

ESTRUTURA E FUNCIONALIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA
ASSOCIADA AO SISTEMA SOLO-PLANTA DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.).

JULIANA DIAS CARDOSO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO - 2026

ESTRUTURA E FUNCIONALIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA
ASSOCIADA AO SISTEMA SOLO-PLANTA DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.).

JULIANA DIAS CARDOSO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

Orientador: Fabio Lopes Olivares

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO - 2026

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF – Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

C268

Cardoso, Juliana Dias.

Estrutura e funcionalidade da comunidade bacteriana associada ao sistema solo-planta de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) / Juliana Dias Cardoso. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2026.

89 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2026.

Orientador: Fabio Lopes Olivares.

1. Feijão-comum. 2. Microbioma radicular. 3. Bioinsumos. 4. Fixação de nitrogênio. 5. Crescimento vegetal. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

ESTRUTURA DA COMUNIDADE BACTERIANA ASSOCIADA AO SISTEMA SOLO-
PLANTA DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.).

JULIANA DIAS CARDOSO

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual
do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em
Produção Vegetal”.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2026

Comissão Examinadora:

Julia Rosa Moreira (Ph.D., Biotecnologia Vegetal) - UENF

Prof. Leandro Simões Azeredo Gonçalves (Ph.D., Genética e Melhoramento de
Plantas) - UEL

Prof. Fabio Lopes Olivares (Ph.D., Agronomia - Ciência do Solo) – UENF

Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada disso seria possível. Toda a minha força e dedicação não existiriam sem a minha fé;

Em segundo lugar, agradeço à minha família — minha mãe, meu pai, minha irmã e meu noivo — que foram peças fundamentais para que eu continuasse acreditando que era capaz. Sem eles, nem metade do que realizei teria sido possível. Agradeço por cada hora dedicada a me ajudar, apoiar e por toda a paciência nos momentos mais difíceis;

Ao meu orientador Fabio, agradeço por acreditar no meu potencial, mesmo diante das muitas dificuldades encontradas ao longo do caminho. Sou grata por não ter desistido de mim e por toda a orientação que possibilitou o desenvolvimento desta pesquisa;

Aos meus colegas de laboratório, agradeço pela disposição em ajudar, pelo apoio constante e, principalmente, pela troca de experiências tão enriquecedoras;

Também agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e aos professores, pelas contribuições acadêmicas e pela formação de excelência proporcionada;

À UENF e aos órgãos de fomento, agradeço o suporte institucional e financeiro, fundamentais para a realização deste trabalho;

Por fim, agradeço a todos os familiares e amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desta dissertação.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 4 |
| 2.1. Objetivo geral..... | 4 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA..... | 4 |
| 3.1. Importância socioeconômica do feijoeiro..... | 4 |
| 3.2. Aspectos botânicos de <i>Phaseolus vulgaris</i> | 5 |
| 3.2.1. Estrutura da semente: tegumento, embrião e reservas..... | 6 |
| 3.2.2. Germinação epígea e morfogênese inicial..... | 6 |
| 3.2.3. Sistema radicular: arquitetura, zonas estruturais e emissão de raízes laterais..... | 7 |
| 3.2.4. Nodulação: estrutura morfológica especializada da raiz..... | 7 |
| 3.3. Variações anatômicas e fisiológicas nas raízes do feijoeiro..... | 8 |
| 3.3.1. Estrutura geral das raízes..... | 8 |
| 3.3.2. Mecanismos de liberação de compostos orgânicos..... | 10 |
| 3.4. Microbioma rizosférico do feijoeiro..... | 10 |
| 3.4.1. Diversidade bacteriana na rizosfera do feijoeiro..... | 12 |
| 3.4.2. Influência do feijoeiro sobre o microbioma do solo..... | 12 |
| 3.5. Bacterioma em diferentes regiões das raízes: coifa-zona de alongamento versus zona de formação de pelos radiculares..... | 13 |
| 3.5.1. Conceitos de compartimentalização radicular..... | 13 |
| 3.5.2. Compartimentalização da rizosfera e importância funcional..... | 14 |
| 3.5.3. Bacterioma na coifa e zona de alongamento..... | 14 |
| 3.5.4. Bacterioma na zona de formação de pelos radiculares..... | 15 |
| 3.6. Aplicações biotecnológicas: desenvolvimento de bioinoculantes..... | 15 |
| 3.6.1. Conceito e tipos de bioinoculantes..... | 15 |
| 3.6.2. Bioinoculantes e inovação..... | 16 |
| 3.6.3. Desafios na aplicação de bioinoculantes..... | 17 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 17 |
| 4.1. Coleta da diversidade de microrganismos do microbioma rizosférico..... | 17 |
| 4.2. Contagem e isolamento das bactérias..... | 19 |
| 4.3. Teste de fixação de nitrogênio nas bactérias..... | 19 |
| 4.4. Atividade bacteriana pelo método FDA..... | 20 |
| 4.5. Análise do microbioma baseada no gene 16S rRNA..... | 20 |
| 4.6. Perfil metabólico pelo método de ecoplacas..... | 21 |
| 4.7. Preparação dos inóculos para aplicação no feijão..... | 21 |
| 4.8. Preparação da cepa do <i>Rhizobium</i> para aplicação no feijão..... | 22 |
| 4.9. Teste dos isolados bacterianos..... | 23 |
| 4.10. Dados biométricos..... | 24 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 24 |
| 5.1. Diversidade e estrutura funcional da comunidade microbiana..... | 24 |
| 5.1.1. Análises da comunidade bacteriana por sequenciamento do gene 16S rRNA..... | 24 |
| 5.1.2. Diversidade alfa e beta da comunidade bacteriana..... | 25 |
| 5.1.3. Abundância relativa..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 5.1.4. Microbioma core e táxons associados aos compartimentos..... | 31 |
| 5.1.5. Abundância relativa de gêneros exclusivos por compartimento..... | 36 |
| 5.1.6. Estrutura multivariada da comunidade bacteriana..... | 39 |
| 5.1.7. Inferência funcional do microbioma bacteriano..... | 41 |
| 5.2. Caracterização da comunidade microbiana associada ao feijoeiro..... | 43 |
| 5.2.1 Atividade metabólica e diversidade funcional..... | 43 |
| 5.2.2. Dinâmica temporal do consumo das classes de carbono..... | 46 |
| 5.2.3. Perfil de utilização dos substratos aos 120 h..... | 49 |
| 5.3. Atividade enzimática microbiana estimada pelo método FDA..... | 51 |
| 5.4. Abundância microbiana cultivável..... | 53 |
| 5.4.1. Contagem de bactérias cultiváveis..... | 53 |
| 5.4.2. Isolamento bacteriano e obtenção de culturas puras..... | 56 |
| 5.5. Microrganismos diazotróficos e potencial de fixação biológica de nitrogênio..... | 56 |
| 5.5.1 Quantificação (NMP) em JNFB..... | 56 |
| 5.5.2 Quantificação (NMP) em LGI..... | 58 |
| 5.5.3 Comparação JNFb × LGI..... | 59 |
| 5.6. Caracterização do <i>Rhizobium</i> e condições experimentais..... | 60 |
| 5.7. Parâmetros agronômicos..... | 61 |
| 5.7.1. Crescimento vegetativo de plantas de feijão sob tratamentos bacterianos..... | 61 |
| 5.7.2. Produção de biomassa fresca e seca de plantas de feijão..... | 63 |
| 5.7.3. Nodulação em plantas de feijão submetidas aos tratamentos bacterianos..... | 64 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 67 |
| 7. REFERÊNCIAS..... | 68 |

RESUMO

CARDOSO, JULIANA DIAS; M. Sc.; State University of Northern Fluminense Darcy Ribeiro; February 2026; Structure of the bacterial community associated with the soil-plant system of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.); Advisor: Ph.D., Fabio Lopes Olivares.

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) constitui importante fonte de proteína vegetal, com elevada relevância socioeconômica e cultural no Brasil. O sistema radicular dessa cultura abriga um microbioma complexo, estruturado em diferentes nichos ecológicos, ainda pouco explorados quanto à sua composição e funcionalidade. Este trabalho teve como objetivo caracterizar o microbioma associado a cinco regiões do sistema radicular do feijoeiro (duas regiões da raiz, duas rizosferas e solo não rizosférico), avaliando sua estrutura, atividade metabólica e potencial funcional. Adicionalmente, foram selecionados 15 isolados bacterianos para aplicação em comunidades sintéticas e coinoculação com *Rhizobium*, visando à promoção do crescimento vegetal e à fixação biológica de nitrogênio. Foram realizadas coletas do microbioma rizosférico, isolamento bacteriano, testes de fixação de nitrogênio, avaliação da atividade microbiana, análise do gene 16S rRNA, perfil metabólico e ensaios de inoculação, além da mensuração de parâmetros biométricos das plantas. A microbiota cultivável apresentou maior abundância na região 1, seguida pelas rizosferas, evidenciando o efeito dos exsudatos radiculares na colonização bacteriana, enquanto a região 2 destacou-se como nicho estratégico para microrganismos diazotróficos. As análises metabólicas indicaram hotspots de atividade nas regiões 1, 2 e rizosfera 1, com diferenças funcionais entre os compartimentos. A análise do gene 16S rRNA evidenciou compartimentalização ao longo do gradiente solo-rizosfera-raiz, com redução da diversidade alfa nos tecidos vegetais e enriquecimento de gêneros associados à promoção do crescimento vegetal, como *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* e *Pseudomonas*. A presença de um microbioma core conservado, associado a uma comunidade nicho-exclusiva variável, evidencia a plasticidade do microbioma do feijoeiro. Os isolados bacterianos influenciaram o crescimento do feijoeiro, com maior efeito no sistema radicular. T1, T2 e T10 destacaram-se no aumento do desenvolvimento radicular e da biomassa. Não houve efeito significativo na parte aérea nem na nodulação, embora T14 e T10 tenham indicado potencial em associação com *Rhizobium*. Entretanto, desafios relacionados às condições de campo e à complexidade das interações microbianas ainda persistem. Assim, estudos futuros envolvendo coinoculações, análises funcionais e comunidades sintéticas são essenciais para o desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes e sustentáveis para a cultura do feijão.

Palavras-chave: feijão-comum; microbioma radicular; bioinsumos; fixação de nitrogênio; crescimento vegetal.

ABSTRACT

CARDOSO, JULIANA DIAS; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February 2026; Structure of the bacterial community associated with the soil-plant system of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.); Adviser: Ph.D., Fabio Lopes Olivares.

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important source of plant protein, with high socioeconomic and cultural relevance in Brazil. The root system of this crop harbors a complex microbiome, structured in different ecological niches, which are still poorly explored in terms of their composition and functionality. This work aimed to characterize the microbiome associated with five regions of the common bean root system (two root regions, two rhizospheres, and non-rhizospheric soil), evaluating its structure, metabolic activity, and functional potential. Additionally, 15 bacterial isolates were selected for application in synthetic communities and co-inoculation with Rhizospheric microbiome sampling, bacterial isolation, nitrogen fixation tests, microbial activity evaluation, 16S rRNA gene analysis, metabolic profile, and inoculation assays were performed, in addition to measuring plant biometric parameters. Cultivable microbiota showed higher abundance in region 1, followed by the rhizospheres, highlighting the effect of root exudates on bacterial colonization, while region 2 stood out as a strategic niche for diazotrophic microorganisms. Metabolic analyses indicated activity hotspots in regions 1, 2, and rhizosphere 1, with functional differences between compartments. Analysis of the 16S rRNA gene showed compartmentalization along the soil-rhizosphere-root gradient, with a reduction in alpha diversity in plant tissues and enrichment of genera associated with plant growth promotion, such as *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* and *Pseudomonas*. The presence of a conserved core microbiome, associated with a variable niche-dependent community, highlights the plasticity of the common bean microbiome. Bacterial isolates influenced bean plant growth, with a greater effect on the root system. T1, T2, and T10 stood out in increasing root development and biomass. There was no significant effect on the shoot or nodulation, although T14 and T10 showed potential in association with *Rhizobium*. However, challenges related to field conditions and the complexity of microbial interactions persist. Thus, future studies involving co-inoculations, functional analyses, and synthetic communities are essential for the development of more efficient and sustainable bio-inputs for bean cultivation.

