Silva, M. A., Nascente, A. S., Filippi, M. C. C., Lanna, A. C., Silva, G. B. & Silva, J. F. A. (2020). Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. *Revista Caatinga*, 33 (3), 619-632.
- Singh, S., Singh, V. & Pal, K. (2017). Importance of microorganisms in agriculture. *Climate and Environmental changes: Impact, Challenges and Solutions*, 1, 93-117.
- Sousa, I. M., Nascente, A. S. & Filippi, M. C. C. (2019). Bactérias promotoras do crescimento radicular em plântulas de dois cultivares de arroz irrigado por inunda  o. *Colloquium Agrariae*, 15 (2), 140-145.
- Steffen, G. P. K., Maldaner, J., Missio, E. L. & Steffen, R. B. (2018). *Trichoderma* controla fitonematóides e aumenta produtividade da soja, Campos & Negócios. Retrieved from <https://revistacampoenegocios.com.br/trichoderma-controla-fitonematoides-e-aumenta-produtividade-da-soja/>
- Sureshbabu, K., Amaresan, N. & Kumar, K. (2016). Amazing multiple function properties of plant growth promoting rhizobacteria in the rhizosphere soil. *International Journal of Current Microbiololy and Applied Sciences*, 5 (2), 661-683.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2004). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- Teymouri, M., Akhtari, J., Karkhane, M. & Marzban, A. (2016). Assessment of phosphate solubilization activity of Rhizobacteria in mangrove forest. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 168-172.
- Timmusk, S., Grantcharova, N. & Wagner, E. G. H. (2005). *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (11), 292-7300.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. & Boyce, A. N. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules*, 21 (5), 673-693.
- Vicente, E. J. & Dean, D. R. (2017). Keeping the nitrogen-fixation dream alive. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 114 (12), 3009-3011.
- Zgad Zaj, R., Garrido Oter, R., Jensen, D. B., Koprivova, A., Schulze Lefert, P. & Radutoiu, S. (2016). Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 7996-8000.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS DO FEIJÃO-COMUM INFLUENCIADOS POR MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS¹

Cássia Cristina Rezende²; Laylla Luanna de Mello Frasca²; Mariana Aguiar Silva²; Rafael Augusto Corrêa Pires³; Anna Cristina Lanna⁴; Marta Cristina Corsi de Filippi⁴; Adriano Stephan Nascente⁴

¹Capítulo publicado como artigo no periódico científico - *Revista Semina – Ciências Agrárias*.

² Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil.

³ Centro Universitário de Goiás, Uni-ANHANGUERA, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁴ Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil.

3 PHYSIOLOGICAL AND AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF THE COMMON BEAN AS AFFECTED BY MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS

Cássia Cristina Rezende⁽¹⁾; Laylla Luanna de Mello Frasca⁽¹⁾; Mariana Aguiar Silva⁽¹⁾; Rafael Augusto Corrêa Pires⁽²⁾; Anna Cristina Lanna⁽³⁾; Marta Cristina Corsi de Filippi⁽³⁾; Adriano Stephan Nascente⁽³⁾

⁽¹⁾Federal University of Goiás. Highway Goiânia /Nova Veneza. Km 0. CEP: 74001-970. Goiânia-GO, Brazil. cassiacristinarezende@hotmail.com, layllafrasca@gmail.com, marianaaguiar23@hotmail.com.

⁽²⁾ University Center of Goiás, Avenue João Candido de Oliveira, 115 – Jardim City. CEP: 74423-115. Goiânia-GO, Brazil. rafaelaugusto.correa@gmail.com.

⁽³⁾Embrapa Rice and Beans, Highway GO-462, Km 12, Capivara Farm, Countryside, Mailbox: 179, CEP: 75375-000 - Santo Antônio de Goiás - GO, Brazil. cristina.filippi@embrapa.br, anna.lanna@embrapa.br, adriano.nascente@embrapa.br.

Highlights:

Multifunctional microorganisms (MMs) can have beneficial effects on plants.

We tested the use of MMs on common bean plant development.

MMs resulted in improved agronomic performance on common bean plants.

MMs resulted in higher accumulation of biomass and N, P and K in the shoots.

Abstract: Multifunctional microorganisms (MMs) can have beneficial effects on plants through direct and indirect mechanisms. This study aimed to determine the effect of MMs on shoot and root biomass production; gas exchange; content of macronutrients in the shoots, roots and grains; yield components; and grain yield of common bean plants. A completely randomized design with twenty-six treatments and three replications was used under controlled conditions. Treatments consisted of the application of MMs and their combinations in pairs, with the nine rhizobacteria isolates BRM 32109, BRM 32110 and 1301 (*Bacillus* sp.), BRM 32111 and BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.) and Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*); an edaphic fungal isolate T-26 (*Trichoderma koningiopsis*); and a control (without MMs). The microorganisms used were selected from previous experiments. These MMs were applied at three time points: microbiolization of the seeds, watering the soil seven days after sowing (DAS) and spraying the plants with 21 DAS. In comparison to the control plants, the isolates 1301 and T-26, in addition to the combinations Ab-V5 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110 and 1381 + T-26, provided better results, with an increase of 36.5% in the grain yield, a higher accumulation of biomass (78.0%) and a higher content of N, P and K (42.6, 67.8 and 25.7%, respectively) in the shoots of common bean plants. Therefore, the results allow us to infer that the use of MMs is a good strategy for increasing common bean grain yields.

Key words: Coinoculation. Fungus. Grain yield. *Phaseolus vulgaris*. Rhizobacteria.

Resumo: Microrganismos multifuncionais (MM) podem proporcionar efeitos benéficos nas plantas através de mecanismos diretos e indiretos. Este estudo teve como objetivo determinar o efeito do MM na produção de biomassa da parte aérea e da raiz, nas trocas gasosas, no teor de macronutrientes na parte aérea, na raiz e nos grãos, nos componentes de produção e na produção de grãos de feijão-comum. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 26 tratamentos e três repetições, em condições controladas. Os tratamentos consistiram na aplicação de MM e suas combinações em pares, com nove rizobactérias isolados BRM 32109, BRM 32110 e 1301 (*Bacillus* sp.), BRM 32111 e BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.) e Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*), um isolado fúngico edáfico T-26 (*Trichoderma koningiopsis*) e um controle (sem MM). Os microrganismos utilizados foram selecionados apartir de

experimentos anteriores. Esses MM foram aplicados em três momentos: microbiolização das sementes, rega do solo sete dias após a semeadura (DAS) e pulverização das plantas 21 DAS. Os isolados 1301 e T-26, além das combinações Ab-V5 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110 e 1381 + T-26 proporcionaram melhores resultados, uma vez que permitiram aumentar 36,5% na produção de grãos, maior acúmulo de biomassa (78,0%) e maior teor de N, P e K (42,6; 67,8 e 25,7%, respectivamente) na parte aérea do feijão-comum, comparativamente as plantas controle. Portanto, os resultados permitem inferir que o uso de MMs é uma boa estratégia para proporcionar aumentos no rendimento de grãos de feijão-comum.

Palavras-chave: Coinoculação. Fungo. *Phaseolus vulgaris*. Produtividade. Rizobactérias.

3.1 Introduction

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an agricultural product with high sociocultural and nutritional importance to Brazil since it is the main source of vegetable protein for direct consumption by low-income populations (Ganascini et al., 2019). The cultivation of common bean, both alone and intercropped with other crops, is carried out in all Brazilian states (Faria et al., 2016).

Given the economic and social importance of common beans in Brazil, in addition to the growing world demand for food and limitations in the expansion of agricultural areas, investment in research and development by sustainable technologies is necessary (F. C. Oliveira, Benett, Benett, Silva, & Vieira, 2017). Multifunctional microorganisms (MMs) have been incorporated as a very efficient strategy in food production since they have the potential to promote plant growth and control pests and diseases through direct mechanisms that occur during the production of compounds or facilitate the absorption of certain nutrients, such as the biological fixation of atmospheric nitrogen, the solubilization of inorganic phosphate, and the production of plant growth hormones and through indirect mechanisms that can contribute to reducing or preventing the deleterious effects of phytopathogenic microorganisms. Thus, it is possible to reduce the use of agrochemicals and production costs, in addition to providing significant increases in the grain yields of crops (Glick, 2012).

As an example of MMs, rhizobacteria habitats are the rhizosphere of plants, where they multiply, survive and protect themselves from the antagonistic action of the remaining soil microbiota (Podile & Kishore, 2006). The rhizobacteria that establish a beneficial association with plants have been specifically called plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) (Glick, 2012). Dey, Pal, Bhatt and Chauhan (2004) evaluated isolates of *Pseudomonas* spp. in peanut (*Arachis hypogaea* L.) crop and concluded that some isolates significantly increased pod yield, nodule yield and dry weight, root length and number of pods. In another study, seed treatment with the rhizobacterium *Bacillus subtilis* increased the production of dry matter from seedlings and roots of common bean (G. R. F. Oliveira, Silva, Marciano, Proença, & Sá, 2016).

Others examples of MMs are some species of soil fungi, which also have the potential to promote growth in plants such as *Trichoderma* spp. (Druzhinina et al., 2011; Machado, Parzianello, Silva, & Antonioli, 2012). Souza, Harakava, Lucon and Guzzo (2012) reported that the most efficient isolates of *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. strigosum* and *T. theobromicola*) provided increases in

the dry matter production of common bean shoots and reduced the severity of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Chagas, Chagas, Soares and Fidelis (2017) showed that inoculation of soybeans (*Glycine max*), cowpea (*Vigna unguiculata*), rice (*Oryza sativa*) and corn (*Zea mays*) with *Trichoderma asperellum* isolate UFT 201 provided increased the biomass production of the shoots in relation to that with the control for all crops.

Studies conducted by Filippi et al. (2011) and França et al. (2015) identified several multifunctional microorganisms in the upland rice rhizosphere. These MMs were evaluated in controlled and field conditions and showed many beneficial effects related to gas exchange, production of shoot biomass, nutrient content and grain yield of upland rice (Nascente et al., 2017a, 2019a,b) and irrigated rice (Nascente et al., 2017b). Such multifunctional microorganisms, isolated and/or in combination, can be promising for use in other agricultural crops.

Coinoculation consists of adding two or more MMs together in a crop to maximize the beneficial effects of their interactions in a target plant (Chibeba et al., 2015). Studies using coinoculation of microorganisms are important to identifying combinations that provide better plant development (Benizri, Baudoin, & Guckert, 2001). However, studies using multifunctional microorganisms in common bean plants are rare. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of isolated or combined multifunctional microorganisms on shoot and root biomass production; gas exchange; macronutrient content in shoots, roots and grains; yield components; and grain yield of common bean plants.

3.2 Material and Methods

Characterization of the environment

The experiment was carried out in a greenhouse at the Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brazil. Soil from the arable layer (0.00-0.20 m) of a clay-textured Typic Acrustox (United States Department of Agriculture [USDA], 1996) was used. The chemical characteristics of the soil were determined according to methods proposed by Donagema, Campos, Calderano, Teixeira and Viana (2011), and the results were as follows: pH (H₂O) = 6.1; Ca²⁺ = 78.4 mmol_c dm⁻³; Mg²⁺ = 20.9 mmol_c dm⁻³; H+Al³⁺ = 12 mmol_c dm⁻³; P = 35.9 mg dm⁻³; K⁺ = 203 mg dm⁻³; Cu²⁺ = 2.4 mg dm⁻³; Zn²⁺ = 2.9 mg dm⁻³; Fe³⁺ = 39 mg dm⁻³; Mn²⁺ = 28 mg dm⁻³; and organic matter = 24.7 g kg⁻¹.

Three weeks before the sowing of common bean, 78 pots with a capacity of 7 kg were completely filled with soil and fertilized with 10 g of NPK, 5-30-15. During the experiment, water in the soil was monitored daily and maintained under field capacity conditions.

Experimental design and treatments

A completely randomized design with 26 treatments and three replications was used. The treatments consisted of the microbiolization of common bean seeds, cultivar BRS UAI (most recent

cultivar released by Embrapa Rice and Beans), with suspension of microorganisms previously selected as MMs and their combinations in pairs, with nine rhizobacteria isolates and one soil fungus isolate (Table 1). Additionally, at 7 and 21 days, solutions with the microorganisms were applied according to each treatment. In the control treatment, water was used instead of suspensions of microorganisms. The cultivar BRS Uai has type grains carioca habit of undetermined growth, type II, upright architecture, cycle ranging from 85 to 95 days, presents resistance to anthracnose, viruses of the common and withered *Fusarium* mosaic (Embrapa, 2018).

The main characteristics of the rhizobacteria isolates BRM 32109 (*Bacillus* sp.), BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1301 (*Bacillus* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.), Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*) and the T-26 fungus (*Trichoderma koningiopsis*) were described (Table 2). The microorganisms used are deposited and preserved in the collection of Multifunctional Microorganisms of Embrapa Arroz e Feijão.

Table 1
Multifunctional microorganisms, isolated or combined, used during the cultivation of common bean, cultivar BRS Uai

Treatments	Microorganisms	Treatments	Microorganisms
1	BRM 32109 (<i>Bacillus</i> sp.)	14	1301 + BRM 32114
2	BRM 32110 (<i>Bacillus thuringiensis</i>)	15	1381 + BRM 32114
3	BRM 32111 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	16	1381 + 1301
4	BRM 32112 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	17	BRM 32110 + Ab-V5
5	BRM 32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>)	18	BRM 32114 + Ab-V5
6	BRM 32114 (<i>Serratia</i> sp.)	19	1301 + Ab-V5
7	T-26 (<i>Trichoderma koningiopsis</i>)	20	1381 + Ab-V5
8	Ab-V5 (<i>Azospirillum brasilense</i>)	21	Ab-V5 + T-26
9	1381 (<i>Azospirillum</i> sp.)	22	BRM 32110 + T-26
10	1301 (<i>Bacillus</i> sp.)	23	BRM 32114 + T-26
11	BRM 32114 + BRM 32110	24	1301 + T-26
12	1301 + BRM 32110	25	1381 + T-26
13	1381 + BRM 32110	26	Control

Table 2
Collection code, geographical origin, biochemical characteristics and taxonomic classification of the nine rhizobacteria isolates and one fungus isolate used in this study

Code ^a	Origin ^b	Color ^c	Biochemical ^d					Taxonomic ^e
			AIA ^f	Celul. ^g	Phos ^h	Sider. ⁱ	Biofilm ^j	
BRM 32109	GO/Brazil	White	-	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
BRM 32110	PA/Brazil	White	-	+	+	-	+	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BRM 32111	PA/Brazil	Yellow	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
BRM 32112	GO/Brazil	Yellow	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.

BRM 32113	PA/Brazil	Pink	+	+	-	+	+	<i>Burkholderia pyrrai</i>
BRM 32114	PA/Brazil	Pink	+	+	+	+	+	<i>Serratia</i> sp.
Ab-V5	PR/Brazil	Yellow	+	-	-	+	+	<i>Azospirillum brasilense</i>
1381		White	+	-	-	-	-	<i>Azospirillum</i> sp.
1301		White		-	+	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
T- 26		Green	+	-	-	-	-	<i>Trichoderma koningiopsis</i>

^a Numeric code of rhizobacteria and fungus isolates in the Embrapa Arroz e Feijão collection of Multifunctional Microorganisms;

^b Geographic source of each isolate;

^{c, d, e} Colony color, biochemical characterization and taxonomic classification of each isolate, described by Nascente et al. (2017a); Druzhinina et al. (2011);

^f Producer of indolacetic acid, ^gproducer of cellulase, ^hproducer of phosphatase, ⁱproducer of siderophores, ^jproducer of biofilm. The methodology is described in Nascente et al. (2017a); Druzhinina et al. (2011).