Keywords: common bean; root microbiome; bio-inputs; nitrogen fixation; plant growth.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, que produz vagens contendo sementes comestíveis amplamente cultivadas e consumidas em diversas regiões do mundo. No Brasil, destaca-se como uma das principais culturas alimentares, apresentando elevada relevância na dieta da população. De acordo Wander e Silva (2025), o consumo nacional de feijão é composto majoritariamente pelos tipos comerciais carioca (56%), preto (21%) e especiais (3%). Além de sua importância cultural e econômica, o feijão constitui uma fonte relevante de proteínas, carboidratos, fibras e micronutrientes essenciais, como ferro e zinco. Entre os diferentes tipos comerciais, o feijão-preto apresenta elevada importância social e cultural, sendo tradicionalmente associado a preparações típicas da alimentação brasileira.

Do ponto de vista econômico, o feijão-preto destaca-se entre as variedades de *P. vulgaris* por sua elevada aceitação no mercado interno, consumo regular ao longo do ano e boa adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras. Além disso, é amplamente utilizado em programas de segurança alimentar, como as cestas básicas, uma vez que fornece cerca de 20% das necessidades nutricionais de um adulto, apresentando menor custo de proteína em comparação à de origem animal (Ferreira, 2013). Dessa forma, essa cultura possui grande relevância tanto para a agricultura familiar quanto para sistemas produtivos de maior escala, contribuindo significativamente para a renda de produtores e para a economia agrícola nacional.

As raízes do feijoeiro, além de promoverem a fixação da planta ao solo, desempenham funções essenciais na absorção de água e nutrientes, muitos dos quais se tornam disponíveis por meio da atividade de microrganismos estimulados pelos exsudatos radiculares. Ao redor das raízes, forma-se a rizosfera, uma região do solo diretamente influenciada pela atividade radicular, onde microrganismos recrutados interagem intensamente com a planta, contribuindo para a absorção de nutrientes, proteção contra patógenos e tolerância a estresses abióticos (Zhou; Wei et al., 2022). Nesse ambiente dinâmico, destacam-se interações simbióticas, como a associação com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium*, responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), processo no qual o nitrogênio atmosférico

é convertido em formas assimiláveis pelas plantas, reduzindo a dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos (Checcucci; Marchetti, 2020).

A rizosfera abriga uma comunidade microbiana altamente diversa e complexa, cuja composição e dinâmica ainda apresentam lacunas de conhecimento no feijoeiro. A interação entre diferentes grupos microbianos pode influenciar diretamente a eficiência da FBN e a absorção de nutrientes, em função da competição por nichos ecológicos e recursos. Assim, a caracterização do microbioma associado à rizosfera e à raiz é fundamental para compreender a diversidade microbiana e suas funções ecológicas (Checcucci; Marchetti, 2020; Zhou; Wei et al., 2022).

Apesar de sua importância, a cultura do feijão enfrenta desafios relacionados à produtividade, à dependência de fertilizantes minerais e à sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Nesse contexto, o uso de insumos biológicos tem se destacado como uma estratégia promissora para promover o crescimento vegetal e reduzir impactos ambientais. Entre esses, as bactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPB) atuam por diferentes mecanismos, como a fixação biológica de nitrogênio, a solubilização de nutrientes, a produção de fitormônios, a melhoria da absorção de água e a indução de resistência a estresses bióticos e abióticos (Silva, 2025).

O sistema radicular não constitui um compartimento homogêneo, apresentando variações estruturais, fisiológicas e funcionais ao longo do seu desenvolvimento. À medida que as raízes se expandem, diferentes regiões são expostas a gradientes de nutrientes, umidade, oxigênio e compostos orgânicos, influenciando diretamente a liberação de exsudatos e, conseqüentemente, a composição das comunidades microbianas associadas. Dessa forma, a heterogeneidade do sistema radicular contribui para a formação de múltiplos nichos ecológicos, aumentando a diversidade microbiana na rizosfera (Yang, 2025). Regiões com diferentes idades fisiológicas, como porções jovens próximas à coifa e áreas mais maduras, apresentam padrões distintos de exsudação e interação com microrganismos.

Apesar dos avanços na área, a compreensão da composição e do papel funcional das comunidades microbianas associadas aos diferentes compartimentos do eixo radicular ainda é limitada. A maioria dos estudos avalia a rizosfera de forma global, considerando o solo aderido às raízes como um único compartimento, o que

pode mascarar variações espaciais importantes. Essa limitação é agravada pela heterogeneidade do solo, incluindo a distribuição de nutrientes, como o fósforo, ao longo do perfil, o que influencia a arquitetura radicular e a formação de microambientes distintos (Marcante et al., 2015).

Nesse contexto, a compartimentalização do sistema radicular torna-se essencial para a avaliação específica da estrutura e a funcionalidade das comunidades bacterianas associadas às diferentes regiões no gradiente axial radicular, permitindo compreender a variação espacial dessas interações e seu potencial de aplicação no desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes, em que isolados nicho-específicos podem ser combinados em comunidades sintéticas potencialmente capazes de colonizar as raízes sem competição (Bulgarelli et al., 2013; Edwards et al., 2015). A integração de métodos clássicos, como o isolamento de microrganismos, com abordagens moleculares, como o metabarcoding do gene 16S rRNA, possibilita uma caracterização mais abrangente dessas comunidades. Além disso, abordagens metagenômicas têm ampliado significativamente o conhecimento sobre microrganismos não cultiváveis e seus metabólitos (Santos et al., 2018).

As plantas sintetizam uma grande diversidade de metabólitos secundários e liberam rizodepósitos que influenciam diretamente a estrutura e a funcionalidade das comunidades microbianas. A variação genética vegetal também modula essas interações, afetando o recrutamento e a manutenção de microrganismos benéficos (Flores, 2015). Dessa forma, a caracterização do microbioma em diferentes compartimentos do eixo radicular constitui uma estratégia promissora para compreender a organização das comunidades bacterianas e identificar microrganismos associados a nichos específicos, com potencial de aplicação como bioinsumos.

Diante disso, torna-se necessário avançar na caracterização dos nichos radiculares, visando ao desenvolvimento de estratégias agrícolas mais sustentáveis, capazes de reduzir a dependência de fertilizantes químicos e mitigar impactos ambientais (Compant; et al., 2010). A identificação de microrganismos com potencial biotecnológico pode contribuir para o aumento da produtividade do feijoeiro, para a melhoria da qualidade do solo e para o fortalecimento da segurança alimentar.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar a diversidade, a composição, estrutura e atividade da comunidade bacteriana associada às diferentes regiões da raiz de *Phaseolus vulgaris*, visando compreender como essas variações moldam as interações microbianas e influenciam a funcionalidade ao longo do contínuo raiz-rizosfera-solo.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a densidade populacional da comunidade bacteriana (heterotróficas e diazotróficas) nos diferentes compartimentos do sistema solo-rizosfera-raiz por métodos tradicionais de isolamento;
- Isolar, caracterizar e armazenar bactérias provenientes dos diferentes compartimentos do sistema solo-rizosfera-raiz;
- Caracterizar o bacterioma do sistema solo-rizosfera-raiz por meio de análise do microbioma baseada no gene 16S rRNA, avaliando composição e diversidade microbiana;
- Comparar a densidade populacional bacteriana e a estrutura do bacterioma entre as regiões R1 (coifa-zona de alongamento) e R2 (zona de emergência de pelos radiculares);
- Avaliar o perfil metabólico das comunidades bacterianas utilizando ecoplacas, determinando a capacidade de uso de diferentes fontes de carbono;
- Formular e testar comunidades sintéticas derivadas dos isolados obtidos, avaliando seu efeito na promoção de crescimento do feijoeiro.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Importância socioeconômica do feijoeiro

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) destaca-se como uma das principais culturas agrícolas do Brasil, sendo amplamente cultivado e consumido em todo o território nacional. O feijão-comum representa a maior parcela do consumo interno e constitui elemento central da alimentação brasileira, tradicionalmente associado à combinação “arroz com feijão” (Gonçalves, 2024). Apesar da redução no consumo *per*

capita ao longo das últimas décadas, esses alimentos permanecem como base da dieta da população (Ibge, 2024). Do ponto de vista nutricional, o feijão é fonte relevante de proteínas vegetais, fibras, vitaminas do complexo B e minerais, além de apresentar baixo custo relativo, o que reforça seu papel na segurança alimentar, especialmente entre populações de menor renda (Wander, 2025).

No contexto produtivo, a cultura possui elevada importância econômica, contribuindo para a geração de emprego e renda no meio rural. Sua ampla adaptação às diferentes condições edafoclimáticas permite o cultivo em diversas regiões e épocas do ano, favorecendo a dinâmica produtiva nacional. O Brasil figura entre os principais produtores mundiais de feijão, ocupando posição de destaque no cenário global (Coêlho, 2023). No âmbito interno, a produção concentra-se em estados como o Paraná, que apresenta elevados índices de produtividade (Ibge, 2023).

3.2. Aspectos botânicos de *Phaseolus vulgaris*

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence ao reino Plantae, sendo classificado como angiosperma dicotiledônea da ordem Fabales e família Fabaceae, conforme o sistema APG IV (2016). O gênero *Phaseolus* reúne diversas espécies de leguminosas, destacando-se *P. vulgaris* como uma das mais cultivadas mundialmente (Schleder, 2020). A espécie apresenta características morfológicas bem definidas ao longo do desenvolvimento, com estruturas adaptadas ao crescimento e à reprodução.

Trata-se de uma planta anual de hábito herbáceo, amplamente difundida e domesticada a partir de dois centros principais nas Américas (Mesoamérica e Andes), resultando em grupos genéticos distintos (Sarkar, 2026). Esse processo contribuiu para elevada variabilidade intraespecífica, expressa em características como arquitetura da planta, padrão de ramificação, ciclo, e atributos dos grãos, além de diferenças fisiológicas relacionadas à adaptação ambiental.

Essa variabilidade estrutural possui implicações funcionais relevantes para o desempenho agrônomo, incluindo a eficiência no uso de recursos e a interação com o ambiente. Nesse contexto, o sistema radicular de *P. vulgaris* apresenta elevada plasticidade, respondendo a fatores genéticos e ambientais, o que influencia a

formação de zonas funcionais ao longo da raiz e a interação com microrganismos do solo.

3.2.1 Estrutura da semente: tegumento, embrião e reservas

A semente de *Phaseolus vulgaris* apresenta estrutura típica de dicotiledôneas, sendo composta por tegumento, embrião e tecidos de reserva, predominantemente armazenados nos cotilédones. O tegumento constitui a camada externa protetora, exercendo funções essenciais na proteção mecânica do embrião, no controle das trocas hídricas e gasosas e na manutenção da integridade da semente durante o armazenamento e a germinação. Externamente, destacam-se estruturas morfológicas como o hilo, correspondente à cicatriz de inserção do funículo, e a micrópila, relacionada à entrada de água no processo de imbibição, além da rafe, cuja aparência pode variar entre cultivares (Morales-Santos et al., 2017).

No feijão-preto, a coloração do tegumento está associada ao acúmulo de compostos fenólicos, especialmente antocianinas (Nunes, 2022). Além da importância comercial, essa característica está relacionada aos aspectos estruturais do tegumento, como espessura e organização das camadas, que influenciam sua permeabilidade e, conseqüentemente, o tempo de hidratação da semente. Em leguminosas, tais variações podem afetar a velocidade de emergência e o estabelecimento inicial das plântulas. Internamente, o embrião é composto pelo eixo embrionário, formado por radícula e plúmula, e por dois cotilédones volumosos, responsáveis pelo armazenamento de reservas utilizadas durante o crescimento inicial até o estabelecimento da atividade fotossintética.