Microbiolization of seeds

The bacterial suspensions for the microbiolization of the seeds and the preparation of the suspensions for irrigation and spraying were prepared with water from cultures that grew for a period of 24 hours in a solid medium 523 (Kado & Heskett, 1970) at 28°C, and the concentration was fixed in a spectrophotometer for A540 = 0.5 (10^8 CFU ml⁻¹ for rhizobacteria and 1×10^8 conidia ml⁻¹ for *T. koningiopsis*). The common bean seeds were immersed in each suspension of microorganisms, and the seeds of the controlled treatment were immersed in water for a period of 2 hours under a constant temperature at 25°C, as described by Filippi et al. (2011) with adaptations for common bean. Watering the soil: At 7 days after sowing (DAS), the soil was watered with 100 ml of suspension in each treatment.

Leaf spraying: At 21 DAS, the plants were sprayed with 30 ml of suspension for each treatment. The spraying was carried out using a manual sprayer with pressure supplied by a CO₂ pressure source and a conical nozzle (TX-VS2).

Management of common bean plants

Ten common bean seeds, cultivar BRS UAI, were sown per pot. Ten days after germination, the plants were thinned, leaving three plants per pot. The cultural practices were carried out according to the recommendations and crop needs (Stone & Sartorato, 1994).

Assessments

Gas exchange measurements: photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), internal CO₂ concentration (vpmm) and leaf temperature (°C) were determined in common bean plants using a portable gas meter in the IRGA infrared region (LCpro + ADC BioScientific) between 0800 and 1000 am. The measurements were obtained from the plants at 51 DAS, the full flowering stage (phenological stage R6). The readings were

obtained in the central third of the first completely expanded trefoil (from top to bottom). The equipment was regulated to use concentrations of 370 - 400 mol mol⁻¹ CO₂ in the reference air used in the IRGA photosynthesis chamber. The flow density of photosynthetically active photons (DFFFA) used was 1,200 µmol [quanta] m⁻² s⁻¹. The minimum equilibrium time established for the readings was 2 minutes.

Biomass production: The shoot of one plant per pot was randomly cut and packed in a paper envelope at 51 DAS (full bloom). For the roots, immediately after the plants were harvested (77 DAS), the soil of each pot was washed and sieved to separate the roots. Then, the roots were packed in a paper envelope and identified. Both the shoots and roots were dried in a forced ventilation oven at 65 °C until constant mass and weighed.

Concentration of nutrients: From the dry and weighed shoots and roots, as well as from the grains, representative aliquots were removed, which were ground to determine the levels of macronutrients (N, P, and K), following the recommendations of Malavolta, Vitti and Oliveira (1997).

Yield components and grain yield: The harvest was carried out when the common bean plants reached physiological maturity at 77 DAS. Thus, the number of pods per pot, number of grains per pod, mass of 100 grains and grain yield per pot were determined. The values obtained for the mass of the grains and grain yield were corrected for 13% humidity. These determinations were made in each pot.

Statistical analysis

The data were submitted to analysis of variance, and when significance was detected, the means were compared by the LSD test ($p \leq 0.05$). The statistical package used was SISVAR. In addition, Pearson's correlation analysis was performed between all variables with biomass production, yield components and grain yield of common bean. For this, the SPSS package was used.

3.3 Results and Discussion

Gas exchange evaluation

The values of photosynthesis (A), transpiration (E), stomatal conductance (gs), leaf temperature (T°C) and internal CO₂ concentration (Ci) were similar in the common beans treated with multifunctional microorganisms (Figure 1). As in this study, Nascente et al. (2017b), working with lowland rice, concluded that gas exchange was not affected by multifunctional microorganisms. Thus, we can conclude that MMs have minimal effects on these variables; however, they can have an effect on other variables related to grain yields. Observing the data corresponding to the gas exchange evaluations revealed that the variables were not affected by multifunctional microorganisms due to changes in the photosynthetic apparatus, with all other variables related to photosynthesis. Gas exchange is a complex event and can be influenced by several factors that control the success of plant-microorganism interactions (Ennahli & Earl, 2005). In our research, multifunctional microorganisms did not express sufficient beneficial effects due to external (temperature, pH, and humidity) and internal

(nutrition and plant metabolism) factors influencing gas exchange in common bean plants.

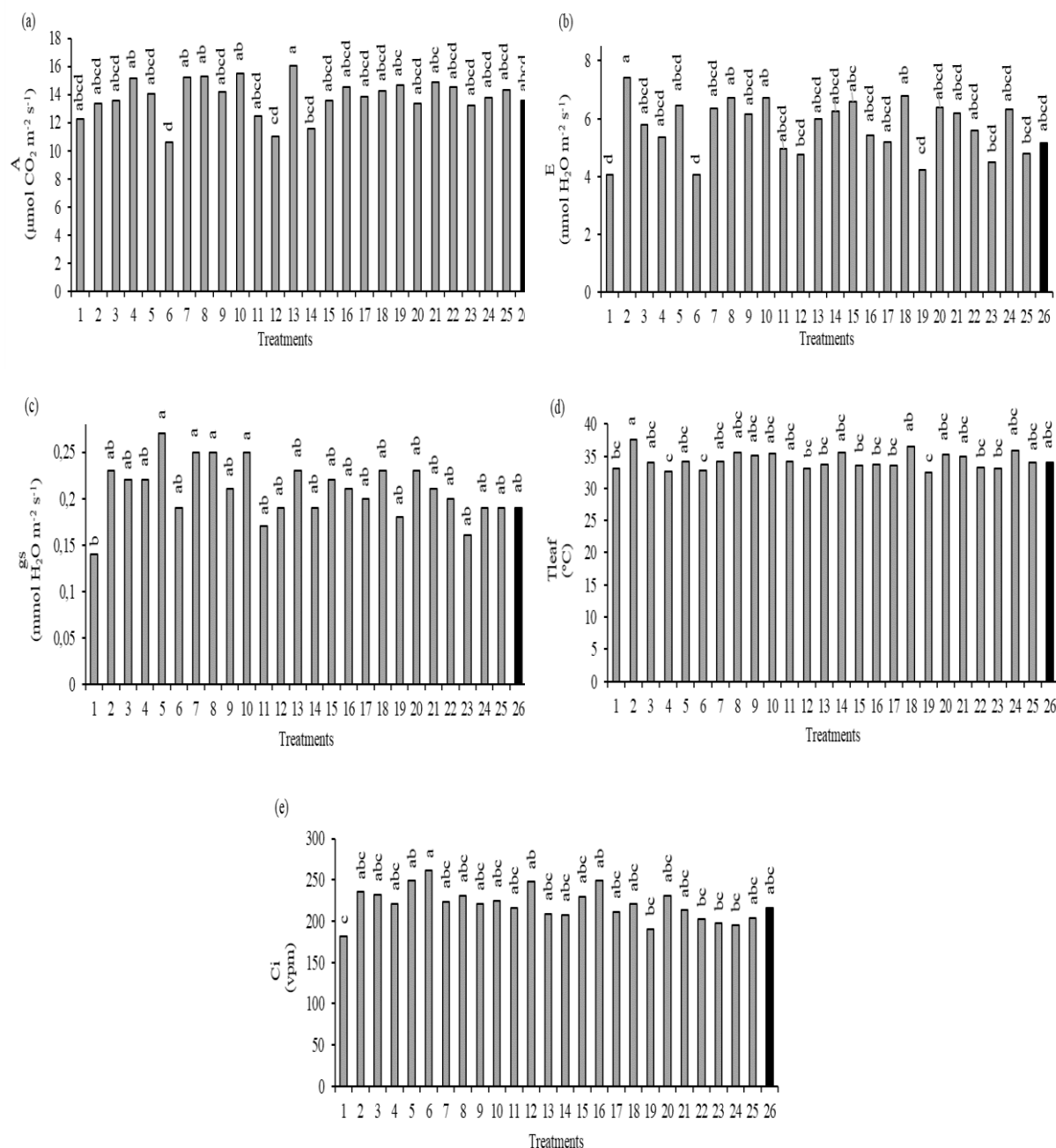


Figure 1. (a) Photosynthesis, (b) Transpiration, (c) Stomatal conductance, (d) Leaf temperature and (e) Internal CO_2 concentration in common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) BRM 32114 + BRM 32110; (12) BRM 32114 + Ab-V5; (13) BRM 32114 + T-26; (14) BRM 32110 + Ab-V5; (15) BRM 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + BRM 32114; (21) 1301 + BRM 32114; (22) 1381 + BRM 32110; (23) 1301 + BRM 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

Biomass

The accumulation of shoot biomass in common bean plants occurred when treated with microorganisms 1381 + Ab-V5 (Figure 2). The increase in biomass was 23.5% compared to that in the control plants. Other treatments that stood out were T-26, Ab-V5 + T-26 and 1301 + Ab-V5, with an average increase equal to 18.0% in relation to that in the control plants. An increase of approximately 4.1 g kg⁻¹ in root biomass was found in common bean plants treated with 1301 + T-26 (4.3 g) and Ab-V5 + T-26 (4.0 g) compared to that common bean plants in the control treatment. In relation to total biomass (root + shoots), values were significantly higher in common bean plants treated with 1381 + Ab-V5, Ab-V5 + T-26, T-26, and 1301 + Ab-V5 than those in the other treatments. The average increment was 20% compared to that in the control plants. These results showed that together, *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), *Azospirillum* sp. (1381), *Bacillus* sp. (1301) and *Trichoderma koningiopsis* (T-26) were the most efficient in promoting an increase in biomass in common bean plants. This increase in root and shoot biomass can be attributed to the direct mechanisms by which rhizobacteria act in the direct solubilization of insoluble P sources, N fixation and/or the regulation of the concentration of plant growth regulators, such as indole acetic acid (AIA) produced by *Azospirillum* and *Trichoderma*. Benizri et al. (2001) and Hungria, Campo, Souza and Pedrosa (2010) reported that the application of *Azospirillum* and *Bacillus* promote root development, which can result in several other beneficial effects on plants, such as greater absorption of water and nutrients, resulting in more vigorous and productive plants.

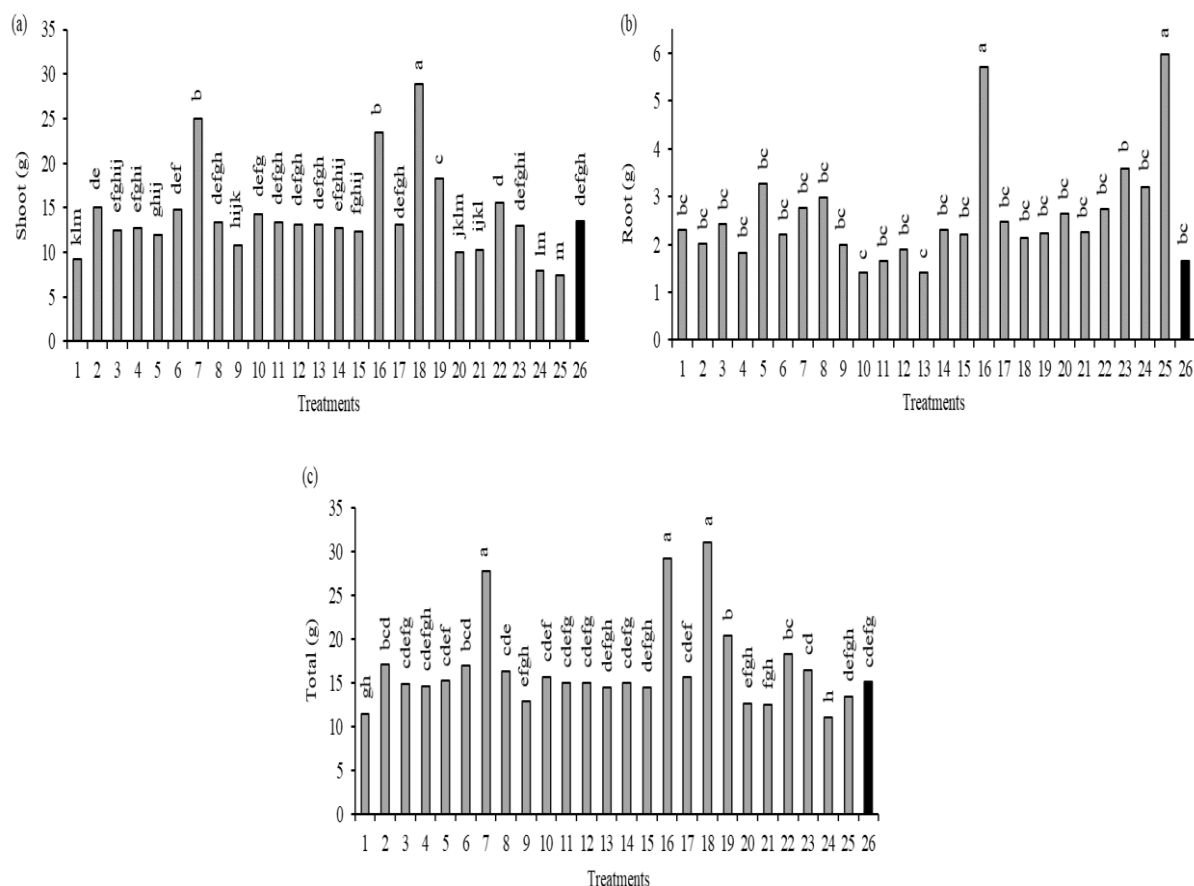


Figure 2. (a) Dry shoot biomass, (b) Dry root biomass and (c) Dry total biomass in common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

The increase in root biomass was directly associated with the increase in biomass in the shoots of common bean plants (Figure 2), which can be attributed to increased water absorption and translocation of nutrients resulting from the increased area of contact between roots and soil and increased volume of root hair through the influence of phytohormones. The increase in shoot biomass can be attributed to the ability of rhizobacteria to induce the synthesis of gibberellins and cytokinins that regulate leaf expansion and chlorophyll synthesis (Rodriguez, Fragar, Gonzalez, & Bashan, 2006).

Bacteria of the genera *Azospirillum* sp. and *Bacillus* sp. are diazotrophic and promote nitrogen fixation (Wang, Perez, Ye, & Huang, 2012). As common bean plants demand substantial nutrients, mainly nitrogen, these isolates in combination may have directly contributed to the nitrogen nutrition of the common bean plants, favoring their growth (Spolaor et al., 2016). The promotion of plant growth by *Trichoderma* species occurs through the production of gibberellins and auxins such as AIA (Hermosa et al., 2013), which favor the development of lateral roots. Souza et al. (2012) observed that the most

efficient isolates of *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. strigosum* and *T. theobromicola*) increased the dry matter production of common bean shoots.

Yield components and grain yield

In comparison to the control plants, the common bean plants treated with the isolates BRM 32109, 1301, and BRM 32110 and with the combinations BRM 32114 + BRM 32110, BRM 32110 + T-26 and BRM 32114 + Ab-V5 showed higher grain yield (Figure 3). The average increase was on the order of 6%. In comparison to the control plants, the plants treated with BRM 32114 + BRM 32110 had a higher number of pods per pot (increase of 46.4%), and plants treated with T-26 had a greater mass of 100 grains (increase of 23.0%). In addition, the number of grains per pod did not vary among treatments.

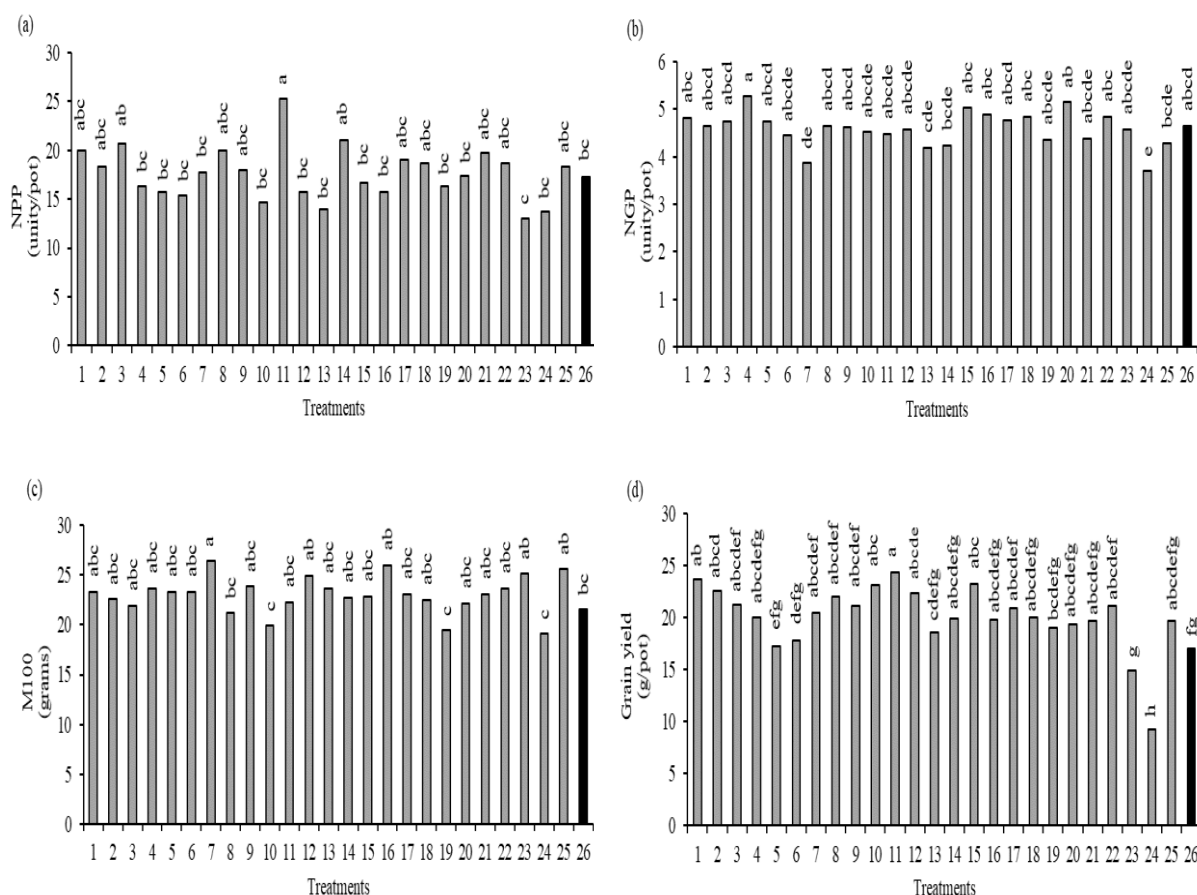


Figure 3. (a) Number of pods per pot, (b) Number of beans per pod, (c) Mass of 100 grains and (d) Grain yield common bean plants treated with multifunctional microorganisms, alone or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

The increase in yield components and grain yields can be explained by the mechanisms of

action of multifunctional microorganisms in common bean plants. The microorganisms that showed increased grain yields were the same microorganisms that showed increases in the macronutrient content of common bean plants (Figure 3). As already shown, the microorganisms influenced the biomass of the shoots and roots, nourishing the plants and making the plants better able to absorb water and nutrients, factors that directly influence the grain yield of a crop. In addition to improving soil structure, the development of the roots by microorganisms may also have increased the plants' ability to absorb water and nutrients, offering the plants the use of nutrients necessary for the development and filling of grains, as well as providing increased grain yield. For example, Lobo, Brandão and Geraldine (2009) also found increased productivity working with common bean and the application of *T. asperellum* and *T. harzianum*, and this increase was dependent on the dose of microorganisms applied. The application of *T. asperellum* (800 mL ha⁻¹) produced an increase of up to 807 kg ha⁻¹ in comparison to that of the control, and the application of *T. harzianum* (1000 mL ha⁻¹) generated an increase of 957 kg ha⁻¹ in comparison to that of the control.

Macronutrients in shoots, roots and grains

Common bean plants treated with isolates 1381 and 1301, in addition to the combinations 1381 + T-26, Ab-V5 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110, BRM 32110 + Ab-V5, 1301 + BRM 32110 and 1381 + BRM 32114, presented the highest levels of N in shoots (Figure 4). The average increase was on the order of 5.3%. Regarding macronutrient P, common bean plants treated with isolate 1381 and with the combinations BRM 32114 + BRM 32110, Ab-V5 + T-26 and 1381 + T-26 showed significantly higher levels of P than those of the control plants. The average increase was approximately 17.0%. For macronutrient K, common bean plants treated with the combination BRM 32114 + BRM 32110 showed significantly higher levels of K (and increase of 25.74%) than those of the control plants. Regarding the macronutrient content in the roots of common bean plants, the levels of N and P were similar between treatments, while the K content was significantly higher in common bean plants treated with isolate 1301 and with the combination 1381 + BRM 32110 than in the control plants (Figure 4); the increments in the K content for these two treatments were on the order of 12.03 g kg⁻¹ and 11.47 g kg⁻¹, respectively. For grains, common bean plants treated with the combinations 1381 + T-26 and 1301 + BRM 32110 had a significantly higher P content (average increase of 10.3%) than that of the plants in the other treatments, while plants treated with isolate 1301 had a significantly higher K content compared to that of the control plants (Figure 5). The increase was on the order of 3.82 g kg⁻¹. For N, there were no differences between the treatments.

Given the results obtained for root biomass and macronutrient content, microorganisms such as Ab-V5, 1301, and T-26, which stimulated the growth of roots, provided an increase in the contact area of the roots with consequently higher nutrient concentrations. Machado et al. (2012) also observed greater absorption of nutrients by plants treated with multifunctional microorganisms and suggested the

most significant development of the roots and increased hairs on the roots as the main factors. Other microorganisms, such as BRM 32114, BRM 32110, and 1381, may have increased the efficiency of the biochemical mechanisms such as the absorption and assimilation of N and P to accumulate macronutrients in the shoot, but studies on the influence of microorganisms on the efficiency of biochemical mechanisms are still needed.

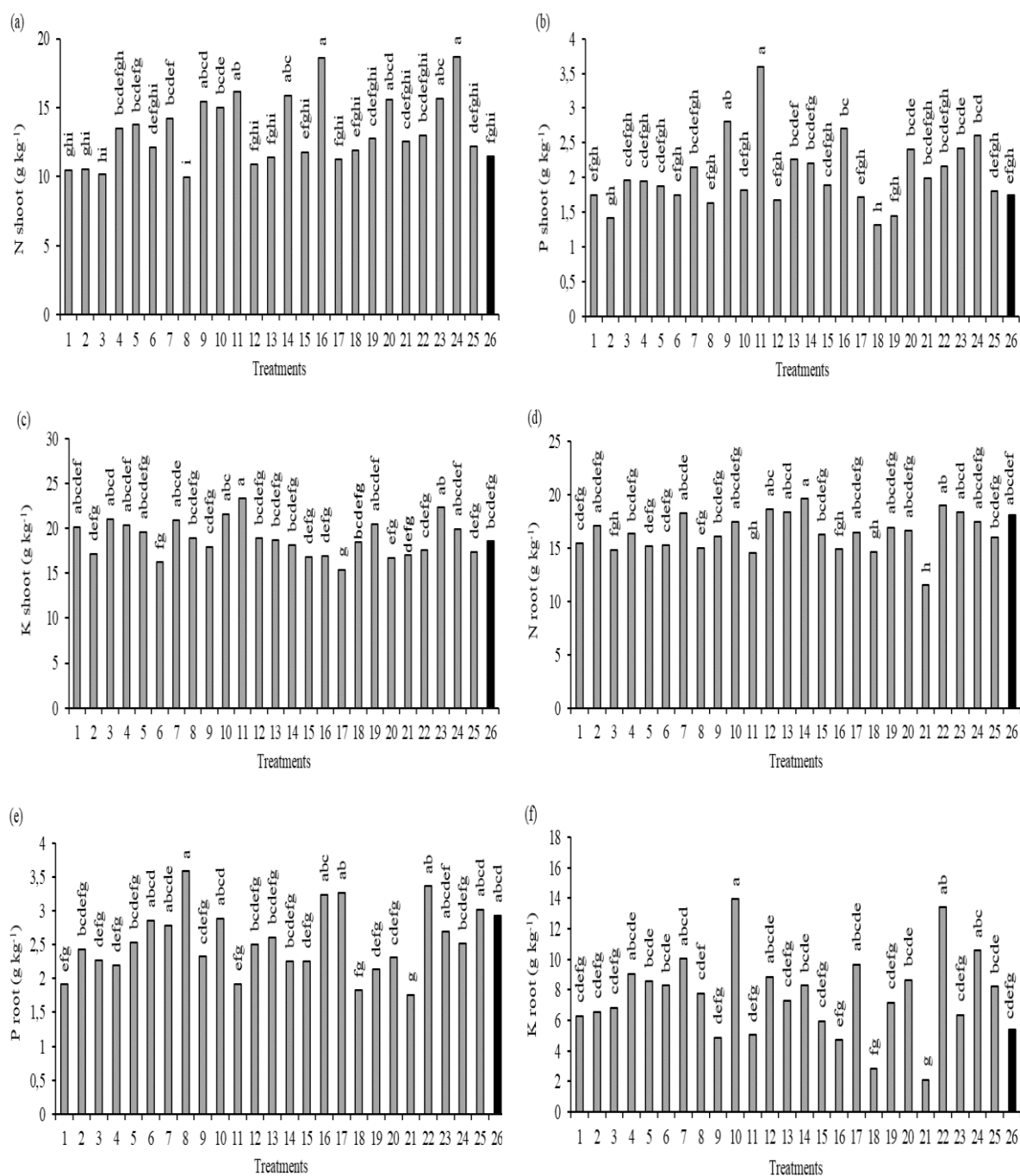


Figure 4. (a) Nitrogen, (b) Phosphorus and (c) Potassium in the shoot in common bean plants (d) Nitrogen, (e) Phosphorus and (f) Potassium in the root system in common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter

in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

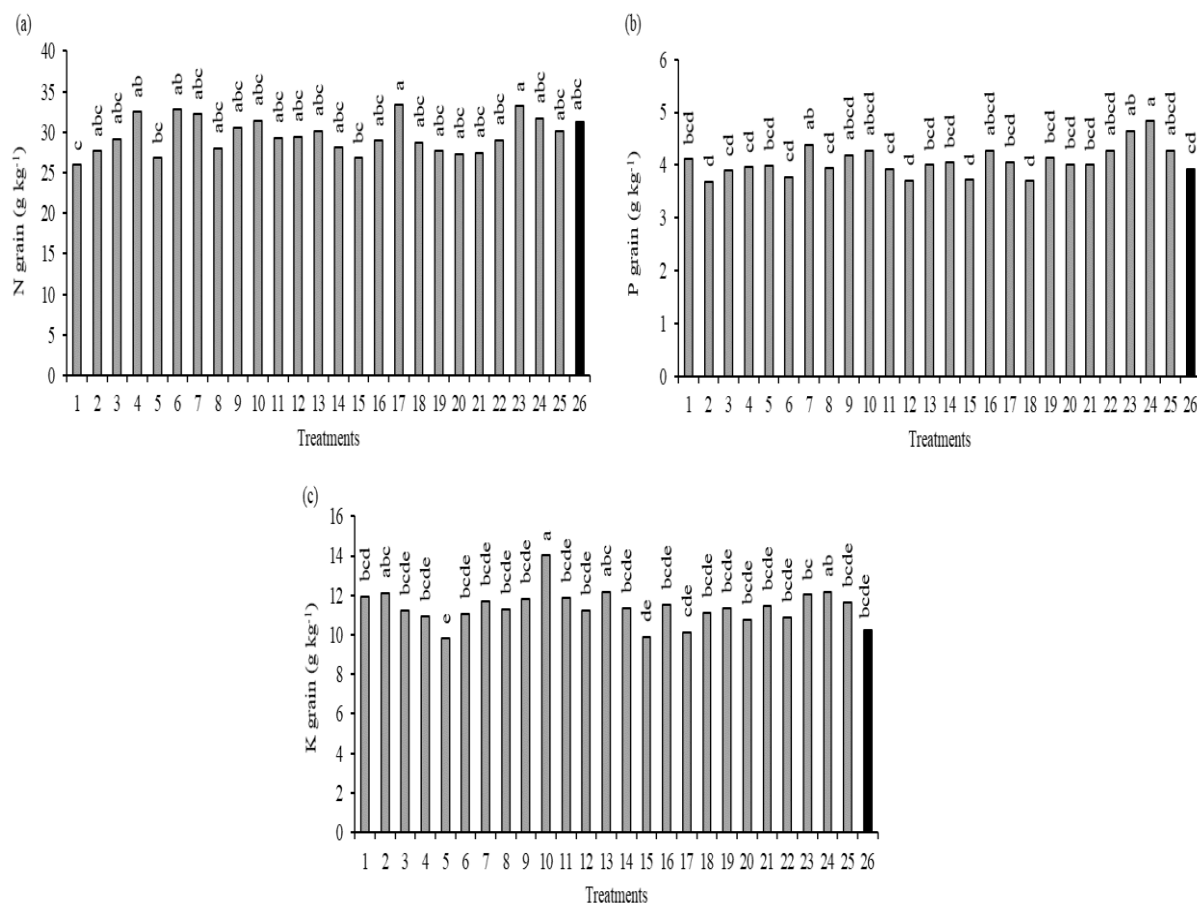


Figure 5. (a) Nitrogen, (b) Phosphorus and (c) Potassium in grains of common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

In addition, multifunctional microorganisms can benefit plants through their ability to solubilize some nutrients and make them available to the plant, contributing to greater growth (Chaudhary & Sindhu, 2016); this result was observed in the present study, where multifunctional microorganisms induced the accumulation of K in roots and grains and positively influenced the growth of common bean plants (Figures 4 and 5).

Grain yield showed a positive correlation with the number of pods (0.541), while shoot biomass correlated positively with the variables total biomass (0.330**) and mass of 100 grains

(0.298**) (Table 3). The root biomass was highly correlated with the total biomass (0.962**). The results showed that grain yield was related to variables such as production and biomass components, showing a dependence between grain yield and the variation of these variables. These variables directly influenced the grain yield of common bean plants. Confirming this explanation, this result is in line with that described by Balbinot, Ferreira, Werner, Aguiar e Silva and Zucareli (2018), who showed a positive correlation between the growth of soybean plants and grain yield.