3.2.2 Germinação epígea e morfogênese inicial

O feijoeiro apresenta germinação epígea, caracterizada pela elevação dos cotilédones acima da superfície do solo em decorrência do alongamento do hipocótilo (Ferreira, 2008). O processo germinativo inicia-se com a imbibição, etapa em que ocorre absorção de água e reativação metabólica, incluindo reidratação celular, ativação enzimática e intensificação da respiração. Em seguida, há a ruptura do tegumento e a emissão da radícula, que cresce no sentido gravitropicamente positivo,

originando a raiz principal, enquanto o hipocótilo se alonga e promove a emergência da plântula.

Após a emergência, os cotilédones permanecem funcionalmente ativos como órgãos de reserva e podem atuar temporariamente na fotossíntese até o completo desenvolvimento do aparato foliar. Na sequência, ocorre o crescimento do epicótilo e a emissão das folhas primárias, seguidas pelo estabelecimento das folhas compostas trifolioladas, características da espécie (Ferreira, 2008). Esse conjunto de eventos marca a transição do estágio heterotrófico inicial para a fase autotrófica, sendo determinante para o vigor da plântula e o desenvolvimento inicial do sistema radicular.

3.2.3 Sistema radicular: arquitetura, zonas estruturais e emissão de raízes laterais

O sistema radicular do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta organização do tipo pivotante, com uma raiz principal e emissão de raízes laterais que conferem maior capacidade de exploração do solo (Nyssen, 2016), se relacionando à eficiência na absorção de água e nutrientes. As raízes laterais ampliam a superfície de contato com o solo e estão associadas à formação de nódulos para fixação biológica de nitrogênio. Embora o sistema radicular possa se aprofundar em condições favoráveis, observa-se maior concentração de raízes nas camadas superficiais do solo, entre 20 e 40 cm, o que contribui para a sensibilidade da cultura ao déficit hídrico. Nesse sentido, a emissão de raízes laterais a partir do periciclo representa um importante mecanismo de adaptação, especialmente nos estádios iniciais de crescimento, ao favorecer a rápida expansão da área de absorção (Taiz; Zeiger 2010)

Do ponto de vista funcional, diferentes regiões ao longo do eixo radicular desempenham papéis específicos no crescimento e na absorção. A região apical está associada à divisão e ao alongamento celular, enquanto as regiões mais diferenciadas concentram estruturas responsáveis pela absorção, como os pelos radiculares. Essas estruturas aumentam significativamente a interface solo-raiz e favorecem a interação com microrganismos da rizosfera, sendo as raízes finas e os tecidos jovens os principais responsáveis pela absorção de água e nutrientes (Raven et al., 2005; Taiz; Zeiger, 2010).

3.2.4 Nodulação: estrutura morfológica especializada da raiz

O *Phaseolus vulgaris* apresenta a capacidade de formar nódulos radiculares, estruturas especializadas resultantes da associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio, principalmente dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (Dias, 2020). A nodulação constitui um processo morfogênico no qual células vegetais são induzidas a se diferenciar, originando um órgão funcional geralmente associado às raízes laterais e regiões fisiologicamente ativas do sistema radicular.

O processo de formação dos nódulos envolve etapas específicas de reconhecimento entre planta e microrganismo, seguidas pela infecção dos pelos radiculares e formação de estruturas como o fio de infecção, que permite a entrada das bactérias nos tecidos internos da raiz (Peres, 1980). A partir desse ponto, ocorre intensa divisão celular no córtex radicular, resultando na formação do nódulo. Estruturalmente, esses órgãos apresentam tecidos diferenciados e conexão vascular com a raiz, o que viabiliza o transporte de água, nutrientes e fotoassimilados necessários à manutenção do metabolismo simbiótico.

No interior dos nódulos, ocorre a fixação biológica de nitrogênio, processo no qual o nitrogênio atmosférico (N_2) é convertido em formas assimiláveis pela planta, como amônia, por ação da enzima nitrogenase (Dias, 2020). Esse mecanismo representa importante via de suprimento de nitrogênio para a cultura, podendo reduzir a necessidade de adubação nitrogenada. A formação desses órgãos implica modificações estruturais no sistema radicular, incluindo reorganização tecidual e aumento localizado do volume das raízes. No entanto, o número, tamanho e eficiência dos nódulos são influenciados por fatores genéticos e ambientais, como disponibilidade de nitrogênio no solo, pH, umidade e presença de populações nativas de rizóbios. Nesse contexto, a nodulação configura um componente central da arquitetura e funcionalidade do sistema radicular em Fabaceae, sendo diretamente relacionada à eficiência nutricional da planta e à resposta às práticas de manejo, como a inoculação.

3.3. Variações anatômicas e fisiológicas nas raízes do feijoeiro

3.3.1 Estrutura geral das raízes

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta sistema radicular do tipo pivotante, característico de dicotiledôneas, com regiões estruturalmente especializadas que desempenham funções específicas no crescimento e na absorção de recursos (Haus et al., 2020). Além de suas funções clássicas de sustentação, absorção e condução de água e nutrientes, o sistema radicular atua como principal interface de interação com microrganismos do solo, incluindo aqueles envolvidos na fixação biológica de nitrogênio.

Nesse contexto, a associação simbiótica com rizobactérias possibilita a fixação do nitrogênio atmosférico e sua disponibilização para a planta, contribuindo para o desenvolvimento vegetal e para a melhoria da fertilidade do solo. Essa interação evidencia o papel do sistema radicular como um ambiente biologicamente ativo, no qual ocorrem trocas metabólicas essenciais ao funcionamento do sistema solo-planta.

Do ponto de vista estrutural, a região apical da raiz é protegida pela coifa (caliptra), que preserva o meristema durante a penetração no solo e secreta mucilagem com funções protetoras e facilitadoras da interação com o ambiente (Finkler, 2018). Acima dessa região, ocorrem a zona de alongamento, responsável pelo crescimento em comprimento da raiz, e a zona de maturação, onde se desenvolvem os pelos radiculares.

Os pelos radiculares aumentam significativamente a área de contato com o solo, sendo fundamentais para a absorção de água e nutrientes, além de constituírem importante interface para interação com microrganismos da rizosfera (Raven et al., 2014). Dessa forma, as raízes finas e tecidos jovens representam a fração mais ativa do sistema radicular em termos de absorção e interação biológica.

Além de suas funções fisiológicas, a zona pilífera desempenha papel central na comunicação com o microbioma do solo por meio da liberação de exsudatos radiculares. Esses compostos atuam como sinais químicos capazes de modular a composição microbiana na rizosfera. Em condições de estresse, as plantas podem alterar o perfil de exsudação, recrutando microrganismos benéficos que auxiliam na defesa e no crescimento vegetal, fenômeno descrito como “Cry for help” (Rolfe et al., 2019).

Nesse sentido, a rizosfera pode ser compreendida como um ambiente seletivo, no qual a planta atua como filtro ecológico, favorecendo microrganismos benéficos e restringindo organismos potencialmente patogênicos, processo mediado principalmente pelos exsudatos radiculares (Mendes et al., 2013).

3.3.2 Mecanismos de liberação de compostos orgânicos

No contínuo raiz-rizosfera-solo, a liberação de compostos orgânicos desempenha papel fundamental na estruturação do microambiente radicular e na seleção microbiana. Os exsudatos radiculares constituem uma mistura complexa de compostos liberados por secreção ativa e difusão passiva, sendo determinantes na organização da microbiota da rizosfera (Badri; Vivanco, 2009; Philippot et al., 2013). Além dos exsudatos, a mucilagem radicular, rica em polissacarídeos, contribui para a proteção da ponta da raiz e para a formação de micro-habitats favoráveis à colonização microbiana. Já os lisados celulares representam uma via passiva de liberação de compostos, geralmente associada às condições de estresse fisiológico (Carvalho et al., 2021).

Esses compostos incluem açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e íons, que alteram o ambiente químico da rizosfera e influenciam diretamente a composição e a atividade da comunidade microbiana (Da Silveira, 2007). Dessa forma, as raízes desempenham papel ativo na modulação da microbiota, favorecendo microrganismos associados à promoção do crescimento vegetal e à proteção contra patógenos.

A interação planta-microbioma é dinâmica e dependente do estágio de desenvolvimento da planta e das condições ambientais. Alterações no perfil de exsudação refletem demandas fisiológicas específicas e influenciam processos como a mobilização e a aquisição de nutrientes (Kavamura et al., 2018). Em condições de limitação de nitrogênio, por exemplo, observa-se intensificação das interações com a microbiota do solo, favorecendo estratégias de aquisição desse nutriente.

Nesse cenário, compostos secundários liberados pelas raízes podem atuar na modulação funcional da comunidade microbiana, contribuindo para a eficiência do sistema solo-planta e reforçando o papel do microbioma rizosférico na nutrição vegetal (Mendes, 2024).

3.4. Microbioma rizosférico do feijoeiro

O microbioma rizosférico compreende o conjunto de microrganismos associados à raiz, incluindo seus genes e funções, incorporando assim o potencial funcional dessas comunidades (Boon et al., 2014). No feijoeiro, a rizosfera constitui um ambiente dinâmico, fortemente influenciado pela liberação de exsudatos radiculares, os quais atuam na seleção e modulação das comunidades microbianas (Cunha et al., 2023).

Nesse ambiente, a planta exerce papel ativo na estruturação do microbioma, funcionando como um filtro ecológico que favorece microrganismos benéficos e restringe organismos potencialmente patogênicos. Esse processo é mediado principalmente pela composição dos exsudatos e pelas características fisiológicas da planta, influenciando diretamente a estrutura e a funcionalidade das comunidades microbianas (Mendes et al., 2013).

Compostos como açúcares, aminoácidos e metabólitos secundários atuam como mediadores das interações planta-microrganismo, favorecendo organismos com funções relacionadas à nutrição e ao crescimento vegetal, como a fixação biológica de nitrogênio e a promoção do crescimento. Nesse contexto, destacam-se grupos funcionais como rizobactérias promotoras de crescimento e fungos micorrízicos arbusculares, cuja colonização é regulada por sinais químicos derivados dos exsudatos, incluindo flavonoides (Steinkellner et al., 2007).

Além da promoção do crescimento, o microbioma rizosférico está associado à supressão de fitopatógenos e à mitigação de estresses abióticos, por meio de mecanismos como competição por nicho, produção de compostos antimicrobianos e modulação de respostas fisiológicas da planta (Berg et al., 2019; Liu et al., 2023). Dessa forma, a composição e a atividade dessas comunidades estão diretamente relacionadas à eficiência do sistema solo-planta.

Sob essa perspectiva, o uso de microrganismos benéficos como bioinsumos tem sido explorado como estratégia para aumentar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e reduzir a dependência de insumos químicos (Díaz et al., 2025). No feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), a inoculação com bactérias associadas às raízes tem

demonstrado potencial para aumentar a nodulação, o crescimento vegetal e a produtividade (Souza et al., 2017).

Entretanto, a eficiência dessas estratégias depende da interação com a microbiota nativa, do genótipo da planta e das condições ambientais, evidenciando a necessidade de aprofundar o entendimento dos mecanismos de recrutamento e seleção microbiana na rizosfera.

3.4.1. Diversidade bacteriana na rizosfera do feijoeiro

A rizosfera do feijoeiro abriga elevada diversidade bacteriana, com predominância de grupos pertencentes aos filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, cuja abundância relativa varia em função das condições ambientais e do genótipo vegetal (Pérez-Jaramillo, 2017). Dentro desses grupos, destacam-se táxons associados às funções ecológicas relevantes, como ciclagem de nutrientes e interação com a planta.