Table 3

Pearson's correlation coefficient values between gas exchange variables, biomass, grain production and productivity and nutrient content

	Bshoot ^a	Broot ^b	Btotal ^c	N. pods ^d	N. grains ^e	M100 ^f	Grain yield ^g
Bshoot ^a	-	0.061	0.330**	-0.071	0.01	0.298**	-0.178
Broot ^b	-	-	0.962**	-0.03	0.029	0.143	0.073
Btotal ^c	-	-	-	-0.048	0.03	0.215	0.021
N. pods ^d	-	-	-	-	0.011	0.077	0.541**
N.grains ^e	-	-	-	-	-	0.009	0.2
M100 ^f	-	-	-	-	-	-	0.18
Grain yield ^g	-	-	-	-	-	-	-
A ^h	0.061	0.101	0.112	0.054	-0.127	-0.057	0.027
E ⁱ	-0.085	0.101	0.072	0.118	0.143	-0.205	0.096
gs ^j	-0.044	0.179	0.157	0.109	0.03	-0.114	0.148
ci ^k	-0.04	0.148	0.129	-0.023	0.227	-0.013	0.131
Tleaf ^l	-0.006	0.042	0.038	0.093	0.046	-0.195	0.019
Nshoot ^m	0.261*	0.069	0.137	0.337**	-0.179	-0.135	0.389**
Pshoot ⁿ	0.122	-0.129	-0.088	0.059	-0.034	-0.03	-0.117
Kshoot ^o	-0.062	0.101	0.078	0.049	-0.092	-0.142	0.048
Nroot ^p	-0.075	0.045	0.022	-0.219	-0.172	0.159	-0.189
Proot ^q	0.326**	0.041	0.127	-0.134	-0.082	0.168	-0.142
Kroot ^r	0.083	-0.104	-0.076	0.234*	-0.044	-0.035	-0.163
Ngrain ^s	-0.125	0.046	0.009	-0.088	0.364**	0.310**	-0.049
Pgrain ^t	0.119	-0.076	-0.039	0.074	-0.09	0.096	-0.18
Kgrain ^u	-0.046	-0.051	-0.061	-0.238*	-0.270*	-0.175	0.004

** The correlation is significant at the 0.01 level (2 extremities)

*The correlation is significant at the 0.05 level (2 extremities)

^aDry shoot biomass, ^bDry root biomass, ^cDry total biomass, ^dNumber of pods per pot, ^eNumber of beans per pot, ^fMass of 100 grains, ^gGrain field, ^hPhotosynthesis, ⁱTranspiration, ^jStomatal conductance, ^kInternal CO₂ concentration, ^lLeaf temperature, ^mNitrogen, ⁿPhosphorus, ^oPotassium shoot, ^pNitrogen, ^qPhosphorus, ^rPotassium root, ^sNitrogen, ^tPhosphorus, ^uPotassium grains.

For macronutrients, a positive correlation was observed between the N content in the shoots and shoot biomass, number of pods and grain yield (0.261*; 0.337**; and 0.389**, respectively) (Table 3). A positive correlation was also observed between N in the grain and the number of grains per pod (0.364**) and mass of 100 grains (0.310**). With these results, the relationship between the N content and yield components was evident since N is an essential nutrient for the growth and development of plants, particularly common bean (Chibeba et al., 2015). There was also a positive correlation between

the P content in the root and shoot dry biomass shoot (0.326**) and a negative correlation between the K content in the grain and the number of pods per plant (-0.238*) and the number of grains per plant (-0.270*) (Table 3). For the relationship between these variables, it can be inferred that several characteristics of the plants were influenced by the level of P available to the common bean plant, some of which were positive and others were negative. Furlani, Bataglia, Furlani, Azzini and Camargo (1983) verified, through correlation coefficients, that the tolerance to Al is related to the efficiency of P for one hundred lines of irrigated upland rice and forty maize and found that in conditions of low availability of P, the shoot biomass and roots were the characteristic that was most related to the efficiency of use of P and allowed the differentiation of rice genotypes.

This study showed that multifunctional microorganisms other than *Rhizobium* produce beneficial effects on the growth and development of common bean plants. Therefore, it is imperative to advance knowledge through scientific research to establish economically viable types and quantities of application for these bioinputs, as well as to validate these results in experiments under field conditions.

3.4 Conclusion

Some microorganisms used in this study resulted in significant increases in shoot and root biomass and levels of N, P, and K with direct effects on yield components and grain yield of common bean plants.

The multifunctional microorganisms *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), *Azospirillum* sp. (1381), *Bacillus thuringiensis* (BRM 32110), *Bacillus* sp. (1301), *Trichoderma koningiopsis*. (T-26) and *Serratia* sp. (BRM 32114) were the microorganisms that stood out as having beneficial effects on common bean plants.

Acknowledgments

The authors would like to thank Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA) for the infrastructure for performing this research, Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for support this research (process n. 406507/2018-0) and for the research productivity scholarship for the sixth and seventh authors, and to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for providing the master's scholarship to the first author.

3.5 References

- Balbinot, A. A., Jr., Ferreira, A. S., Werner, F., Aguiar e Silva, M. A. de, & Zucareli, C. (2018). Crescimento de plantas de soja em função da redução da densidade de semeadura e sua relação com a produtividade. Thais Sofia Ribeiro Santos, *Boletim de pesquisa e desenvolvimento* (pp. 1-18). Londrina: EMBRAPA Soja. Recuperado de <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1099933/1/BOLETIMPB18Alvadi.pdf>

- Benizri, E., Baudoin, E., & Guckert, A. (2001). Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, 11(5), 557-574. doi: 10.1080/09583150120076120
- Chagas, L. F. B., Chagas, A. F., Jr., Soares, L. P., & Fidelis, R. R. (2017). *Trichoderma* in promoters of plant growth. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4(3), 97-102. doi: 10.32404/rean.v4i3.1529
- Chaudhary, S. R., & Sindhu, S. S. (2016). Growth stimulation of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) by coinoculation with rhizosphere bacteria and *Rhizobium*. *Legume Research*, 39(6), 1003-1012. doi: 10.18805/lr.v0iOF.8605
- Chibeba, A. M., Guimarães, M. F., Brito, O. R., Nogueira, M. A., Araújo, R. S., & Hungria, M. (2015). Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. *American Journal of Plant Sciences*, 6(10), 1641-1649. doi: 10.4236/ajps.2015.610164
- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., & Chauhan, S. M. (2004) Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 159(4), 371-394. doi: 10.1016/j.micres.2004.08.004
- Donagema, G. K., Campos, D. V. B., Calderano, S. B., Teixeira, W. G., & Viana, J. H. M. (2011). *Manual de métodos de análise do solo*. Rio de Janeiro, RJ: EMBRAPA Solos.
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E.,... Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 16(9), 749-759. doi: 10.1038/nrmicro2637
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2018). *BRSMG Uai: Cultivar de Feijão Tipo Carioca com Planta de Arquitetura Ereta*. Embrapa Arroz e Feijão, 1º Edição. Recuperado de <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1103800/1/CNPAF2018ct246.pdf>
- Ennahli, S., & Earl, H. J. (2005). Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress. *Crop Science*, 45(6), 2374-2382. doi: 10.2135/cropsci2005.0147
- Faria, J., Aragão, F., Souza, T., Quintela, E., Kitajima, E., & Ribeiro, S. (2016). Golden mosaic of common beans in Brazil: management with a transgenic approach. *Archives of Microbiology*, 159(10), 727-737. doi: 10.1094/APSFeature-2016-10
- Filippi, M. C. C., Silva, G. B., Lobo, V. L. S., Cortes, M. V. C. B., Moraes, A. J. G., & Prabhu, A. S. (2011). Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biological Control*, 58(2), 160-166. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.04.016
- França, S. K. S., Cardoso, A. F., Lustosa, D. C., Ramos, E. M. L. S., Filippi, M. C. C., & Silva, G. B. da. (2015). Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 317-324. doi: 10.1007/s13593-014-0244-3
- Furlani, A. M. C., Bataglia, O. C., Furlani, P. R., Azzini, L. E., & Camargo, O. B. (1983). Avaliação de genótipos de arroz quanto a eficiência no uso de fósforo em solução nutritiva e no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 7(3), 291-303. doi: 10.1590/S0006-87051991000200012
- Ganascini, D., Laureth, J. C. U., Mendes, I. S., Tokura, L. K., Sutil, E. L. V., Villa, B. de,... Coelho, S. R. M. (2019). Analysis of the production chain of bean culture in Brazil. *Journal of Agricultural Science*, 11(7), 256-267. doi: 10.5539/jas.v11n7p256
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012(5), 1-15. doi: 10.6064/2012/963401

- Hermosa, R., Rubio, M. B., Cardoza, R. E., Nicolas, C., Monte, E., & Gutiérrez, S. (2013). The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *International Microbiology*, 16(2), 69-80. doi: 10.2436/20.1501.01.181
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331(13), 413-425. doi: 10.1007/s11104-009-0262-0
- Kado, C. J., & Heskett, M. G. (1970). Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60(6), 969-976. doi: 10.1094/Phyto-60-969
- Lobo, M., Jr., Brandão, R. S., & Geraldine, A. M. (2009). *Produtividade do feijoeiro comum em campo em tratamentos com Trichoderma harzianum e Trichoderma asperellum*. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão. (Comunicado Técnico). Recuperado de <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/663620/produtividade-do-feijoeiro-comum-em-campo-em-tratamentos-com-trichoderma-harzianum-e-trichoderma-asperellum>
- Machado, D. F. M., Parzianello, F. R., Silva, A. C. F. da, & Antonioli, Z. I. (2012). *Trichoderma* in Brazil: The fungus and the bioagent. *Revista de Ciências Agrárias*, 35(1), 274-288. doi: 10.19084/rca.16182
- Malavolta, E., Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). *Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações*. Piracicaba: Potafos.
- Nascente, A. S., Filippi, M. C. C. de, Lanna, A. C., Souza, A. C. A., Lobo, V. L. S., & Silva, G. B. da. (2017a). Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(3), 2956-2965. doi: 10.1007/s11356-016-8013-2
- Nascente, A. S., Filippi, M. C. C. de, Lanna, A. C., Sousa, T. P., Souza, A. C. A., Silva Lobo, V. L. da, & Silva, G. B. da. (2017b). Effects of beneficial microorganisms on lowland rice development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(32), 25233-25242. doi: 10.1007/s11356-017-0212-y
- Nascente, A. S., Filippi, M. C. C. de, Sousa, T. P. de, Chaibub, A. A., Souza, A. C. de, & Lanna, A. C. (2019b). Upland rice gas exchange, nutrient uptake and grain yield as affected by potassium fertilization and inoculation of the diazotrophic bacteria *Serratia* spp. *Australian Journal of Crop Science*, 13(6), 944-953. doi: 10.21475/ajcs.19.13.06.p1689
- Nascente, A. S., Lanna, A. C., Sousa, T. P. de, Chaibub, A. A., Souza, A. C. A. de, & Filippi, M. C. C. de. (2019a). N fertilizer dose-dependent efficiency of *Serratia* spp. for improving growth and yield of upland rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Plant Production*, 13(3), 217-226. doi: 10.1007/s42106-019-00049-5
- Oliveira, F. C., Benett, C. G. S., Benett, K. S. S., Silva, L. M., & Vieira, B. C. (2017). Different doses and times of application of zinc in soybean culture. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4(5), 28-35. doi: 10.32404/rean.v4i5.2188
- Oliveira, G. R. F., Silva, M. S., Marciano, T. V. F., Proença, S. L., & Sá, M. E. (2016). Early growth of common bean plants in response to vigour seeds and inoculation with *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 10(4), 439-448. doi: 10.18011/bioeng2016v10n4p439-448
- Podile, A. R., & Kishore, G. K. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria. In S. S. Gnanamanickam (Ed.), *Plant associated bacteria* (pp. 195-230). Netherlands: Springer.

- Rodriguez, H., Fragar, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287(1), 15-21. doi: 10.1007/s11104-006-9056-9
- Souza, E. A. S. P., Harakava, R., Lucon, C. M. M., & Guzzo, S. D. (2012). Plant growth promotion of common bean and anthracnose control by *Trichoderma* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(11), 1589-1595. doi: 10.1590/S0100-204X2012001100005
- Spolaor, L. T., Gonçalves, L. S. A., Santos, O. J. A. P. dos, Oliveira, A. L. M. de, Scapim, C. A., Bertagna, F. A. B., & Kuki, M. C. (2016). Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. *Bragantia*, 75(1), 33-40. doi: 10.1590/1678-4499.330
- Stone, L. F., & Sartorato, A. (1994). *O cultivo do feijão: recomendações técnicas*. Brasília: EMBRAPA-SPI. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 48). Recuperado de http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAF/11844/1/doc_48.pdf
- United States Department of Agriculture (1996). *Keys to soil taxonomy*. Washington, USDA: Department of Agriculture.
- Wang, S., Perez, P. G., Ye, J., & Huang, D. F. (2012). Abundance and diversity of nitrogen-fixing bacteria in rhizosphere and bulk paddy soil under different duration of organic management. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 28(5), 5560-5568. doi: 10.1007/s11274-011-0840-1

CAPÍTULO 3

DESEMPENHO FISIOLÓGICO E AGRONÔMICO DO FEIJÃO-COMUM TRATADO COM MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS ¹

Cássia Cristina Rezende²; Adriano Stephan Nascente³; Mariana Aguiar Silva²; Laylla Luanna de Mello Frasca²; Rafael Augusto Corrêa Pires⁴; Marta Cristina Corsi de Filippi³; Anna Cristina Lanna³; José Francisco Arruda e Silva³

¹Capítulo submetido como artigo ao periódico científico – *Brazilian Archives of Biology and Technology*

² Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil.

³ Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Goiás, Brasil.

⁴ Centro Universitário de Goiás, Uni-ANHANGUERA, Goiânia, Goiás, Brasil.

4 PHYSIOLOGICAL AND AGRONOMIC PERFORMANCE OF THE COMMON BEAN TREATED WITH MULTIFUNCTIONAL MICROORGANISMS

Cássia Cristina Rezende ⁽¹⁾, Adriano Stephan Nascente ⁽²⁾, Mariana Aguiar Silva ⁽¹⁾, Laylla Luanna de Mello Frasca ⁽¹⁾, Rafael Augusto Corrêa Pires ⁽³⁾, Marta Cristina Corsi de Filippi ⁽²⁾, Anna Cristina Lanna ⁽²⁾, and José Francisco Arruda e Silva ⁽²⁾

⁽¹⁾Federal University of Goiás, Highway Goiânia /Nova Veneza. Km 0. CEP: 74001-970. Goiânia-GO, Brazil. cassiacristinarezende@hotmail.com, marianaaguiar23@hotmail.com, layllafrasca@gmail.com.

⁽²⁾Embrapa Rice and Beans, Highway GO-462, Km 12, Capivara Farm, Countryside, Mailbox: 179, CEP: 75375-000 - Santo Antônio de Goiás - GO, Brazil. adriano.nascente@embrapa.br, cristina.filippi@embrapa.br, anna.lanna@embrapa.br, j.chikosilva@hotmail.com.

⁽³⁾University Center of Goiás, Avenue João Candido de Oliveira, 115 – Jardim City. CEP: 74423-115. Goiânia-GO, Brazil. rafaelaugusto.correa@gmail.com.

HIGHLIGHTS

- We tested the effect of multifunctional microorganisms in common bean plants.
- Ab-V5, BRM 32112 and others combinations were the most prominent treatments.
- These treatments provided twice the grain yield compared to control plants.

Abstract: Multifunctional microorganisms (MM) are natural inhabitants of agroecosystems, capable of colonizing the root system and the shoot of plants and providing beneficial effects to the system, through direct and indirect mechanisms. Thus, the objective of this study was to determine the effect of the use of multifunctional microorganisms on gas exchange and macronutrient content in the shoots and roots, yield components and grain yield of common bean plants. A completely randomized design with twenty-six treatments and three replications was used under controlled conditions. The treatments consisted of the application of MM and its combinations in pairs, with nine rhizobacteria isolates BRM 32109, BRM 32110 and 1301 (*Bacillus* sp.), BRM 32111 and BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia* sp.), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.) And Ab-V5 (*Azospirillum brasiliense*), an edaphic fungal isolate T-26 (*Trichoderma koningiopsis*), and a control (without MM). The isolates Ab-V5 and BRM 32112, in addition to the combinations BRM 32114 + T-26, 1301 + BRM 32110 and BRM 32114 + BRM 32110 were the highlights treatments, since they provided increases in gas exchange (stomatal conductance - 79.1% and transpiration - 10.0%), in the content of macronutrients (N - 63.3% and P - 56.7%, in the shoots and P - 42.7%, in the roots) and in the agronomic performance, providing twice as much of grain yield in common bean plants, compared to control plants. Based on the results, it can be inferred that multifunctional microorganisms are potential and sustainable technologies for the common bean production chain.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Bioagents; Gas exchange; Nutrients; Grain yield.

INTRODUCTION

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important legumes in Brazil and worldwide [1-2], being considered a source of basic protein for direct consumption, low cost, excellent source of fiber, iron and amino acids [3]. Brazil is the world's largest producer of this legume; whose cultivation covers almost all Brazilian states [4].

Small producers dominate the Brazilian production of common beans (about 67%), but there is a tendency to increase the participation of medium and large producers, mainly in the Cerrado region (irrigated winter cultivation) [2]. According to [1], winter cultivation is characterized by the intensive use of synthetic inputs, like chemical fertilizers that provide significant increases in productivity; however, it increases production costs.

In view of the serious consequences that the intensive use of agricultural inputs has caused to agro-ecosystems, such as air and water pollution, soil contamination and human health problems, the idea of environmental conservation and the rational use of its resources has become increasingly relevant [5]. As an example, there are the specific interactions between plants and multifunctional microorganisms, which have a positive impact on the functioning of ecosystems [6].

In this context, rhizobacteria, capable of rapidly colonizing the root system of plants, represent strategic organisms in the soil-plant system because in addition to preventing the invasion of pathogens through the production of secondary metabolites [7-8] help to plant growth and development [9]. Among the positive effects of these bacteria are: N₂ fixation [10], production of phytohormones [11], increased phosphate solubilization [12], stimulus the greater root development of plants [13], increased absorption of water and nutrients [11], control of phytopathogens [14], among others that result in greater plant development and greater grain yield [15].

In addition to rhizobacteria, the soil fungus, *Trichoderma* spp., also plays a major role in plant growth [16]. Its effect has been related to the protection of plants against primary and secondary rhizosphere pathogens, production of plant growth hormones, increased absorption and translocation of mineral nutrients, in addition to increased solubility and availability of various micronutrients [17].

Additionally, the co-inoculation with rhizobacteria has been proposed as a technology capable of enhancing the promotion of growth in plants and, consequently, benefiting the N₂ fixation process and stimulating the increase in the absorption of water and nutrients, compared to the application of individual isolates [18]. [19] working with co-inoculation of rhizobia (*Bradyrhizobium japonicum*) and azospirilla (*Azospirillum brasilense*) on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max*) seeds showed that the microorganisms increased grain production at field conditions. Despite the potential for the use of multifunctional microorganisms in agricultural crops, mainly in co-inoculation, there are still few works published in the culture of common bean.

Thus, the objective of this study was to determine the effect of the use of multifunctional microorganisms on gas exchange and macronutrient content in the shoots and roots, as well as yield components and grain yield of common bean plants.

MATERIAL AND METHODS

Characterization of the environment

The experiment was conducted in a greenhouse, at the headquarters of Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. Soil from the arable layer (0.00-0.20 m) of a dystrophic Latosol, medium texture, was used [20]. The chemical characteristics of the soil were determined with the following results pH (H₂O) = 5.6; Ca²⁺ = 28.4 mmolc dm⁻³; Mg²⁺ = 12.5 mmolc dm⁻³; H + Al³⁺ = 28 mmolc dm⁻³; P = 11 mg dm⁻³; K⁺ = 218 mg dm⁻³; Cu²⁺ = 0.8 mg dm⁻³; Zn²⁺ = 4.0 mg dm⁻³; Fe³⁺ = 7.3 mg dm⁻³; Mn²⁺ = 18 mg dm⁻³ and organic matter = 37.7 g kg⁻¹. These analyzes followed the methods proposed by [21].

Three weeks before the sowing of common bean, 78 pots with a capacity of 7 kg were completely filled with soil and fertilized with 10 g of NPK, formulation 5-30-15. During the entire conduct of the experiment, soil moisture was monitored daily, and kept close to field capacity conditions.

Experimental design and treatments

A completely randomized design with 26 treatments and three replications was used. The treatments consisted of the application of microorganisms and their combinations in pairs in common bean, with nine isolated from rhizobacteria and one isolated from soil fungus (Table 1). The microorganisms were applied at three times in the culture, microbiolization of the seeds, soil imbibition and sprayed at 7 and 21 days. In the control treatment, water was used both for microbiolization, as well as soil imbibition and spraying at 7 and 21 days.

Table 1 - Multifunctional microorganisms, isolated or combined, used during the cultivation of common bean, cultivar BRS FC 402

1	Microorganisms	Treatments	Microorganisms
1	BRM 32109 (<i>Bacillus</i> sp.)	14	1301 + 32114
2	BRM 32110 (<i>Bacillus thuringiensis</i>)	15	1381 + 32114
3	BRM 32111 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	16	1381 + 1301
4	BRM 32112 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	17	32110 + Ab-V5
5	BRM 32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>)	18	32114 + Ab-V5
6	BRM 32114 (<i>Serratia</i> sp.)	19	1301 + Ab-V5
7	T-26 (<i>Trichoderma koningiopsis</i>)	20	1381 + Ab-V5
8	Ab-V5 (<i>Azospirillum brasilense</i>)	21	Ab-V5 + T-26
9	1381 (<i>Azospirillum</i> sp.)	22	32110 + T-26
10	1301 (<i>Bacillus</i> sp.)	23	32114 + T-26
11	32114 + 32110	24	1301 + T-26
12	1301 + 32110	25	1381 + T-26
13	1381 + 32110	26	Control

The main characteristics of the rhizobacteria isolates BRM 32109 (*Bacillus* sp.), BRM 32110 (*Bacillus thuringiensis*), BRM 32111 (*Pseudomonas fluorescens*), BRM 32112 (*Pseudomonas* sp.), BRM 32113 (*Burkholderia pyrrocinia*), BRM 32114 (*Serratia* sp.), 1301 (*Bacillus* sp.), 1381 (*Azospirillum* sp.), Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*) and the fungus T-26 (*Trichoderma koningiopsis*) are described in Table 2. The microorganisms used are stored and preserved in the Microorganisms collection Embrapa Rice and Bean Multifunctional.

Table 2 - Collection code, geographical origin, biochemical characteristics and taxonomic classification of the nine rhizobacteria isolates used in this study

Code ^A	Origin ^B	Color ^C	Biochemical ^D					Taxonomic ^E
			AIA ^F	Cel ^G	Pho ^H	Sid ^I	Bio ^J	
BRM 32109	GO/Brazil	White	-	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
BRM 32110	PA/Brazil	white	-	+	+	-	+	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BRM 32111	PA/Brazil	Yellow	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
BRM 32112	GO/Brazil	Yellow	-	+	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
BRM 32113	PA/Brazil	Pink	+	+	-	+	+	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>
BRM 32114	PA/Brazil	Pink	+	+	+	+	+	<i>Serratia</i> sp.

Ab-V5	PR/Brazil	Yellow	+	-	-	+	+	<i>Azospirillum brasilense</i>
1381		White	+	-	-	-	-	<i>Azospirillum sp.</i>
1301		White	-	-	+	-	-	<i>Bacillus sp.</i>

^ANumeric code of rhizobacteria and fungus isolates in the Embrapa Arroz e Feijão collection of Multifunctional Microorganisms;

^BGeographic source of each isolate;

^{C, D, E}Colony color, biochemical characterization and taxonomic classification of each isolate, described by [22,16]

^FProducer of indolacetic acid, ^Gproducer of cellulase, ^Hproducer of phosphatase, ^Iproducer of siderophores, ^Jproducer of biofilm. The methodology is described in [22,16].

Microbiolization of seeds

From cultures with growth in solid medium (nutrient agar), suspensions with the microorganisms were prepared in liquid medium 523 (nutrient broth) [23], in a shaking incubator, for 24 hours at 28 °C. The suspension concentration of each microorganism was adjusted in a spectrophotometer to A540 = 0.5, which corresponds to 1x10⁸ colony-forming units (CFU) per mL and 1 x 10⁸ ml⁻¹ conidia for *Trichoderma koningiopsis*. The seeds of common bean were immersed in each suspension of microorganisms, and the seeds of the control treatment were immersed in distilled water, for a period of 2 hours under constant agitation at 25°C [24].

Watering and spraying were carried out with the suspensions of microorganisms in the same concentrations used to microbiolize the seeds. Thus, at 7 days after sowing (DAS), the soil was watered with 100 ml of suspension in each treatment and at 21 DAS the plants were sprayed with 30 ml of suspension for each treatment. The plants were sprayed using a manual sprayer with pressure supplied by a CO₂ pressure source and a conical nozzle (TX-VS2).

Management of common bean plants.

Ten common bean seeds cultivar BRS FC 402 were sown per pot. Ten days after germination, the plants were thinned, leaving three plants per pot. Cultural practices were carried out according to the recommendations and needs of the culture. The cultivar BRS FC 402 has grains carioca habit of undetermined growth, type III, semi-erect architecture, cycle ranging from 85 to 94 days, it presents anthracnose resistance and *Fusarium* wilt.

Assessments

Gas exchange measurements: photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiratory rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), internal CO₂ concentration (vpm) and leaf temperature (°C) were determined in common bean plants at 37 DAS (beginning of flowering), using a portable gas meter in the IRGA infrared region (LCpro +, ADC BioScientific), between 08:00 and 10:00 hours from morning. The readings were taken in the central third of the first completely expanded trefoil (from top to bottom). The equipment was regulated to use concentrations of 370 - 400 mol mol⁻¹ CO₂, and 1200 $\mu\text{mol [quanta] m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ of photosynthetically active photon flux density (DFFFA). The minimum equilibrium time established for the readings was 2 minutes.

Yield components and grain yield: harvesting was carried out when common bean plants reached physiological maturity, 83 DAS. Thus, the number of pods per pot, the number of grains per pod was counted and the mass of 100 grains and grain yield were determined. The values obtained were corrected for 13% humidity. These determinations were made in each vessel.

Nutrient content: after drying and weighing the dry biomass of the shoots and roots, representative aliquots were removed for grinding and determination of the levels of macronutrients N, P and K, following recommendations by [25].

Statistical analysis

It was determined normality of errors (Shapiro-Wilk test) and homogeneity of variance (Bartlett test) of the data. Then, the data were subjected to analysis of variance and, when significance was detected, the means were compared by the LSD test ($p \leq 0.05$). The SISVAR statistical package was used to process these data. Additionally, a multivariate principal component analysis (PCA) was performed to describe the correlation between response variables (gas exchange, accumulation of nutrients in the shoots and roots, yield components and grain yield) and isolated and combined microorganisms. The main components (PCs) were loaded with response variables when the correlation test produced $r \geq 0.50$. The first five PCs responsible for 68.2% of the data variation were maintained. Biplots (two-dimensional graph) using these five PCs that correlate isolated and combined microorganisms and response variables were built with the “FactoExtra” package [26] on the R platform.

RESULTS

Gas exchange evaluation

The effect of inoculation on common bean plants on photosynthesis (A), transpiration (E), stomatal conductance (gs), internal CO₂ concentration (Ci) and leaf temperature (Tleaf) is shown in Figure 1. The increase in E (16.5% on average) and gs (25.0% on average) in common bean plants inoculated with Ab-V5 (E and gs); and the combinations BRM 32114 + Ab-V5 (E and gs), 1381 + 1301 (gs) and 1301 + T-26 (E) indicate that there was a greater flow of water and nutrients from the soil to the plant, since the supply water for the crop was abundant. This is advantageous since the higher nutrient content within the plant culminates in a more adequate metabolism and, consequently, accumulation of photoassimilates and growth gain.

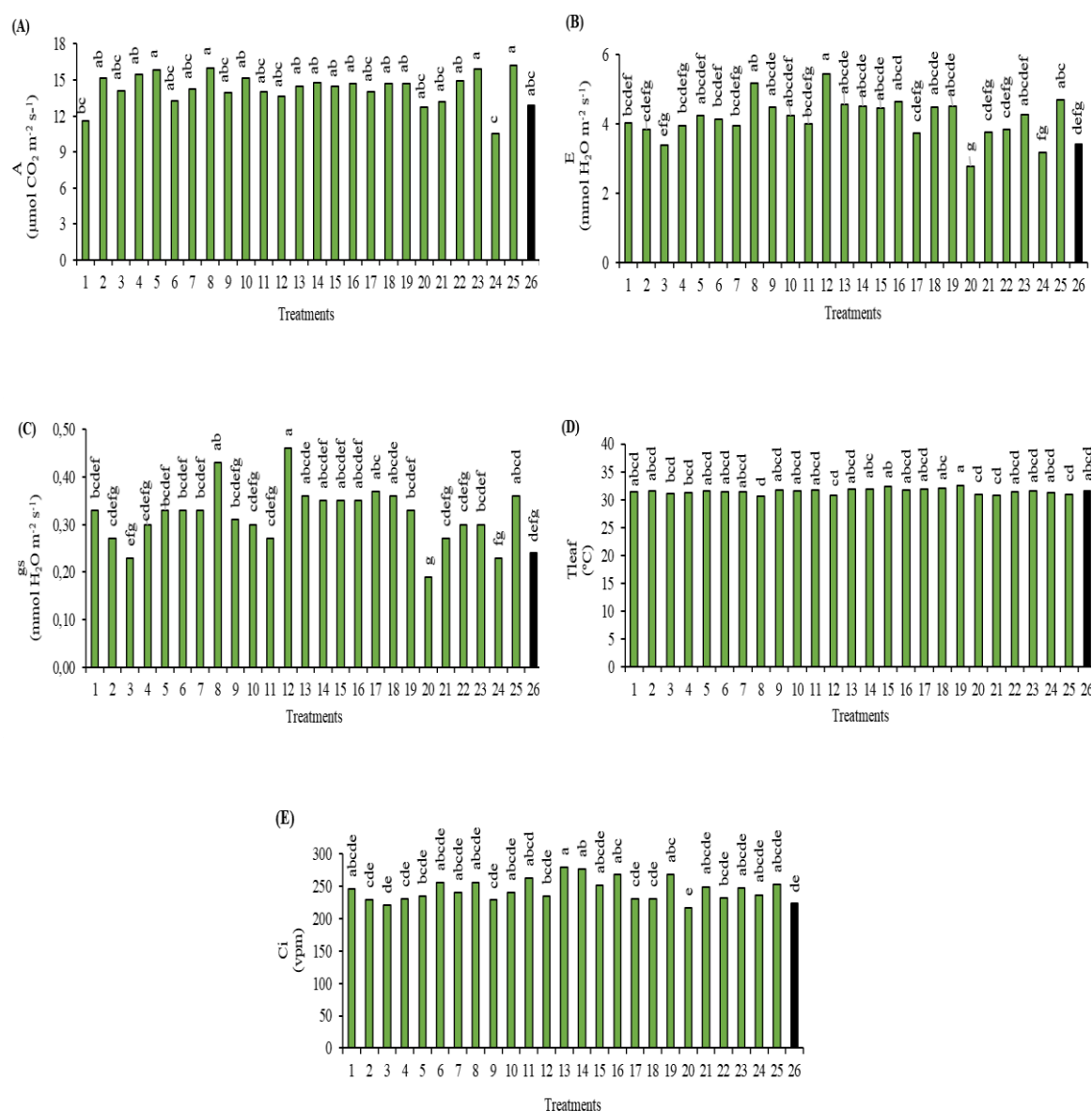


Figure 1 - (A) Photosynthesis; (B) Transpiration; (C) Stomatal conductance; (D) Leaf temperature and (E) Internal CO_2 concentration in common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) BRM 32114 + BRM 32110; (12) BRM 32114 + Ab-V5; (13) BRM 32114 + T-26; (14) BRM 32110 + Ab-V5; (15) BRM 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + BRM 32114; (21) 1301 + BRM 32114; (22) 1381 + BRM 32110; (23) 1301 + BRM 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

Yield components and grain yield

In crops, such as common bean, where seeds are the product of interest, the main criteria for selecting bioagents are those that lead to greater grain yield. In this study, the bioagents that stood out to stimulate increased grain yield in common bean plants were Ab-

V5, 1381+ BRM 32114 and BRM 32114 + BRM 32110 (Figure 2D). Common bean plants inoculated with bioagents that differed significantly from non-inoculated plants showed an average grain yield increase equal to 66.5%. For yield components, the increase in the number of pods per plant (47.4%) was highlighted in plants inoculated with Ab-V5, 1381+ BRM 32114 and BRM 32114 + BRM 32110, followed by BRM 32111, BRM 32114 + T -26, 1381 + AB-V5, 1381 + BRM 32110 and 1301 + BRM 32110 (Figure 2A).