Diversas bactérias rizosféricas apresentam potencial para promoção do crescimento vegetal, atuando em processos como fixação biológica de nitrogênio, solubilização de nutrientes e produção de fitormônios. Gêneros como *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* são frequentemente associados a essas funções (Saharan, 2011), contribuindo para o desenvolvimento vegetal e para a melhoria das condições do solo.

A estrutura e a dinâmica dessas comunidades são fortemente influenciadas por fatores edafoclimáticos, como pH, umidade e disponibilidade de nutrientes, além de variações climáticas que afetam a atividade microbiana e as interações planta–solo (Lopes, 2024; Dang, 2026). Nesse sentido, a diversidade bacteriana da rizosfera constitui um componente-chave para a estabilidade e o funcionamento dos sistemas agrícolas.

A caracterização dessas comunidades pode ser realizada por abordagens cultura-dependentes e cultura-independentes. Enquanto métodos baseados em cultivo permitem a obtenção de microrganismos isolados, técnicas moleculares possibilitam a análise direta do material genético, ampliando a detecção de grupos

não cultiváveis e fornecendo uma visão mais abrangente da comunidade microbiana (Rodrigues, 2015).

3.4.2 Influência do feijoeiro sobre o microbioma do solo

O feijoeiro exerce influência direta sobre a composição do microbioma rizosférico, principalmente por meio de sua arquitetura radicular e do padrão de exsudação. O desenvolvimento de raízes laterais e pelos radiculares amplia a interface solo-raiz, favorecendo o recrutamento de microrganismos benéficos (Silva, 2023).

A composição dos exsudatos radiculares atua como principal mecanismo de modulação dessas comunidades, podendo favorecer ou inibir determinados grupos microbianos. Além disso, variações entre cultivares influenciam a estrutura do microbioma, sendo associadas às diferenças na arquitetura radicular e no perfil de exsudação. Genótipos com maior ramificação e densidade de pelos radiculares tendem a apresentar maior diversidade microbiana e maior potencial de interação com microrganismos benéficos.

As interações entre microrganismos também desempenham papel relevante na dinâmica da rizosfera. Associações entre rizóbios e outros microrganismos, como fungos do gênero *Trichoderma*, podem potencializar efeitos sobre crescimento vegetal, nodulação e produtividade, evidenciando o potencial de estratégias biológicas combinadas (Backer, 2018).

Por outro lado, práticas agrícolas intensivas, especialmente o uso excessivo de insumos químicos, podem reduzir a diversidade microbiana e comprometer o equilíbrio do sistema solo-planta. Em contraste, manejos conservacionistas e o uso de bioinsumos estão associados ao aumento da diversidade microbiana e à melhoria da funcionalidade do solo, contribuindo para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Campanari, 2019; Da Silva et al., 2024).

3.5. Bacterioma em diferentes regiões das raízes: coifa–zona de alongamento versus zona de formação de pelos radiculares

3.5.1 Conceitos de compartimentalização radicular

O crescimento radicular ocorre a partir do meristema apical, com emissão contínua de raízes laterais que ampliam a exploração do solo. Ao longo desse eixo, estabelecem-se gradientes físico-químicos e biológicos que resultam na formação de compartimentos radiculares distintos, caracterizados por diferentes disponibilidades de nutrientes e perfis de exsudação. Esses gradientes promovem a formação de nichos microbianos específicos, levando à estruturação de comunidades microbianas diferenciadas ao longo da raiz.

3.5.2 Compartimentalização da rizosfera e importância funcional

A rizosfera corresponde à faixa de solo sob influência direta das raízes, caracterizada por intensa atividade biológica e forte modulação pelos exsudatos radiculares (Dong et al., 2023). Essa região apresenta variações tanto no sentido radial quanto ao longo do eixo radicular, refletindo gradientes na disponibilidade de nutrientes e na composição microbiana.

Funcionalmente, a rizosfera pode ser subdividida em três compartimentos: rizosfera externa, rizoplano e endosfera. Esses compartimentos representam um gradiente crescente de influência da planta e de seletividade microbiana. A rizosfera externa atua como zona inicial de recrutamento, o rizoplano constitui a interface direta de interação planta-microrganismo, e a endosfera representa um ambiente altamente seletivo, ocupado por microrganismos endofíticos adaptados.

Essa compartimentalização é fundamental para a organização do microbioma, influenciando processos como ciclagem de nutrientes, promoção do crescimento vegetal e supressão de patógenos (Philippot et al., 2013). Além de microrganismos benéficos, a rizosfera também abriga organismos potencialmente patogênicos, sendo o equilíbrio dessas interações determinante para a saúde das plantas (Mendes, 2024).

3.5.3 Bacterioma na coifa e zona de alongamento

A região apical da raiz, composta pela coifa e pela zona de alongamento, apresenta características específicas que influenciam a colonização microbiana. A

coifa atua na proteção do meristema e na secreção de mucilagem rica em polissacarídeos, que funciona como fonte de carbono e substrato para microrganismos (Badri; Vivanco, 2009). Além disso, a liberação contínua de células descamadas contribui para o enriquecimento microbiano nessa região.

Na zona de alongamento, embora a secreção de mucilagem seja reduzida, compostos liberados pelas células radiculares continuam atuando na seleção microbiana, favorecendo a adesão bacteriana e a formação inicial de biofilmes (Haichar et al., 2014).

Assim, essas regiões distais estão associadas a um microbioma influenciado principalmente pela disponibilidade de compostos orgânicos e pelas condições físico-químicas do solo, resultando em comunidades dinâmicas e adaptadas ao ambiente radicular em expansão (Philippot et al., 2013).

3.5.4 Bacterioma na zona de formação de pelos radiculares

A zona de formação de pelos radiculares apresenta elevada atividade biológica e diversidade microbiana, sendo considerada uma das regiões mais importantes para as interações planta-microrganismo (Philippot et al., 2013). Os pelos radiculares ampliam a superfície de contato com o solo, favorecendo a absorção de água e nutrientes, além de intensificar a liberação de exsudatos.

Nessa região, predominam microrganismos associados à nutrição vegetal, incluindo bactérias fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de fósforo e promotoras de crescimento. Esses organismos contribuem para a produção de fitormônios e para a melhoria da eficiência nutricional da planta, influenciando diretamente seu desenvolvimento e sua resposta aos estresses (Van Der Heijden et al., 2008; Zhang et al., 2019).

Dessa forma, enquanto a coifa e a zona de alongamento estão mais relacionadas à proteção, crescimento e recrutamento inicial de microrganismos, a zona pilífera constitui o principal sítio de interação funcional entre planta e microbioma, desempenhando papel central na absorção de nutrientes e na promoção do crescimento vegetal.

3.6. Aplicações biotecnológicas: desenvolvimento de bioinoculantes

3.6.1 Conceito e tipos de bioinoculantes

Bioinoculantes são produtos formulados a partir de microrganismos com o objetivo de promover o crescimento vegetal e melhorar a eficiência do uso de nutrientes. Esses insumos têm ganhado destaque como alternativa sustentável aos fertilizantes químicos, cujo uso excessivo pode comprometer a qualidade do solo e o equilíbrio ambiental.

Entre os principais grupos utilizados, destacam-se as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR), como *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, que estabelecem simbiose com leguminosas e promovem a fixação biológica de nitrogênio por meio da enzima nitrogenase (Moreira, 2014). Além da atuação direta no crescimento vegetal, esses microrganismos podem exercer efeitos indiretos, como o controle biológico de patógenos.

Outro grupo relevante corresponde aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que ampliam a absorção de nutrientes, especialmente fósforo, por meio da expansão do micélio no solo. Evidências experimentais demonstram que a associação com FMA pode resultar em aumento significativo da biomassa vegetal, especialmente em condições de baixa disponibilidade de nutrientes (QI et al., 2022).

De modo geral, a formulação de bioinoculantes envolve a seleção de microrganismos eficientes, sua incorporação aos substratos adequados e a garantia de viabilidade e estabilidade do produto. A eficiência desses insumos é avaliada por parâmetros como crescimento vegetal, acúmulo de biomassa e produtividade (Florencio, 2022).

3.6.2 Bioinoculantes e inovação

No Brasil, o uso de bioinoculantes encontra-se consolidado, especialmente em leguminosas, com destaque para bactérias fixadoras de nitrogênio dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, amplamente utilizadas no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e regulamentadas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 2011). Além disso, bactérias promotoras de crescimento vegetal, como *Azospirillum brasilense*,

têm sido empregadas isoladamente ou em coinoculação, contribuindo para o desenvolvimento radicular e para a absorção de nutrientes (Hungria et al., 2015).

Dados da Embrapa (2026) indicam a existência de, aproximadamente, 100 inoculantes associados à cultura do feijoeiro no Brasil, majoritariamente classificados como bactérias fixadoras de nitrogênio por simbiose. Esses produtos estão disponíveis em diferentes formulações, com predominância da forma fluida, e apresentam aumento nos registros a partir de 2020, evidenciando a expansão recente do setor.

Apesar da predominância de microrganismos fixadores de nitrogênio, outros grupos têm demonstrado potencial como bioinoculantes. Bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Azospirillum* atuam na promoção do crescimento vegetal por meio da produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e estímulo ao desenvolvimento radicular.

Estudos experimentais reforçam esse potencial. A inoculação com *Pseudomonas* promoveu aumento na germinação e na biomassa de plantas de feijoeiro (Souza et al, 2017). De forma semelhante, *Azospirillum brasilense* foi associado ao aumento do número de vagens e da produtividade (Rocha et al., 2021), enquanto *Bacillus subtilis* apresentou efeitos positivos sobre a germinação, crescimento radicular e rendimento (Rocha, 2019). Esses resultados evidenciam a diversidade funcional de microrganismos com potencial de aplicação como bioinsumos.

3.6.3 Desafios na aplicação de bioinoculantes

A aplicação de bioinoculantes enfrenta desafios relacionados à viabilidade dos microrganismos, à eficiência no campo e à interação com a microbiota nativa. A sobrevivência das cepas durante a produção, armazenamento e aplicação é essencial para garantir sua eficácia (Florencio, 2022).

No feijoeiro, a elevada diversidade microbiana do solo, especialmente de rizóbios nativos, pode comprometer a eficiência da nodulação devido à competição com as estirpes inoculadas. Além disso, a compatibilidade entre microrganismo e genótipo da planta influencia diretamente o sucesso da inoculação.

Fatores ambientais, como pH, temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes, também afetam o desempenho dos inoculantes. Em particular, altos níveis de nitrogênio no solo podem inibir a nodulação e reduzir a eficiência da fixação biológica (Silveira, 2021).

Dessa forma, a eficácia dos bioinoculantes depende da interação entre fatores biológicos, ambientais e de manejo, destacando a necessidade de estratégias integradas que considerem tanto a seleção de cepas quanto as condições do sistema de cultivo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta da diversidade de microrganismos do microbioma rizosférico

Plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) foram cultivadas em substrato comercial Basaplant® não autoclavado, com o objetivo de reduzir a variabilidade do solo, mantendo uma microbiota ativa. As sementes utilizadas foram da cultivar feijão-preto, provenientes de lote comercial da marca Combrasil®, sem tratamento químico prévio.

Após sete dias de germinação, foram selecionadas plântulas para a coleta das amostras, considerando esse estágio como representativo de elevada atividade radicular e recrutamento inicial do microbioma rizosférico. A amostragem foi realizada em cinco compartimentos distintos, conforme ilustrado na Figura 1: (R1) região 1 da raiz, correspondente à coifa e à zona de alongamento da raiz principal; (R2) região 2 da raiz, correspondente à zona de formação de pelos radiculares e emergência de raízes laterais; (RZ1) rizosfera 1, definida como o solo aderido à região 1; (RZ2) rizosfera 2, correspondente ao solo aderido à região 2; e (S) solo, caracterizado como o substrato não aderido às raízes.