The increase in the number of grains per pod obtained in common bean plants inoculated with the isolate BRM 32112 was double compared to the control (Figure 2B). In relation to the increase in the mass of 100 grains (10.8%), most treatments based on bioagents showed a beneficial effect, with emphasis on common bean plants inoculated with the isolate BRM 32114 and the combination BRM 32110 + T -26 (Figure 2C).

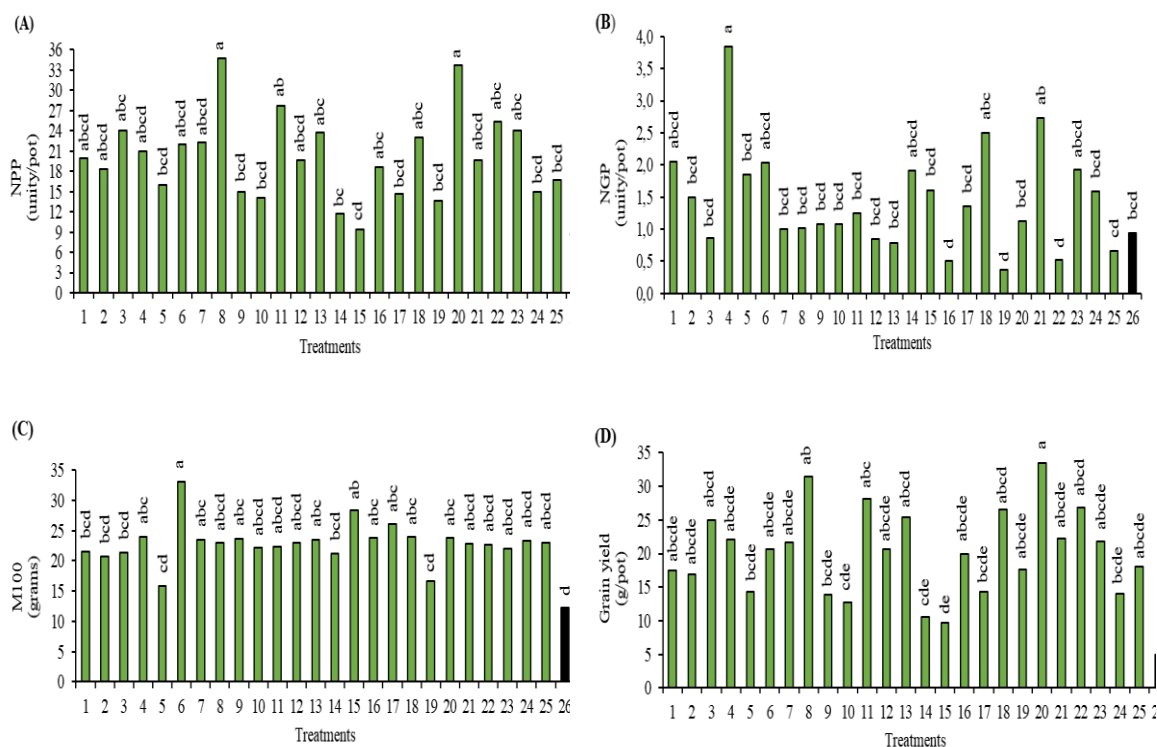


Figure 2 - (A) Number of pods per pot; (B) Number of beans per pod; (C) Mass of 100 grains and (D) Grain yield common bean plants treated with multifunctional microorganisms, alone or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

Macronutrients in shoots and roots

Common bean plants treated with isolates BRM 32112, 1381, BRM 32110, BRM 32114, BRM 32109, BRM 32111, Ab-V5, BRM 32113, T-26 and 1301, in addition to the combinations BRM 32114 + T-26, 1301 + BRM 32114, 1301 + Ab-V5, 1381 + 1301, BRM 32110 + T-26, BRM 32114 + BRM 32110 and 1301 + BRM 32110 presented the highest levels of N in their shoots. The average increase was around 3.70% (Figure 3A). In relation to macronutrient P, common bean plants treated with isolates BRM 32111, BRM 32112,

BRM 32114, 1381, BRM 32110 and Ab-V5 and with the combination BRM 32114 + BRM 32110, showed significantly higher levels compared to control plants (Figure 3B).

The average increase was of the order of 9.23%. As for macronutrient K, common bean plants treated with the BRM 1301 + Ab-V5 combination and the BRM 32113 and 1301 isolates showed significantly higher levels (11.02%) when compared to the control plants (Figure 3C). Regarding the levels of macronutrients in the roots of common bean plants, the levels of N and K were similar between treatments; while the P content was significantly higher in common bean plants treated with the combinations 1381 + 1301, BRM 32114 + T-26 and 1301 + BRM 32110, compared to control plants (Figures 3D, 3E and 3F). The average increase in the P content was around 14.68%.

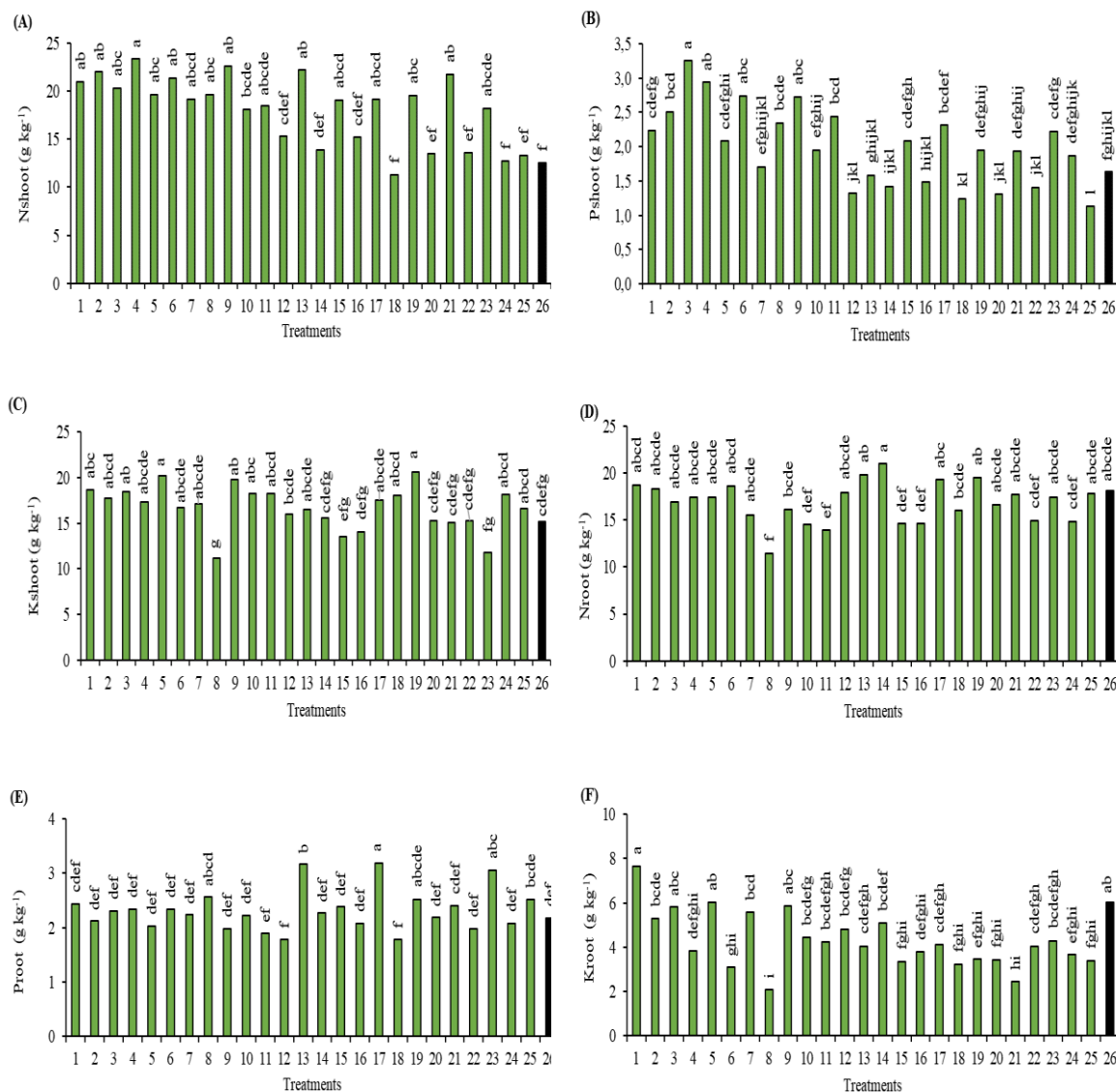


Figure 3 - (A) Nitrogen; (B) Phosphorus and (C) Shoots potassium (D) Nitrogen; (E) Phosphorus and (F) Roots potassium in common bean plants treated with multifunctional microorganisms, isolated or in combination. * Treatments followed by the same letter in columns do not differ from each other by the LSD test. ** Treatments: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301; (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381

+ Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; (26) control (without microorganism).

Principal Component Analysis

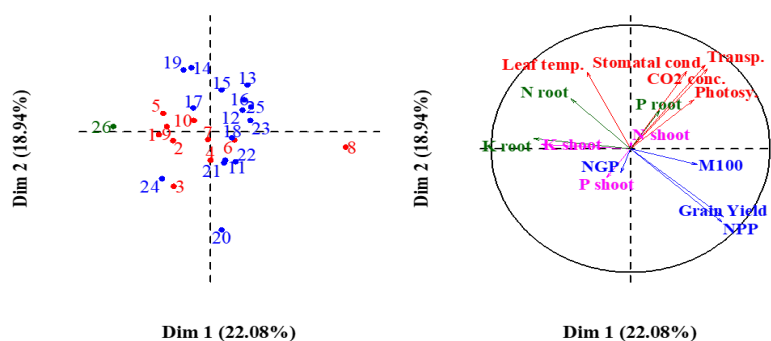
Regarding the analysis of the main components, it was found that the variability of treatments (isolated and combined microorganisms) observed in gas exchange (photosynthesis, transpiratory rate, stomatal conductance, internal CO₂ concentration and leaf temperature), in the yield components (number of pods per pot, number of grains per pot and mass of 100 grains) and in grain yield and nutrient accumulation (N, P and K), both in shoots and in the roots, was better explained by five main components (PCs), representing 68.26% of the data variation, that is, PC1 (22.08%), PC2 (18.94%), PC3 (14.86%), PC4 (8.89%) and PC5 (7.49 %) (Figure 4).

The factor map (biplot) shows groups of variables (arrows) indicating positive and negative correlations with each main component (PC), with the length of the arrow indicating the magnitude of each response for each PC (Figure 4). PC1 was positively correlated with photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, CO₂ concentration, number of pods per pot, mass of 100 grains and grain yield. On the other hand, PC2 was positively correlated with photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, internal CO₂ concentration, leaf temperature and N at the root. While PC3 was positively correlated with the number of pods per pot, N and P in the shoots and P in the roots. PC4 was positively correlated with photosynthesis and K at the roots while PC5 correlated positively with P at the roots.

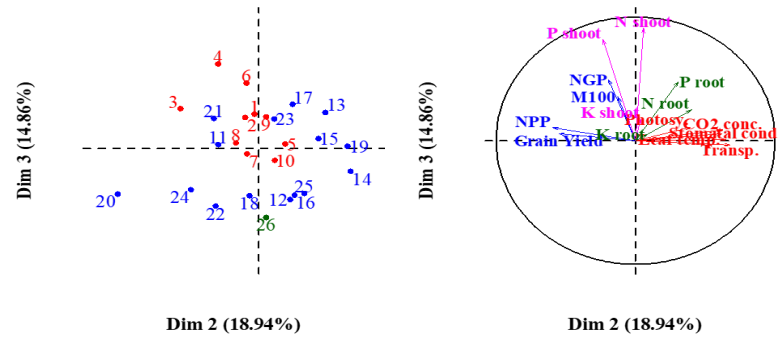
The variables of K in the roots, grain yield, number of pods per pot and K in the shoots (69.6%; 66.3%; 65.7%; 64.2%, respectively) presented the greatest contribution to PC1. For PC2, transpiration, stomatal conductance, internal CO₂ concentration and temperature (67.9%, 64.6%, 62.4%, 62.0%, respectively) provided the greatest contribution. While for PC3, N and P in the shoots (91.0% and 81.7%), for PC4, photosynthesis and K in the roots (40.8% and 40.4%) and for PC5, P in the roots (50.9%) were the variables that provided the greatest contributions.

Based on the representational quality of treatments with isolated microorganisms and in combination for the variables analyzed, treatments 8 (Ab-V5) and 20 (1381 + BRM 32114) showed the greatest positive correlation for the mass of 100 grains and the number of pods per vessel, respectively (Figure 4). The transpiration and stomatal conductance variables were positively correlated with treatments 14 and 19 (BRM 32110 + Ab-V5 and 1301 + Ab-V5). The accumulation of P in the shoots was positively correlated with treatment 4 (BRM 32112) and the accumulation of P in the roots with treatment 6 (BRM 32114). Photosynthesis was positively correlated with treatment 5 (BRM 32113) and the accumulation of P at the roots with treatment 13 (BRM 32114 + T-26).

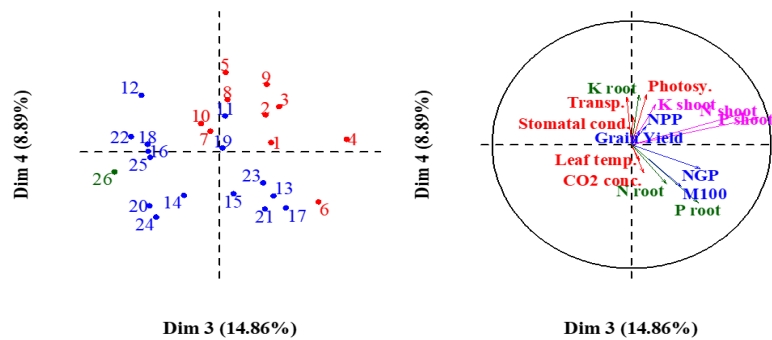
(A) PCA1 X PCA2



(B) PCA2 X PCA3



(C) PCA3 X PCA4



(D) PCA4 X PCA5

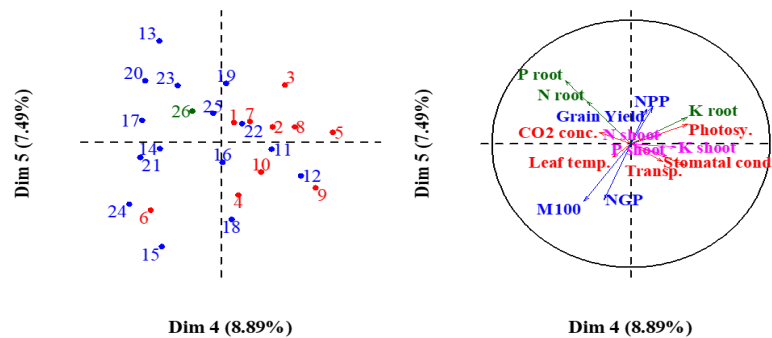


Figure 4 - Principal component analysis (PCA) explaining correlations among variables and among 26 treatments with individual and combined microorganisms. Five main components (PCs) accounted for 68.26% of the data variation. Treatments isolates: (1) BRM 32109; (2) BRM 32110; (3) BRM 32111; (4) BRM 32112; (5) BRM 32113; (6) BRM 32114; (7) T-26; (8) Ab-V5; (9) 1381; (10) 1301, in combination: (11) 32114 + 32110; (12) 32114 + Ab-V5; (13) 32114 + T-26; (14) 32110 + Ab-V5; (15) 32110 + T-26; (16) Ab-V5 + T-26; (17) 1381 + 1301; (18) 1381 + Ab-V5; (19) 1301 + Ab-V5; (20) 1381 + 32114; (21) 1301 + 32114; (22) 1381 + 32110; (23) 1301 + 32110; (24) 1381 + T-26; (25) 1301 + T-26; control (26) without microorganisms.