De cada compartimento, foram coletados, aproximadamente, 0,1 g de amostra, que foram maceradas e homogeneizadas em solução salina estéril a 0,85%. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-7} .

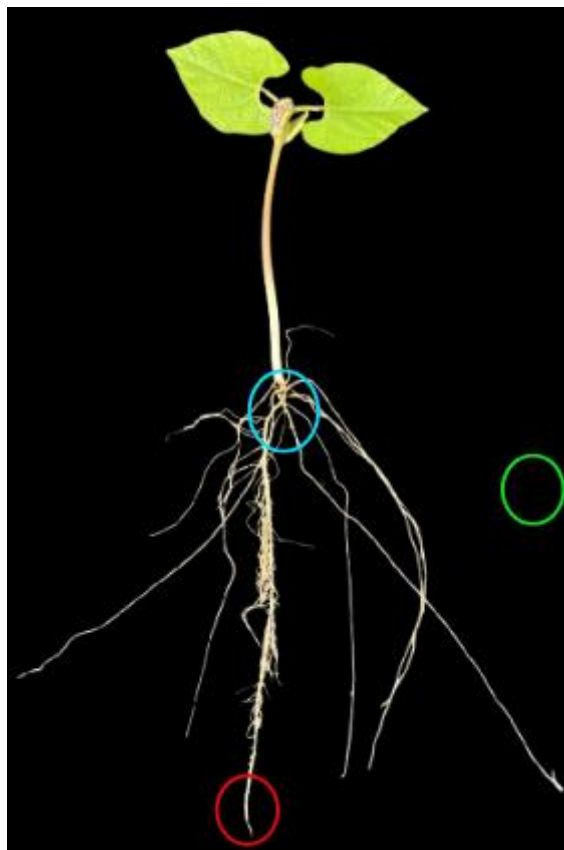


Figura 1: Pontos de amostragem do sistema radicular da plântula de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). A região 1 da raiz e sua respectiva rizosfera (R1 e RZ1) estão indicadas em vermelho; a região 2 da raiz e sua respectiva rizosfera (R2 e RZ2) estão indicadas em azul; e o solo (S) não aderido diretamente à raiz está indicado em verde.

Para o cultivo bacteriano, utilizou-se meio Nutrient Broth (NB) sólido (Kasvi®, Brasil), preparado conforme as instruções do fabricante. O meio foi esterilizado em autoclave e distribuído em placas de Petri sob condições assépticas.

Foram inoculados 200 μL de cada diluição seriada (10^{-1} a 10^{-7}) em placas contendo o meio de cultura, para todas as amostras correspondentes aos cinco compartimentos avaliados. As placas foram incubadas a 30 °C por um período de 24 a 72 horas para o desenvolvimento das colônias bacterianas.

4.2. Contagem e isolamento das bactérias

A quantificação dos microrganismos foi realizada por meio da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) em placas contendo meio Nutrient Broth (NB) sólido. Foram consideradas para contagem as placas provenientes das diluições de

10^{-2} a 10^{-6} que apresentaram entre 30 e 300 colônias. Os resultados foram expressos em UFC g^{-1} da amostra inicial.

Após a contagem, procedeu-se ao isolamento das colônias bacterianas. Colônias com características morfológicas distintas foram selecionadas e transferidas para placas contendo meio NB sólido estéril, utilizando-se a técnica de estria simples.

As placas foram incubadas a 33 °C até o crescimento das colônias isoladas. A pureza dos isolados foi verificada por meio de repiques sucessivos, com observação da uniformidade morfológica. Após a obtenção de culturas puras, os isolados bacterianos foram armazenados em vermiculita estéril para manutenção da viabilidade celular.

4.3. Teste de fixação de nitrogênio nas bactérias

A capacidade de fixação biológica de nitrogênio foi avaliada por meio do cultivo dos isolados bacterianos em meios semissólidos livres de nitrogênio LGI e JNFB, preparados conforme Döbereiner, Andrade e Baldani (1999). Os meios foram distribuídos em frascos de vidro tipo penicilina, contendo 5 mL por unidade.

Para a inoculação, foram utilizados 100 μ L das suspensões bacterianas provenientes dos cinco compartimentos avaliados (R1, R2, RZ1, RZ2, S). As amostras da rizosfera foram inoculadas a partir das diluições de 10^{-3} a 10^{-6} , enquanto as amostras das regiões 1 e 2 da raiz e do solo foram inoculadas a partir das diluições de 10^{-4} a 10^{-7} . Após a inoculação, os frascos foram incubados a 33 °C por sete dias. A presença de crescimento bacteriano foi avaliada pela formação de película característica no meio semissólido. A quantificação dos microrganismos diazotróficos foi realizada pelo método do Número Mais Provável (NMP), utilizando-se três tubos por diluição e a Tabela de McCrady para estimativa dos valores.

4.4. Atividade bacteriana pelo método FDA

A atividade microbiana foi avaliada pelo método de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), conforme descrito por Schnürer e Rosswall (1982). Foram utilizadas amostras de 0,5 g de solo rizosférico provenientes dos cinco

compartimentos avaliados (R1, R2, RZ1, RZ2, S), com repetições experimentais. Como controle negativo, utilizou-se substrato Basaplant® autoclavado. As amostras foram transferidas para tubos de centrifuga estéreis e homogeneizadas com tampão fosfato (pH 7,6). Em seguida, foi adicionada a solução de FDA, e as amostras foram incubadas em agitador (shaker), no escuro, por 1 hora. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas, e a densidade óptica do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro utilizando placa de 96 poços.

4.5. Análise do microbioma baseada no gene 16S rRNA

A comunidade bacteriana não cultivável foi caracterizada por meio da amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA. Três sementes de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) foram semeadas em tubetes contendo substrato Basaplant®, sem aplicação de inoculantes, a fim de avaliar a comunidade microbiana naturalmente associada ao sistema radicular. Após sete dias de germinação, foram coletadas amostras de R1, R2, RZ1, RZ2, S.

O DNA total foi extraído utilizando o Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), conforme instruções do fabricante. A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, e a concentração e pureza foram determinadas por espectrofotometria (NanoDrop™). As amostras foram padronizadas para volume final de 40 µL. O sequenciamento e o processamento dos dados do gene 16S rRNA foram realizados pela empresa NGS Soluções Genômicas.

4.6. Perfil metabólico pelo método de ecoplacas

As análises dos dados do gene 16S rRNA foram realizadas utilizando ferramentas bioinformáticas para a caracterização da composição e da estrutura da comunidade bacteriana. A diversidade alfa foi estimada por meio de índices de riqueza e diversidade, enquanto a diversidade beta foi avaliada com base em medidas de dissimilaridade entre amostras. A abundância relativa dos táxons foi calculada a partir da proporção de sequências atribuídas a cada grupo taxonômico. A identificação do microbioma core foi realizada com base na ocorrência dos táxons nos diferentes compartimentos avaliados. A estrutura da comunidade microbiana foi analisada por

meio de análise de componentes principais (PCA), a fim de avaliar padrões de similaridade entre as amostras. Para os dados obtidos nas EcoPlates, a atividade metabólica foi avaliada com base no padrão de utilização das fontes de carbono, sendo os dados submetidos às análises multivariadas para comparação entre os compartimentos.

4.7. Preparação dos inóculos para aplicação no feijão

Após o isolamento, foram selecionados quinze isolados bacterianos distintos, sendo três provenientes de cada compartimento amostrado (R1, R2, RZ1, RZ2, S), com base em características morfológicas. Para o preparo dos pré-inóculos, cada isolado foi cultivado em meio Nutrient Broth (NB) líquido, em tubos contendo 5 mL do meio, incubados a 32 °C sob agitação constante (140 rpm) por 24 horas. A densidade óptica das culturas foi determinada por espectrofotometria, utilizando alíquotas de 200 µL em placas de 96 poços, sendo, posteriormente, ajustada entre 0,8 e 1,0 a 600 nm (OD_{600}) antes da utilização como inóculo. Para a preparação dos inóculos, os isolados foram cultivados em maior volume de meio NB líquido sob as mesmas condições de incubação. Os inóculos foram padronizados para aplicação na proporção de 1 mL por semente de feijão.

4.8. Preparação da cepa do *Rhizobium* para aplicação no feijão

Além dos isolados bacterianos obtidos dos diferentes compartimentos, foi utilizada uma cepa do gênero *Rhizobium* para inoculação nas sementes de feijão. Foi utilizada a cepa *Rhizobium tropici*, proveniente da coleção do Núcleo de Desenvolvimento de Insumos de Base Biológica para a Agricultura (NUDIBA), correspondente ao isolado nº 64. Esse isolado inclui estirpes identificadas pelos códigos BR 322 (= SEMIA 4077), BR 520 (= SEMIA 4080) e BR 534 (= SEMIA 4088), associadas à cultura de *Phaseolus vulgaris*.

O isolado foi cultivado em meio Yeast Mannitol (YM) sólido, conforme Embrapa (1994), seguido de purificação por repiques sucessivos utilizando a técnica de estria simples. Após a confirmação da pureza, a bactéria foi cultivada em meio YM líquido para obtenção do pré-inóculo. A cultura bacteriana foi incorporada em

substrato à base de turfa vegetal (MGreen®, Brasil), previamente esterilizada por autoclavagem. O pH da turfa foi ajustado para 6,8 com CaCO_3 . Para a inoculação, sementes de feijão foram umedecidas com solução de sacarose a 10% (m/v) e, em seguida, misturadas à turfa inoculada até recobrimento uniforme. As sementes foram mantidas à sombra por 30 a 60 minutos para secagem superficial. Após a inoculação, as sementes permaneceram em contato com o inoculante por um período de 3 dias antes da semeadura. Para o preparo do inoculante, foram utilizadas 200 g de sementes, às quais foram adicionados 10 g de turfa inoculada, sendo esta incorporada até obtenção de umidade homogênea. Para a quantificação de células viáveis, amostras de turfa inoculada foram submetidas às diluições seriadas em solução salina estéril (0,85% NaCl) até 10^{-7} . Alíquotas de 100 μL das diluições (10^{-3} a 10^{-7}) foram plaqueadas em meio Nutrient Broth (NB) sólido, utilizando a técnica de espalhamento superficial. As placas foram incubadas por 72 horas, e as unidades formadoras de colônia (UFC) foram determinadas, expressando os resultados em UFC g^{-1} . Todas as etapas foram realizadas sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar.

4.9. Teste dos isolados bacterianos

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por 17 tratamentos (2 controles e 15 tratamentos com isolados bacterianos), com quatro repetições, totalizando 68 unidades experimentais (tubetes).

Os tubetes foram preenchidos com substrato comercial Basaplant®, sendo adicionada uma camada de argila expandida no fundo de cada unidade para favorecer a drenagem. Em cada tubete, foram semeadas três sementes de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Foram estabelecidos dois controles experimentais: controle absoluto (Ca), constituído por substrato, sementes e irrigação com água; e controle relativo (Cr), composto por sementes previamente inoculadas com turfa contendo a cepa nº 64 de *Rhizobium tropici* (coleção Nudiba), além de irrigação com água. Os tratamentos (T1 a T15) foram constituídos por sementes previamente inoculadas com turfa contendo a cepa nº 64 de *Rhizobium tropici*, associadas à inoculação com isolados bacterianos obtidos no presente estudo, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Isolados bacterianos obtidos a partir dos diferentes compartimentos do sistema solo-raiz e sua respectiva codificação.

| Tratamentos | Origem do isolado | Isolado aplicado |
|-------------|-------------------|------------------|
| T1 | Rizosfera 1 | Bactéria A |
| T2 | Rizosfera 1 | Bactéria B |
| T3 | Rizosfera 1 | Bactéria C |
| T4 | Solo | Bactéria D |
| T5 | Solo | Bactéria E |
| T6 | Solo | Bactéria F |
| T7 | Região 2 | Bactéria G |
| T8 | Região 2 | Bactéria H |
| T9 | Região 2 | Bactéria I |
| T10 | Rizosfera 2 | Bactéria J |
| T11 | Rizosfera 2 | Bactéria K |
| T12 | Rizosfera 2 | Bactéria L |
| T13 | Região 1 | Bactéria M |
| T14 | Região 1 | Bactéria N |
| T15 | Região 1 | Bactéria O |

O experimento foi conduzido por 45 dias em casa de vegetação da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, RJ. As plantas foram mantidas sob irrigação diária. Aos 16 dias após a emergência, foi realizado controle fitossanitário com aplicação de óleo de Neem (2,5 mL em 500 mL de água). Aos 35 dias, foi realizada suplementação nutricional com solução Remo Nutrientes® (40 mL em 3.600 mL de água, com aplicação de 30 mL por tubete), complementada com solução de micronutrientes (20 mL em 700 mL de água, com aplicação de 10 mL por tubete).

4.10. Dados biométricos

Ao final do período experimental, as plantas foram removidas dos tubetes e lavadas em água corrente para remoção do substrato aderido às raízes. O comprimento da parte aérea e do sistema radicular foi mensurado com fita métrica graduada em centímetros. A biomassa fresca da parte aérea e das raízes foi determinada por pesagem em balança de precisão. Em seguida, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel e submetido à secagem em estufa a 60 °C por 48 horas, para determinação da biomassa seca. Quando presentes, os nódulos

radiculares foram quantificados e pesados em balança de precisão. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Diversidade e estrutura funcional da comunidade microbiana

5.1.1. Análises da comunidade bacteriana por sequenciamento do gene 16S rRNA

A caracterização da composição taxonômica do microbioma bacteriano foi realizada a partir dos dados obtidos por análise do gene 16S rRNA, permitindo descrever os principais grupos microbianos presentes nos diferentes compartimentos avaliados. Essa abordagem possibilita compreender como a estrutura da comunidade bacteriana se organiza ao longo do gradiente solo-rizosfera-regiões associadas ao sistema radicular do feijoeiro, evidenciando padrões de seleção microbiana e potenciais relações com o ambiente edáfico.

5.1.2 Diversidade alfa e beta da comunidade bacteriana

A diversidade alfa é utilizada para estimar a diversidade intra-amstral, permitindo comparar a complexidade taxonômica entre os compartimentos avaliados. Neste estudo, a diversidade alfa foi estimada por meio do índice Chao1, o qual representa um estimador de riqueza, inferindo o número de táxons presentes a partir da ocorrência de unidades raras na comunidade microbiana.

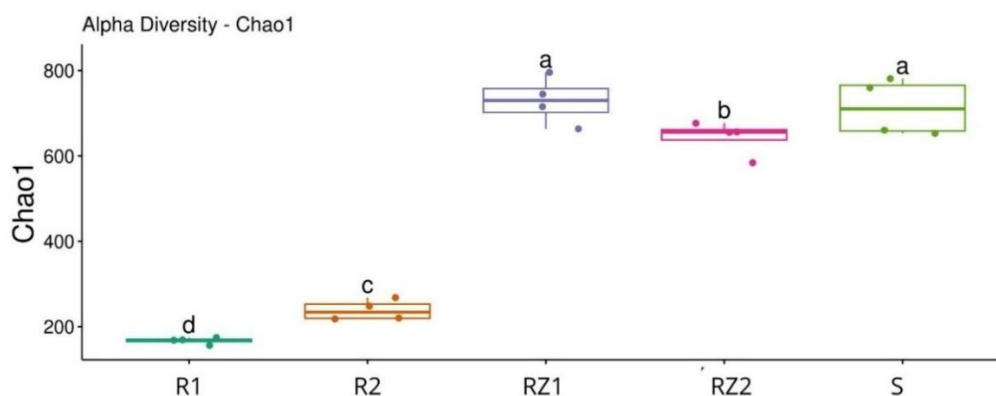


Figura 2: Índice de diversidade alfa (Chao1) das comunidades bacterianas nos diferentes compartimentos amostrados: R1 (região próxima à ponta radicular), R2 (raízes secundárias), RZ1 e RZ2 (rizosferas associadas às respectivas regiões radiculares) e S (solo não rizosférico). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). Os pontos representam as repetições biológicas.

Na Figura 2 a diversidade alfa (Chao1) diferiu significativamente entre compartimentos ($p < 0,05$), com maior riqueza em RZ1 e S (grupo "a"), RZ2 intermediário ("b"), R1 baixo ("c") e R2 mínimo ("d"). Esses resultados indicam um gradiente de riqueza microbiana entre os compartimentos, com maior complexidade nos ambientes edáficos e menor riqueza nos compartimentos diretamente associados ao tecido vegetal (Costa et al., 2014). Os maiores valores de riqueza bacteriana observados em S e nas rizosferas sugerem maior complexidade microbiana nesses compartimentos, esperado para ambientes edáficos com elevada heterogeneidade físico-química, diversidade de micro-habitats e ampla disponibilidade de nichos ecológicos (Stocco et al., 2008). Apresentando riqueza intermediária, compatível com sua condição de zona de transição entre solo e raiz, onde maior aporte de exsudatos radiculares favorece grupos selecionados, mantendo parte da diversidade típica do solo (Backer, 2018)

Em contrapartida, os menores valores de Chao1 em R1 e R2 indicam comunidades restritas em riqueza, evidenciando efeito seletivo do hospedeiro. Essa redução decorre da filtragem vegetal, favorecendo microrganismos com capacidade de quimiotaxia, formação de biofilmes e adaptação endofítica, como em rizosferas de feijoeiro (Souza et al., 2004)

Do ponto de vista agrônomo, a menor diversidade alfa em compartimentos próximos ao tecido vegetal não deve ser interpretada apenas como redução da microbiota, mas também como possível recrutamento seletivo de microrganismos com potencial funcional importante, como promoção de crescimento vegetal, ciclagem de nutrientes e antagonismo a fitopatógenos, o que é relevante para seleção de microrganismos candidatos a bioinsumos (Embrapa, 2024).

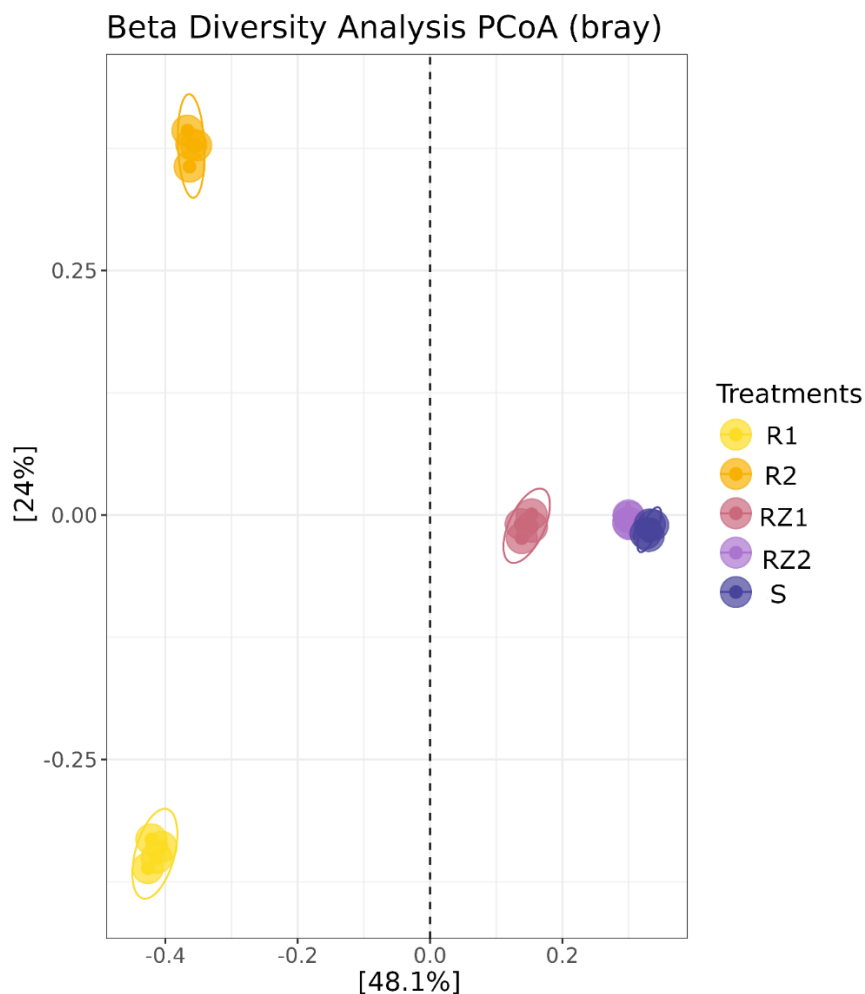


Figura 3: Análise de diversidade beta das comunidades bacterianas nos diferentes compartimentos (R1, R2, RZ1, RZ2 e S) por meio de PCoA baseada na distância de Bray–Curtis. Cada ponto representa uma repetição biológica, e as elipses indicam o agrupamento dos tratamentos. O eixo PCoA1 explica 48,1% da variação total, enquanto o eixo PCoA2 explica 24%, totalizando 72,1% da variabilidade representada no gráfico.

A Figura 3 mostra que a diversidade beta é utilizada para avaliar a dissimilaridade na composição microbiana entre os compartimentos, permitindo analisar o grau de diferenciação entre as comunidades bacterianas do solo, da rizosfera e das regiões diretamente associadas ao tecido vegetal. Para isso, foi realizada uma análise de ordenação por PCoA (Principal Coordinates Analysis) baseada na distância de Bray–Curtis, a qual considera diferenças na estrutura e na abundância relativa dos táxons entre as amostras.

A análise evidenciou clara separação entre os compartimentos, indicando diferenças marcantes na estrutura da comunidade bacteriana. Observou-se

agrupamento consistente das réplicas dentro de cada compartimento, com separação nítida entre os compartimentos associados ao tecido vegetal (R1 e R2) em relação ao solo (S) e às amostras de rizosfera (RZ1 e RZ2). Resultados semelhantes foram observados por Barraza et al. (2020), que relataram agrupamentos distintos das comunidades bacterianas associadas às raízes de feijoeiro em função do tipo de substrato, independentemente do genótipo, evidenciando o papel determinante do ambiente edáfico na estruturação do microbioma radicular. Além disso, os autores demonstraram que as comunidades bacterianas das raízes diferem significativamente daqueles presentes em substratos não plantados, reforçando o conceito de seleção microbiana mediada pela planta.

As amostras R1 e R2 posicionaram-se no lado esquerdo do gráfico (PCoA1 negativo) por estarem associadas ao tecido vegetal, porém, apresentaram separação ao longo do eixo PCoA2, indicando diferenças na estrutura da comunidade bacteriana entre distintas regiões do sistema radicular (Barraza et al., 2020). Esse padrão sugere que a ponta da raiz e as raízes secundárias constituem microambientes específicos, possivelmente em função de variações locais na liberação de exsudatos, estágio de desenvolvimento tecidual e atividade metabólica (Pérez-Jaramillo et al., 2017).

O compartimento RZ1 apresentou posicionamento intermediário, sugerindo uma condição de transição, refletindo o efeito da rizosfera como zona de enriquecimento de grupos específicos recrutados pela planta, mantendo, entretanto, parte da comunidade característica do solo.

RZ2 agrupou-se mais próximo de S, evidenciando um gradiente espacial de influência da planta sobre a microbiota: regiões mais próximas ao tecido vegetal sofrem maior seleção microbiana, enquanto compartimentos mais distantes mantêm maior similaridade com a comunidade edáfica (Poppeliers et al., 2024).