DISCUSSION

According to [27], a higher transpiratory rate is attributed to a greater stomatal opening, which in turn can be induced by multifunctional microorganisms. On the other hand, greater

stomatal opening decreases stomatal resistance to CO₂ diffusion, favoring its mesophilic conductance and, consequently, the production of photoassimilates [28-29]. Although no difference in A was observed between inoculated and non-inoculated plants, the photosynthetic rate of common bean plants is considered high, with emphasis on plants inoculated with Ab-V5, BRM 32113 and the combinations 1301 + T-26 and 1301 + BRM 32110.

Changes in the intercellular concentration of CO₂ (Ci), found in common bean plants inoculated with the combinations Ab-V5 + T-26, 1301 + Ab-V5, BRM 32110 + Ab-V5 and BRM 32114 + T-26, suggest that there may have been an increase in Rubisco's carboxylation activity by regulating the stomatal opening that favors the fixation of mesophilic CO₂ [30]. These benefits acquired with the use of multifunctional microorganisms can result in greater production of photoassimilates, which can be allocated to heterotrophic organs of common bean plants to sustain growth or be converted into reserve products or have been exuded by the roots and used by the rhizobacteria themselves. In upland rice, [22] found values significantly higher than the control treatment for the variables photosynthesis, transpiration and stomatal conductance, while there was no statistical difference for internal CO₂ concentration and leaf temperature.

These results corroborate those found by [31], who reported that treatment with rhizobacteria significantly increased the number of pods per plant, the number of grains per pod, mass of 100 grains, mass of grains per plant and mass of pods per plant, with the co-inoculation with Rhizobium and rhizobacteria showed a significant increase in common bean yield and yield components.

Multifunctional microorganisms can benefit plants through their ability to solubilize some nutrients in the soil solution and, thus, make them available to the plant to increase the growth rate [32]. As observed in the present study, multifunctional microorganisms induced the accumulation of N, P, K in the aerial part and K in the root, positively influencing the growth of common bean plants. These results may be related, since the transpiration of the plant is fundamental for the absorption of water and mineral nutrients from the soil. The results show that the multifunctional microorganisms Ab-V5, BRM 32114 + Ab-V5 and 1301 + T-26 provided increases in transpiration of common bean plants.

Regarding P, our results corroborate those of [33], where several rhizobacteria tested, alone, provided higher phosphorus content in the shoots of inoculated plants than in uninoculated plants, both under natural phosphate fertilization and without using fertilizer. Therefore, the isolates BRM 32110, BRM 32111, BRM 32112 and BRM 32114, in addition to the combinations, BRM 32114 + BRM 32110, 1301 + BRM 32110 and BRM 32114 + T-26 favored the solubilization of P in the soil solution and, consequently, accumulation of P in the shoots and root of common bean plants. This can be explained due to the ability of these microorganisms to solubilize and mineralize inorganic phosphorus through organic acids, release of H⁺ protons, aid of ATPases and production of chelators.

In addition, these microorganisms can favor the increase in the accumulation of nutrients in plants, promoting root development, which allows greater access and absorption of nutrients and improving the absorption mechanisms [9]. Isolates 1381 and BRM 32113 and the combination 1301 + Ab-V5 provided the highest K accumulation in the shoots. This suggests that the high accumulation of K in common bean plants may have been due to the improvement of the K absorption mechanism or to the greater development of roots by microorganisms.

The study shows that the highlighted microorganisms were the isolated Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*) and BRM 32112 (*Pseudomonas* sp), where there was a positive influence of *Azospirillum brasilense* on stomatal conductance, transpiration, number of pods per pot, grain yield and N and content P in the shoots of common bean plants and *Pseudomonas* sp. in the number of grains per pot, grain yield and N and P content in the shoots of common bean plants. Bacteria of the genus *Azospirillum* sp. are able to promote

plant growth through biosynthesis and release of amino acids, indolacetic acid, cytokinins, gibberellins and other polyamines, favoring root growth and, consequently, intensifying the absorption of water and nutrients by plants. In addition to fixing atmospheric nitrogen (N₂) through the biological nitrogen fixation process [34]. The group of *Pseudomonas* sp. they promote plant growth either directly through phosphorus solubilization and production of siderophores or indirectly, with their ability to control plant diseases [35].

The combinations BRM 32114 + T-26 (*Serratia* sp. + *Trichoderma koningiopsis*), BRM 1301 + BRM 32110 (*Bacillus* sp. + *Bacillus thuringiensis*) and BRM 32114 + BRM 32110 (*Serratia* sp. + *Bacillus thuringiensis*) are also featured in this study. These combinations positively influenced the number of pods per pot, grain yield and N content in the shoots. In addition, the BRM 32114 + T-26 and BRM 1301 + BRM 32110 combinations influenced the P content in the root and the internal CO₂ concentration, while the BRM 32114 + BRM 32110 influenced the P content in the shoots of common bean plants.

The genus *Serratia* sp. associated with plants, promotes plant growth by various mechanisms, such as indolacetic acid production, nitrogen fixation, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase activity, phosphate solubilization, siderophores production and systemic induction host plant resistance [36]. *Bacillus* sp. it can promote plant growth through the production of phosphatase and phosphorus solubilization, and is also frequently used in biological control [35]. *Trichoderma* sp. it is known to be efficient in biological control, but recently it has been identified as a promoter of plant growth through the production of phytohormones such as auxins, cytokinins, abscisic acid, gibberellins, among others [37].

Therefore, it appears that multifunctional microorganisms significantly influenced the development of common bean plants such as gas exchange, yield components and grain yield and accumulation of macronutrients in the shoots and roots, and this resulted in more productive plants.

CONCLUSION

This study describes important aspects of the effects of multifunctional microorganisms on common bean plants, providing a better understanding of the physiological and agronomic changes that occur in inoculated plants. Events such as gas exchange and macronutrient content in the shoots and roots were increased so that the plants could achieve increased yield components and grain yield.

The outstanding bioagents were *Azospirillum brasilense* (Ab-V5); *Pseudomonas* sp. (BRM 32112), in addition to the combinations *Serratia* sp. + *Trichoderma koningiopsis* (BRM 32114 + T-26), *Bacillus* sp. + *Bacillus thuringiensis* (1301 + BRM 32110) and *Serratia* sp. + *Bacillus thuringiensis* (BRM 32114 + BRM 32110).

Funding: This research was funded by Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq), grant number 406507/2018-0.

Acknowledgments: The authors are grateful for Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) for the infrastructure for performing this research, Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for support this research and for the research productivity scholarship for the second and sixth authors, and to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for providing the master's scholarship to the first author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Carbonell SAM, Chiorato AF, Bezerra LMC, Gonçalves JGR, Esteves JAF, et al. IAC 1850: High yielding carioca common bean cultivar. *Crop Breed Appl Biotechnol*. 2019 Jul;19(3):378-381.
2. Ganascini D, Laureth JCU, Mendes IS, Tokura LK. Analysis of the production chain of bean culture in Brazil. *J Agric Sci*. 2019 May;11(7):256-267.

3. Li H, Li J, Shen Y, Wang J, Zhou D. Legume consumption and all-cause and cardiovascular disease mortality. *BioMed Res Int*. 2017 Nov 2; 2017(1):1-14.
4. Da Costa JGC, Melo LC, Pereira HS, Del Peloso MJ, De Faria LC, Díaz LC, et al. BRS Esplendor common bean cultivar with black grain, upright growth and disease resistance. *Crop Breed Appl Biotechnol*. 2011 Sep;11(30):276-279.
5. Ribeiro MR, Cardoso EJBN. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). *Microbiol Res*. 2012 May 18;167(2):69-78.
6. Braga RM, Dourado MN, Araújo WL. Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. *Braz J Microbiol*. 2016 Dec;47(1):86-98.
7. Oliveira ALM, Costa KR, Ferreira DC, Milani KML, Santos OJAP, Silva MB, et al. Biodiversity of soil bacteria and its applications for a sustainable agriculture. *Biochem Biotechnol Rep*. 2014;3(1):56-77.
8. Oliveira GRF, Silva MS, Marciano TYF, Proença SL, Sá ME. Initial bean growth as a function of seed vigor and inoculation with *Bacillus subtilis*. *Braz J of Biosys Eng*. 2016;10(4):439-448.
9. Ahemad MS, Kibret M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J King Saud Uni*. 2014 Jan;26(1):1-20.
10. Damam M, Kaloori K, Gaddam B, Kausar R. **Plant growth promoting substances (phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants**. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2016 Jan;37(1):130-136.
11. Sureshbabu K, Amaresan N, Kumar K. **Amazing multiple function properties of plant growth promoting rhizobacteria in the rhizosphere soil**. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2016;5(2):661-683.
12. Paiter A, Freitas G. IAA production and phosphate solubilization performed by native rhizobacteria in western Paraná. *Agro Sci Biotechnol*. 2019 Dec;5(2):70-76.
13. Aquino GS, Ventura MU, Alexandrino RP, Michelon TA, Pescador PGA, Nicio TT, et al. Plant-promoting rhizobacteria *Methylobacterium komagatae* increases crambe yields, root system and plant height. *Ind Crop Prod*. 2018 Oct;121(1):277-281.
14. Singh M, Singh D, Gupta A, Pandey KD. Plant growth promoting rhizobacteria: application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. *Food Sec Environ Manag*. 2019 July;2019(1):41-66.
15. Ekin, Z. Integrated use of humic acid and plant growth promoting rhizobacteria to ensure higher potato productivity in sustainable agriculture. *Sustainability*. 2019 Jun;11(12):1-14.
16. Druzhinina IS, Seiboth VS, Estrella AH, Horwitz BA, Kenerley CM, Monte E, et al. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nat Rev Microbiol*. 2011 Sep 16;9(1):749-759.
17. Montesinos SB, Diáñez F, Gavira AM, Gea GJ, Santos M. Plant growth promotion and biocontrol of *Pythium ultimum* by saline tolerant *Trichoderma* isolates under salinity stress. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Jun 10;16(11):2053-2063.
18. Korir H, Mungai NW, Thuita M, Hamba Y, Masso C. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Front Plant Sci*. 2017 Feb 7;8(1):1-10.
19. Hungria M, Nogueira MA, Araújo RS. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biol Fertil Soils*. 2013 Jan 12;49(1):791-801.
20. Santos HG, Jacomine PKT, Dos Anjos LHC, De Oliveira VA, De Oliveira JB, Coelho MR, et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Embrapa Solos [Internet]. 2013;353(1): [about 286 p.] 2013. Available from: <https://www.agrolink.com.br/downloads/sistema-brasileiro-de-classificacao-dos-solos2006.pdf>
21. Donagema GK, Campos DVB, Calderano SB, Teixeira WG, Viana JHM. Manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro, RJ: In: Manual de métodos de análise de solos, Embrapa Solos; 2011.

22. Nascente AS, Filippi MCC, Lanna AC, Souza ACA, Lobo VLC, Silva GB. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. *Environ Sci Pollut Res*. 2017 Jan; 24(3):2956-2964.
23. Kado CJ, Heskett MG. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*. 1970 Jan 18;60(1):969-976.
24. Filippi MCC, Da Silva GB, Lobo VLS, Côrtes MCVB, Moraes AJG, Prabhu AS. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biol Control*. 2011 Aug;58(2):160-166.
25. Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafos; 1997.
26. Kassambara A. Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Package Version 1.0.3, 2015. Available from: <http://www.sthda.com>
27. Fan X, Hu H, Huang G, Huang F, Li Y, Palta J. Soil inoculation with *Burkholderia* sp. LD-11 has positive effect on water-use efficiency in inbred lines of maize. *Plant Soil*. 2015 Feb 12;390(1):337–349.
28. Flexas J, Barbour MM, Brendel O, Cabrera HM, Carriquí M, Espejo AD, et al. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci*. 2012 Sep;103(194):70-84.
29. Silva PA, Cosme VS, Rodrigues KCB, Detmann KSC, Leão FM, Cunha RL, et al. Drought tolerance in two oil palm hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. *Acta Physiol Plant*. 2017;39(58):1-12.
30. Shi Y, Lou K, Li C. Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by endophytic bacteria. *Photosynth Res*. 2010 Apr 20;105(1):5-13.
31. Yadegari M, Rahmani HA, Noormohammadi G, Ayneband A. Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting rhizobacteria on yield and yield components. *Pak J Biol Sci*. 2008;11(15):1935-1939.
32. Chaudhary SR, Sindhu SS. Growth stimulation of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba*) by coinoculation with rhizosphere bacteria and *Rhizobium*. *Legum Res*. 2016 Dec;39(6):1003-1012.
33. Braga Júnior GM, Colonia BSO, Chagas LFB, Scheidt GN, Miller LO, Chagas Júnior AF. Soybean growth promotion and phosphate solubilization by bacillus subtilis 467 strains in greenhouse. *Int J Curr Res*. 2017 May 31; 9(5):50914-50918.
34. Zeffa DM, Perini LJ, Silva MB, de Sousa NV, Scapim CA, De Oliveira ALM, et al. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PLoS ONE*. 2019 Apr 18;14(1):1-12.
35. Widnyana K, Javandira C. Activities *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* sp. to stimulate germination and seedling growth of tomato plants. *Agric Agric Sci Procedia*. 2016;9(1):419-423.
36. Martínez AO, Encina C, Tomckowiack C, Droppelmann F, Jara R, Maldonado C, et al. *Serratia* strains isolated from the rhizosphere of raulí (*Nothofagus alpina*) in volcanic soils harbour PGPR mechanisms and promote raulí plantlet growth. *J Soil Sci Plant Nutr*. 2018;18(3):804-819.
37. Guzmán PG, Troncoso MDP, Monfil VO, Estrella AH. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. *Phytopathology*. 2019 Dec 4;109(1):6-16.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de ambos experimentos permitem inferir que o uso de alguns dos microrganismos promotores de crescimento testados (isolados ou em combinação) proporcionou o desenvolvimento das plantas, seus efeitos ocorreram nas trocas gasosas, produção de biomassa, acúmulo de nutrientes (NPK) e componentes de rendimento e rendimento de grãos do feijão-comum. Além disso, os resultados apresentam algumas inovações em relação a alguns microrganismos, porém são necessários estudos complementares em condições de campo e desenvolvimento de formulações que permitam o uso desses microrganismos em escala industrial.