Essas diferenças estruturais no microbioma indicam que os compartimentos radiculares e a própria rizosfera constituem nichos estratégicos para a prospecção de microrganismos com potencial funcional relevante, incluindo microrganismos promotores de crescimento vegetal e candidatos aos bioinsumos, reforçando o papel do microbioma na sustentabilidade dos sistemas de produção.

5.1.3. Abundância relativa

A composição da comunidade bacteriana foi inicialmente avaliada por meio da abundância relativa dos táxons, a fim de identificar os grupos predominantes e verificar variações entre os compartimentos amostrados. Para obter maior resolução taxonômica, a abundância relativa foi analisada em nível de gênero, sendo os principais táxons representados por meio de um *heatmap*, o qual permite visualizar padrões de enriquecimento e redução de gêneros associados ao solo, à rizosfera e às regiões diretamente relacionadas ao tecido vegetal.

A análise da composição taxonômica em nível de gênero evidenciou que os compartimentos diretamente associados ao tecido radicular (R1 e R2) exibiram enriquecimento significativo de gêneros como *Burkholderia*, *Caballeronia*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas*, *Massilia* e *Sphingomonas*, sugerindo uma associação preferencial dessas bactérias às regiões proximais à raiz, provavelmente modulada por exsudatos radiculares (Compant et al., 2010). Em contrapartida, as amostras de solo (S) e rizosfera (RZ1 e RZ2) apresentaram perfis mais heterogêneos, caracterizados por uma distribuição mais equitativa de diversos gêneros (Costa et al., 2014). Além disso, detectaram-se gêneros envolvidos em interações simbióticas com leguminosas, a exemplo de *Rhizobium* e *Mesorhizobium*, cuja abundância maior foi em R1, alinhando-se aos padrões observados no feijoeiro-comum (Reis et al., 2021).

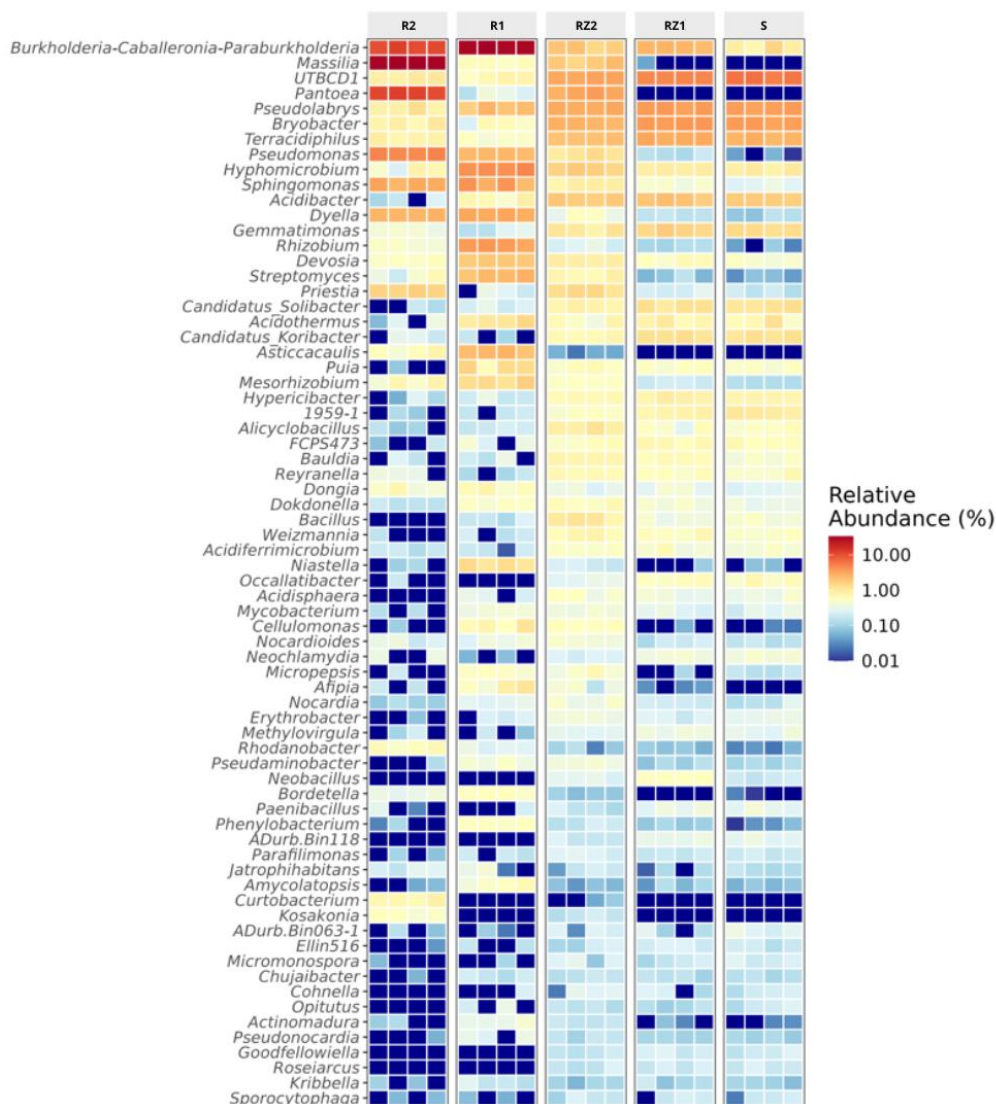


Figura 4: *Heatmap* da abundância relativa (%) dos principais gêneros bacterianos identificados por meio da análise do gene 16S rRNA em diferentes compartimentos associados ao sistema radicular do feijoeiro. A intensidade da coloração representa a abundância relativa dos gêneros, variando de baixa (azul) a alta (vermelho), conforme escala apresentada.

O padrão observado no *heatmap* indica que o microbioma bacteriano apresenta estruturação por compartimento, sugerindo que as regiões diretamente associadas ao tecido vegetal (R1 e R2) funcionam como microambientes seletivos, favorecendo o enriquecimento de determinados gêneros como *Burkholderia*, *Pseudomonas* e *Sphingomonas* (Stopnisek et al., 2021). Esse enriquecimento pode estar relacionado à disponibilidade de exsudatos radiculares tais como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos e à proximidade com o hospedeiro vegetal, os quais contribuem para selecionar microrganismos com elevada capacidade de colonização

e utilização de substratos derivados da planta, conforme relatado em estudos sobre rizosfera de *P. vulgaris* (Bulgarelli et al., 2013). Do ponto de vista agrônomo, o enriquecimento de gêneros como *Burkholderia*, *Caballeronia*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas*, *Massilia* e *Sphingomonas* em R1/R2 é especialmente relevante, pois diversos representantes desses grupos são descritos como bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR) (Rojas-Rojas et al., 2020). Esses microrganismos contribuem para o desenvolvimento vegetal por mecanismos diretos como produção de fitohormônios (ex.: IAA) e indiretos, como a solubilização de nutrientes e antagonismo aos patógenos, além de, no caso de *Burkholderia phymatum*, capacidade de nodular *P. vulgaris*, conforme observado em um estudo de cepas isoladas de solos marroquinos (Talbi et al., 2010), favorecendo maior eficiência nutricional em leguminosas.

A variação na abundância relativa desses táxons entre os compartimentos sugere que o ambiente radicular pode atuar como reservatório e zona de recrutamento de bactérias potencialmente importantes para a fixação biológica de nitrogênio e, conseqüentemente, para estratégias sustentáveis de manejo, como o uso de inoculantes e bioinsumos.

Adicionalmente, observa-se que a estruturação do microbioma ao longo dos diferentes compartimentos radiculares pode estar associada não apenas à abundância relativa dos táxons, mas também à sua função ecológica. De modo geral, regiões diretamente associadas ao tecido vegetal, como R1 e R2, tendem a favorecer o estabelecimento de microrganismos com características benéficas, especialmente aqueles com potencial promotor de crescimento vegetal (PGPR), devido à maior disponibilidade de exsudatos radiculares e à seleção ativa exercida pela planta. Esse processo contribui para a formação de um microbioma mais funcional e mutualístico nessas regiões.

Por outro lado, compartimentos mais distantes da raiz, como o solo não rizosférico, apresentam maior diversidade funcional e menor seletividade, podendo abrigar tanto microrganismos benéficos quanto potenciais patógenos. A rizosfera, por sua vez, representa uma zona intermediária, onde ocorre intensa competição microbiana, incluindo interações entre microrganismos promotores de crescimento e organismos potencialmente prejudiciais. Assim, embora não seja possível classificar rigidamente os compartimentos quanto à presença exclusiva de microrganismos

patogênicos ou não patogênicos, os dados sugerem uma tendência de maior enriquecimento de grupos funcionalmente benéficos nas regiões mais próximas à raiz, refletindo o papel seletivo do hospedeiro vegetal na estruturação do microbioma.

5.1.4. Microbioma core e táxons associados aos compartimentos

Avaliou-se também a distribuição de táxons compartilhados e exclusivos entre os compartimentos do sistema solo–planta, com o objetivo de identificar padrões de seleção microbiana e caracterizar o conjunto de microrganismos mais recorrentes entre os compartimentos. Para isso, foi utilizado um diagrama de Venn, evidenciando a interseção e exclusividade de táxons entre compartimentos; e uma representação do microbioma core, por meio de gráfico do tipo donut, destacando os gêneros que compõem o núcleo microbiano (*core microbiome*) e sua abundância relativa. Estudos destacam que o *core microbiome* é frequentemente composto por microrganismos persistentes e altamente adaptados ao hospedeiro, desempenhando funções-chave na ecologia do sistema (Shade; Handelsman, 2012). Essas análises permitem compreender simultaneamente a distribuição e a dominância dos principais grupos bacterianos ao longo do gradiente solo–rizosfera–regiões associadas ao tecido da planta.

O diagrama de Venn evidenciou a distribuição dos gêneros bacterianos entre os compartimentos avaliados. Foram identificados 98 gêneros compartilhados entre todos os compartimentos, caracterizando o núcleo do microbioma associado ao feijoeiro. Esse núcleo microbiano, persistentemente presente independentemente dos tratamentos, sugere envolvimento em funções ecológicas essenciais, incluindo ciclagem de nutrientes e suporte ao desenvolvimento vegetal.

Além do núcleo comum, observou-se elevado número de gêneros exclusivos em cada compartimento, com destaque para S (557), RZ1 (544) e RZ2 (451), enquanto R1 e R2 apresentaram 230 e 180 gêneros exclusivos, respectivamente, indicando variações expressivas na composição da comunidade bacteriana em resposta aos diferentes tratamentos.