O gênero *Bacillus* sp. é um dos mais conhecidos no controle de pragas, mas pouco estudado como promotor de crescimento, porém os resultados de ambos os experimentos mostram o gênero como um dos destaques nos resultados proporcionando incrementos nas trocas gasosas, produção de biomassa, acúmulo de nutrientes e componentes de rendimento e rendimentos de grãos tanto isolado quanto em combinações. A espécie *Trichoderma koningiopsis*, é importante para controle de nematoides, mas não é relacionada como um promotor de crescimento. Porém, os resultados deste trabalho mostram que a espécie isolada ou em combinações apresenta efeitos satisfatórios para a promoção de crescimento em plantas de feijão-comum, sendo necessário mais pesquisas voltadas para a espécie.

Os resultados apresentam também microrganismos que proporcionaram efeitos benéficos em ambos os experimentos como as combinações BRM 3114 + BRM 32110 e BRM 32110 + T-26 para os componentes de rendimento e rendimento de grãos; e os isolados BRM 32110, BRM 32111, BRM 32112, BRM 32113, BRM 32114, Ab-V5, 1301 e 1381, e as combinações BRM 32114+BRM 32110, 1381+1301, 1301+BRM 32110, 1381+T-26 e BRM 32114+T-26 para o acúmulo de macronutrientes (N, P, K).

Esta tecnologia pode ajudar especialmente os pequenos agricultores a aumentar a produção de feijão-comum usando microrganismos multifuncionais, reduzindo o custo de produção e reduzindo os efeitos negativos no meio ambiente. Os resultados contraditórios podem ser explicados pelas diferenças nas condições climáticas e ambientais de um

experimento para outro, já que foram conduzidos em épocas (1º experimento: jun/set; 2º experimento: nov/fev) e locais (casa de vegetação) diferentes, pela eficiência ou ineficiência da colonização radicular e a incapacidade de locomoção dos microrganismos do local de inoculação até a rizosfera. Além disso, o uso de diferentes cultivares levanta uma suspeita de que os microrganismos atuam de forma diferenciada em diferentes cultivares da mesma espécie.

6. REFERÊNCIAS

- ADESEMOYE, A. O.; KLOEPPER, J. W. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.85, n.1, p.1-12, 2009.
- AHEMAD, M.; KRIBET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University**, v. 26, n.1, p. 1-20, 2014.
- CANELLAS, L. P.; SILVA, S. F.; OLK, S. C.; OLIVARES, F. L. Foliar application of plant growth-promoting bacteria and humic acid increase maize yields. **Journal of Food Agriculture Environment**, v. 13, n.11, p.131-138, 2015.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos**: Monitoramento agrícola, safra 2018/2019.: Brasília, v. 6, n.4, 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/monitoramento-agricola>>. Acesso em: 03 jan. 2021.
- KOUR, D.; RANA, K. L.; YADAV, N.; YADAV, A. N. Agriculturally and Industrially Important Fungi: Current Developments and Potential Biotechnological Applications. **Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi**, v. 2, p. 1-64, 2019.
- LOPES, R.; TSUI, S.; GONÇALVES, P. J. R. O.; QUEIROZ, M. A look into a multifunctional toolbox: endophytic *Bacillus* species provide broad and underexploited benefits for plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 7, 2020.
- MARQUES, A. P. G. C.; PIRES, C.; MOREIRA, H.; RANGEL, A. O. S. S.; CASTRO, P. M. L. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 1229-1235, 2010.
- MORAES, R. F. **Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada.: Brasília, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/9371/1/td_2506.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2021.
- PIERANGELI, G. M. F.; CIPRIANO, M. A. P.; LABANCA, E. G.; XAVIER, M. A.; SILVEIRA, A. P. D. **Utilização de microrganismos benéficos na produção de mudas de cana-de-açúcar pelo sistema MPB**. In: 69ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2017, Minas Gerais. Anais...Minas Gerais: SBPC, 2017.
- RAI, P. K; SINGH, M.; ANAND, K.; SAURABH, S.; KAUR, T.; KOUR, D.; YADAY, A. N.; KUMAR, M. Role and potential applications of plant growth-promoting

rhizobacteria for sustainable agriculture. **Trends of Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture and Biomedicine Systems: Diversity and Functional Perspectives**, p. 49-60, 2020.

RASTEGARI, A. A.; YADAV, A. N.; YADAV, N. **Trends of microbial biotechnology for sustainable agriculture and biomedicine systems: perspectives for human health**. Amsterdam: Elsevier, 2020.

RATZ, R. J.; PALÁCIO, S. M.; QUINÔNES, F. R. E.; VICENTINO, R. C.; MICHELIM, H. J.; RICHTER, L. M. Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**, v. 19, n. 4, p. 890-899, 2017.

REIS, M. R.; LEÃO, E. U.; SANTOS, G. R.; SARMENTO-BRUM, R. B. C.; GONÇALVES, C. G.; CARDON, C. H.; SILVA, D. B. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma* spp. **Planta Daninha**, v. 31, n. 2, p. 419-426, 2013.

RODRIGUES, R. **O Brasil na produção global de alimentos**: Canal Rural, São Paulo: 2020. Disponível em: <<https://blogs.canalrural.com.br/embrapasoja/2020/09/21/o-brasil-na-producao-global-de-alimentos/#:~:text=Segundo%20R.,nacional%20entre%206%20a%208%20%25>>. Acesso em: 27 jan. 2021.

SALVADOR, C. A. **Análise da Conjuntura Agropecuária**. SEAB - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural, 2017.

SENAR. SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL. Santa Catarina: 2019. <<http://www2.senar.com.br/Noticias/Detalhe/11591>. 25/01/2021>. Acesso em: 24 jan. 2021.

SINGH, J.; YADAV, A. N. **Natural bioactive products in sustainable agriculture**. Singapore: Springer, Singapore, 2020.

WORLD POPULATION CLOCK. **7.7 Billion People**: Worldometer, 2019. Disponível em: <<http://www.worldometers.info/world-population/>>. Acesso em: 21 jan. 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Crescimento das rizobactérias

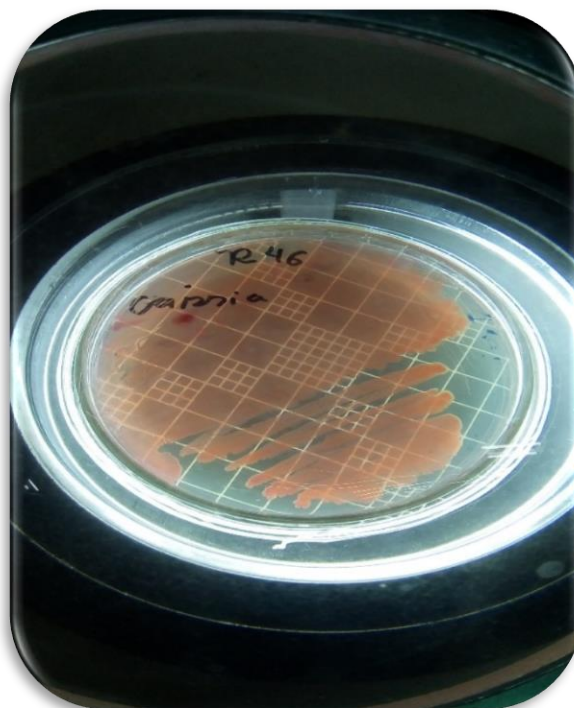


Figura 1. Rizobactéria R46 (BRM 32113 – *Burkholderia pyrroynia*) crescida em meio sólido 523.

APÊNDICE B – Crescimento das rizobactérias



Figura 2. Caldo nutriente para o crescimento das rizobactérias.

APÊNDICE C – Suspensão de rizobactérias



Figura 3. Suspensões de rizobactérias crescidas em caldo nutriente por 48 horas.

APÊNDICE D – Comparação entre plantas microbiolizadas com rizobactérias e sem microbiolização



Figura 4. Planta microbiolizada com o isolado Ab-V5 (*Azospirillum brasilense*) X controle.

**APÊNDICE D – Comparação entre plantas microbiolizadas com
rizobactérias e sem microbiolização**



Figura 5. Planta microbiolizada com o isolado BRM 32110 + T-26 (*Bacillus thuringiensis* + *Trichoderma koningiopsis*) X controle.

APÊNDICE D – Comparação entre plantas microbiolizadas com rizobactérias e sem microbiolização



Figura 6. Planta microbiolizada com o isolado BRM 32114 + Ab-V5 (*Serratia sp.* + *Azospirillum brasilense*) X controle.

APÊNDICE D – Comparação entre plantas microbiolizadas com rizobactérias e sem microbiolização



Figura 7. Planta microbiolizada com a combinação 1381 + Ab-V5 (*Azospirillum* sp. + *Azospirillum brasilense*) X controle.

APÊNDICE D – Comparação entre plantas microbiolizadas com rizobactérias e sem microbiolização



Figura 8. Planta microbiolizada com a combinação Ab-V5 + T-26 (*Azospirillum brasilense* + *Trichoderma koningiopsis*) X controle.

APÊNDICE E – Crescimento dos isolados de *Trichoderma koningiopsis*

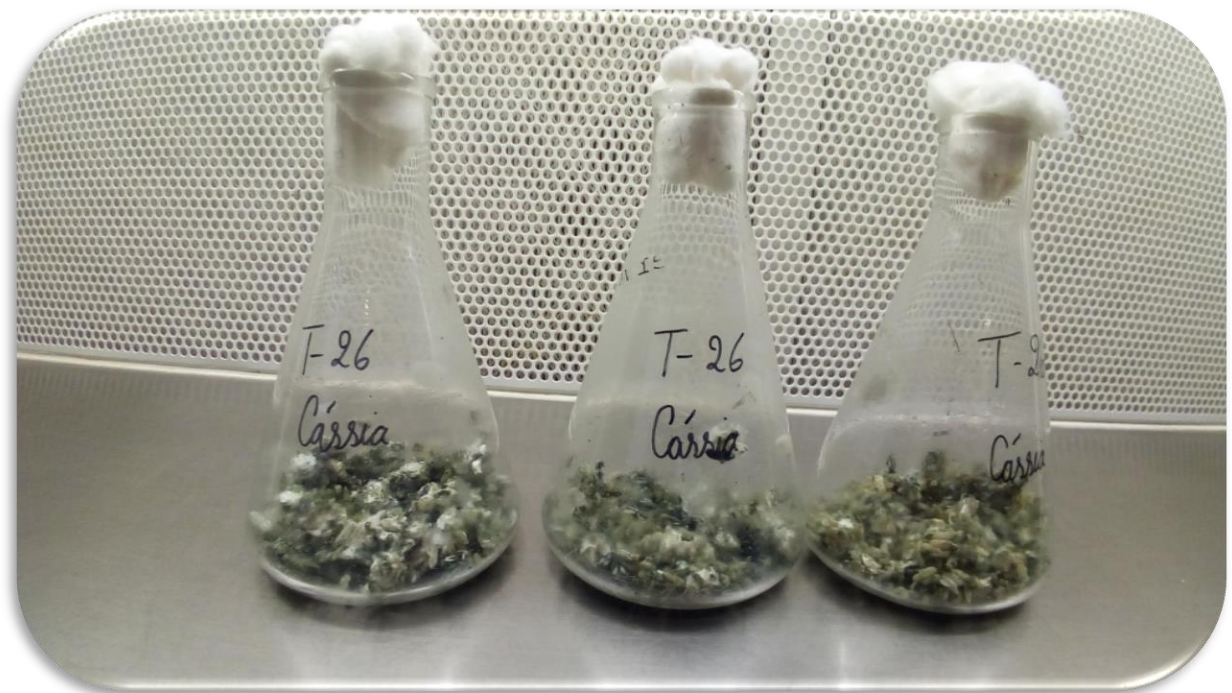


Figura 9. *Trichoderma koningiopsis* crescido por 48 horas no arroz autoclavado.

APÊNDICE F – Microbiolização das sementes de feijão-comum



Figura 10. Microbiolização das sementes de feijão-comum com rizobactérias e fungo do solo.

APÊNDICE G – Comparação entre planta microbiolizada com pool de *Trichoderma asperellum* e sem microbiolização



Figura 11. Planta microbiolizada com com *Trichoderma koningiopsis* X controle.

APÊNDICE H – Aplicação das suspensões de microrganismos

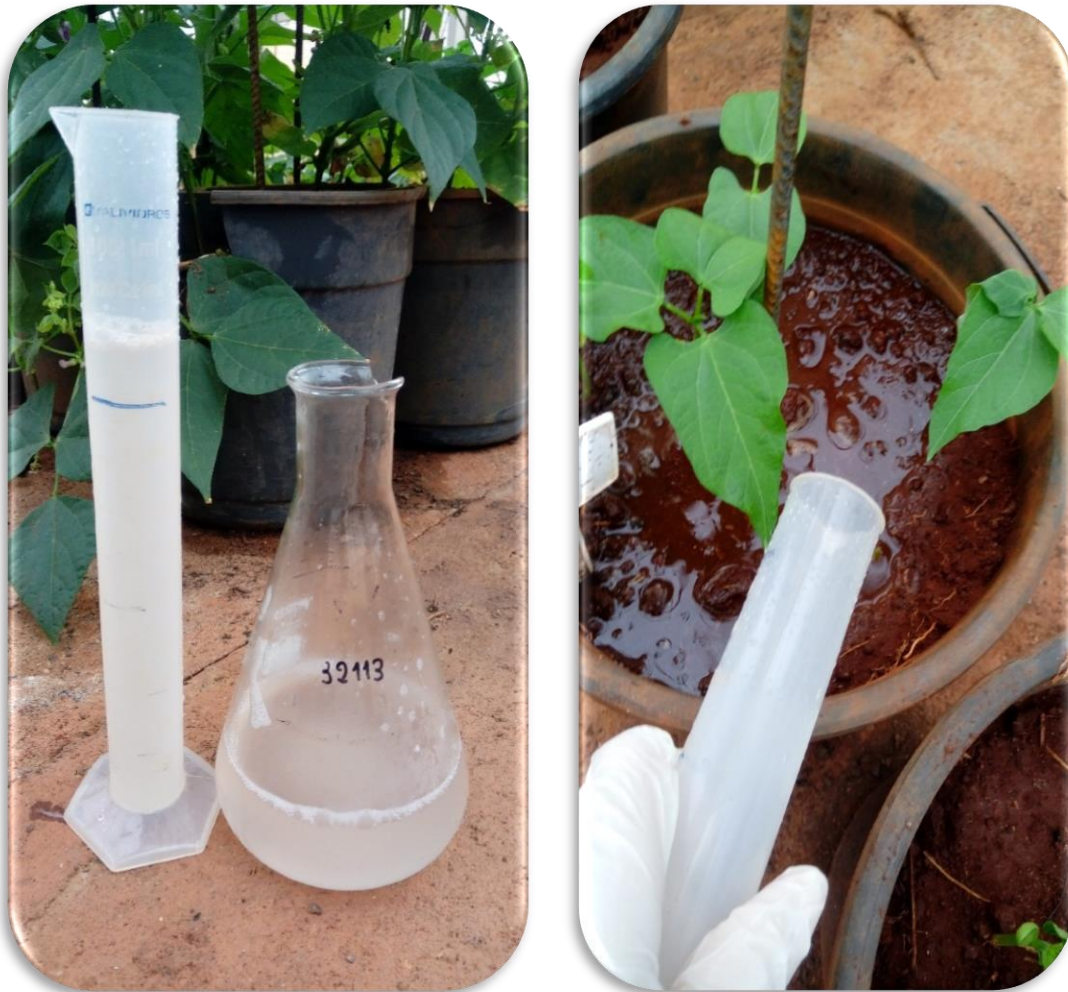


Figura 12. Aplicação da suspensão de microrganismos no solo 7 dias após a semeadura.

APÊNDICE H – Aplicação das suspensões de microrganismos



Figura 13. Pulverização das plantas com suspensão de microrganismos aos 21 dias após a semeadura.