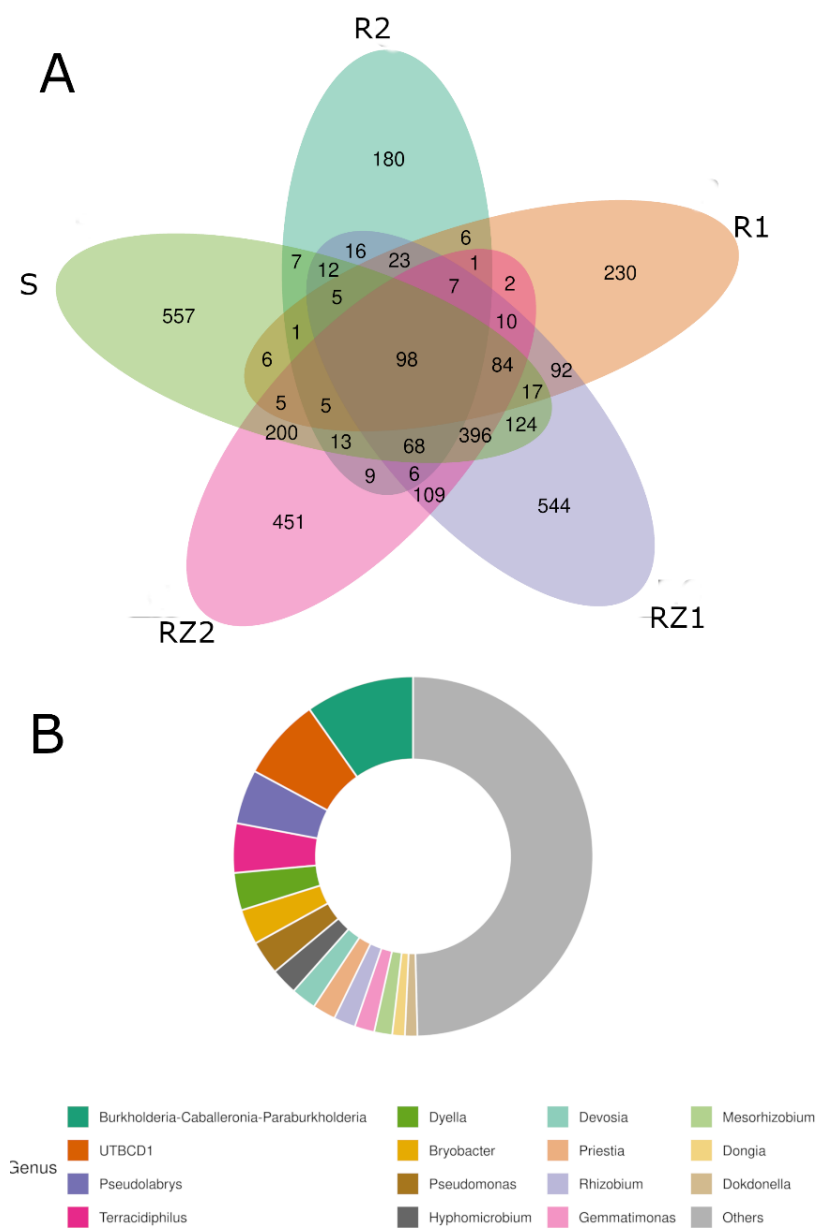


Figura 5. Distribuição de táxons e composição do microbioma core associado aos diferentes compartimentos avaliados. (A) Diagrama de Venn mostrando o número de táxons (em nível de gênero) exclusivos e compartilhados entre os compartimentos. (B) Gráfico do tipo donut representando a abundância relativa (%) dos principais gêneros que compõem o microbioma core, destacando os táxons mais recorrentes entre os compartimentos e a proporção agrupada em “others”.

Adicionalmente, foram identificados diversos gêneros compartilhados parcialmente entre dois, três ou quatro compartimentos, evidenciando uma distribuição heterogênea da comunidade bacteriana e a presença de uma fração intermediária do microbioma, composta por táxons cuja ocorrência varia conforme o compartimento e o tratamento aplicado (Shade; Handelsman, 2012).

Embora exista um conjunto conservado de microrganismos comum a todos os compartimentos, a maior parte da diversidade bacteriana apresentou distribuição específica ou parcialmente compartilhada, refletindo influência direta das condições experimentais. Nesse contexto, as diferenças observadas entre os compartimentos indicam que o manejo exerceu papel determinante na estruturação da comunidade bacteriana associada ao feijoeiro (Santoyo et al., 2025). O elevado número de gêneros exclusivos no compartimento S sugere que, na ausência de inoculação direcionada, ocorre maior heterogeneidade microbiana, possivelmente refletindo a microbiota basal do substrato e do ambiente de cultivo.

Por outro lado, os compartimentos RZ1 e RZ2 apresentaram números expressivos de gêneros exclusivos, semelhantes ao observado em S, indicando que os tratamentos envolvendo rizobactérias ou comunidade sintética promoveram reestruturação significativa do microbioma. Esse padrão sugere que a inoculação favoreceu o recrutamento diferencial de microrganismos, possivelmente por alterações nos exsudatos radiculares ou pela criação de novos nichos ecológicos, resultando em maior diversificação bacteriana (Santoyo et al., 2025).

Em contraste, R1 e R2 apresentaram menor quantidade de gêneros exclusivos, indicando comunidades mais homogêneas. Esse comportamento pode estar relacionado a um efeito seletivo mais restritivo desses tratamentos, favorecendo grupos específicos de microrganismos e reduzindo a diversidade periférica, o que sugere microbiomas mais simplificados, possivelmente dominados por táxons melhor adaptados às condições impostas (Mendes et al., 2013).

A presença de gêneros compartilhados parcialmente entre os compartimentos evidencia a existência de uma fração intermediária do microbioma, composta por microrganismos sensíveis às condições ambientais e ao manejo. Esses táxons representam uma comunidade flexível, capaz de responder dinamicamente às intervenções experimentais, em contraste com o microbioma core, que permanece estável (Pantigoso et al., 2022).

De forma integrada, a coexistência de um núcleo microbiano conservado com uma comunidade periférica altamente variável demonstra a plasticidade do microbioma associado ao feijoeiro, indicando que a planta mantém um conjunto essencial de microrganismos enquanto permite modificações substanciais na

diversidade bacteriana em resposta aos tratamentos (Shade; Handelsman, 2012). Esses resultados reforçam o potencial da manipulação do microbioma rizosférico como estratégia para modular comunidades microbianas e otimizar sistemas de cultivo baseados em bioinsumos.

A análise da abundância relativa dos gêneros que compõem o microbioma core associado ao feijoeiro revelou uma comunidade bacteriana dominada por poucos táxons principais, acompanhados por um conjunto diverso de gêneros de baixa frequência, agrupados na categoria “Others”, que representou, aproximadamente, metade da abundância total. Entre os gêneros individualmente mais abundantes, destacaram-se o complexo *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, seguido por UTBCD1, *Pseudolabrys*, *Terracidiphilus* e *Dyella*. Outros gêneros relevantes incluíram *Bryobacter*, *Pseudomonas*, *Hyphomicrobium*, *Devosia*, *Priestia*, *Rhizobium*, *Gemmatimonas*, *Mesorhizobium*, *Dongia* e *Dokdonella*, cada um contribuindo com menores proporções para a composição total do microbioma core. Esse padrão indica que, embora poucos gêneros apresentem maior dominância, a comunidade central do feijoeiro é caracterizada por elevada diversidade taxonômica, composta majoritariamente por microrganismos de baixa abundância relativa.

A microbiota vegetal varia entre os diferentes tecidos da planta e é composta, em parte, por bactérias endofíticas capazes de colonizar os tecidos internos sem causar danos ao hospedeiro, pertencentes majoritariamente aos gêneros comuns do solo, como *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus* e *Azospirillum*. Essas rizobactérias desempenham funções importantes na fisiologia vegetal, incluindo a produção de fitormônios, como o ácido indolacético (Khan et al., 2016), a fixação biológica de nitrogênio e a proteção contra patógenos, por meio da indução de defesas da planta, produção de compostos antagonistas e competição por nichos ecológicos (Compant et al., 2010). Nesse contexto, a predominância do complexo *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* no microbioma core do feijoeiro sugere um papel central desse grupo na ecologia da rizosfera e dos tecidos associados à planta. Esses gêneros são amplamente descritos como bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPB), atuando por mecanismos como solubilização de fosfato, produção de fitohormônios e supressão de fitopatógenos, além de apresentarem potencial para fixação biológica de nitrogênio em algumas espécies (Matteoli, 2018). A elevada recorrência desse grupo entre os diferentes compartimentos reforça sua adaptação

ao ambiente do feijoeiro e sua possível contribuição funcional para o desenvolvimento da planta.

A presença de gêneros como *Pseudomonas*, *Devosia*, *Hyphomicrobium* indica um microbioma core funcionalmente diverso, envolvendo microrganismos associados à produção de sideróforos, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio, resistência sistêmica (Sah, 2021). Em particular, *Rhizobium* e *Mesorhizobium* são reconhecidos pela capacidade de estabelecer simbiose fixadora de nitrogênio com leguminosas (Ridvan, 2023), corroborando o papel do microbioma core na nutrição nitrogenada do feijoeiro.

A elevada proporção da categoria “Others” evidencia a contribuição de numerosos gêneros raros, os quais, apesar da baixa abundância individual, podem desempenhar funções ecológicas relevantes, atuando como um reservatório funcional e conferindo maior resiliência ao sistema. Esse fenômeno é frequentemente descrito em comunidades microbianas vegetais, nas quais táxons de baixa frequência participam de processos-chave, especialmente em mudanças ambientais (Shade; Handelsman, 2012).

A microbiota do vegetal abriga bactérias capazes de fornecer proteção indireta contra patógenos; entretanto, os microrganismos associados às raízes parecem desempenhar funções adicionais, especialmente relacionadas à aquisição de nutrientes do solo e ao crescimento vegetal. Dessa forma, a microbiota vegetal emerge como uma característica fundamental da planta, envolvendo interações mutualísticas mediadas por diversos mecanismos bioquímicos, conforme demonstrado em estudos com bactérias promotoras de crescimento e saúde vegetal (Bulgarelli et al., 2013). Nesse contexto, a coexistência de gêneros associados tanto ao solo quanto a ambientes endofíticos sugere que o microbioma core do feijoeiro é composto por microrganismos capazes de transitar entre compartimentos, reforçando a ideia de seleção exercida pela planta hospedeira. Esse processo de filtragem biológica favorece grupos microbianos com maior compatibilidade metabólica com o feijoeiro, contribuindo para o estabelecimento de uma comunidade microbiana estável e funcionalmente integrada.

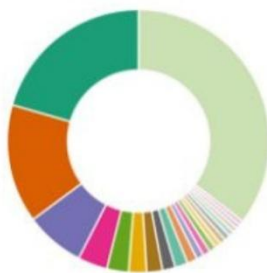
5.1.5. Abundância relativa de gêneros exclusivos por compartimento

Após avaliar os gêneros compartilhados, houve a necessidade de avaliar a ocorrência de táxons exclusivos em cada compartimento, visando compreender quais microrganismos estão associados de forma mais específica a cada um dos compartimentos do sistema radicular do feijoeiro. Para isso, analisou-se a abundância relativa dos gêneros exclusivos de cada compartimento, representada por gráficos do tipo donut na Figura 12, que permite visualizar quais táxons caracterizam cada compartimento e inferir possíveis processos de seleção microbiana.

A composição do microbioma core revelou diferenças marcantes entre os compartimentos raiz, rizosfera e solo. Em todos os ambientes avaliados, observou-se elevada proporção do agrupamento “Others”, especialmente na rizosfera (RZ1 e RZ2) e no solo (S), indicando uma comunidade altamente diversa composta majoritariamente por gêneros de baixa abundância relativa. Esse padrão é característico de microbiomas edáficos, nos quais poucos táxons dominantes coexistem com muitos microrganismos raros (Lynch & Neufeld, 2015).

Nos compartimentos radiculares (R1 e R2), verificou-se menor contribuição de “Others” e maior abundância relativa de gêneros específicos, como *Pseudomonas*, *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, *Massilia*, *Novosphingobium* e *Methylobacterium* (Bulgarelli, 2013). Esses grupos são amplamente descritos como colonizadores eficientes de raízes e incluem bactérias promotoras de crescimento vegetal (Compant, 2010), associadas à produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes e supressão de patógenos. Tal padrão evidencia o efeito seletivo exercido pela planta hospedeira, favorecendo microrganismos com funções benéficas ou adaptadas ao ambiente radicular.

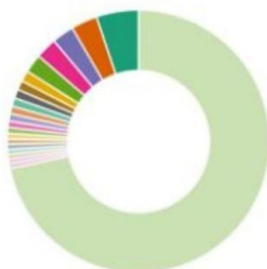
R1



Genus



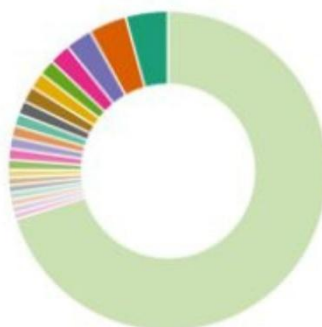
RZ2



Genus



RZ1



Genus



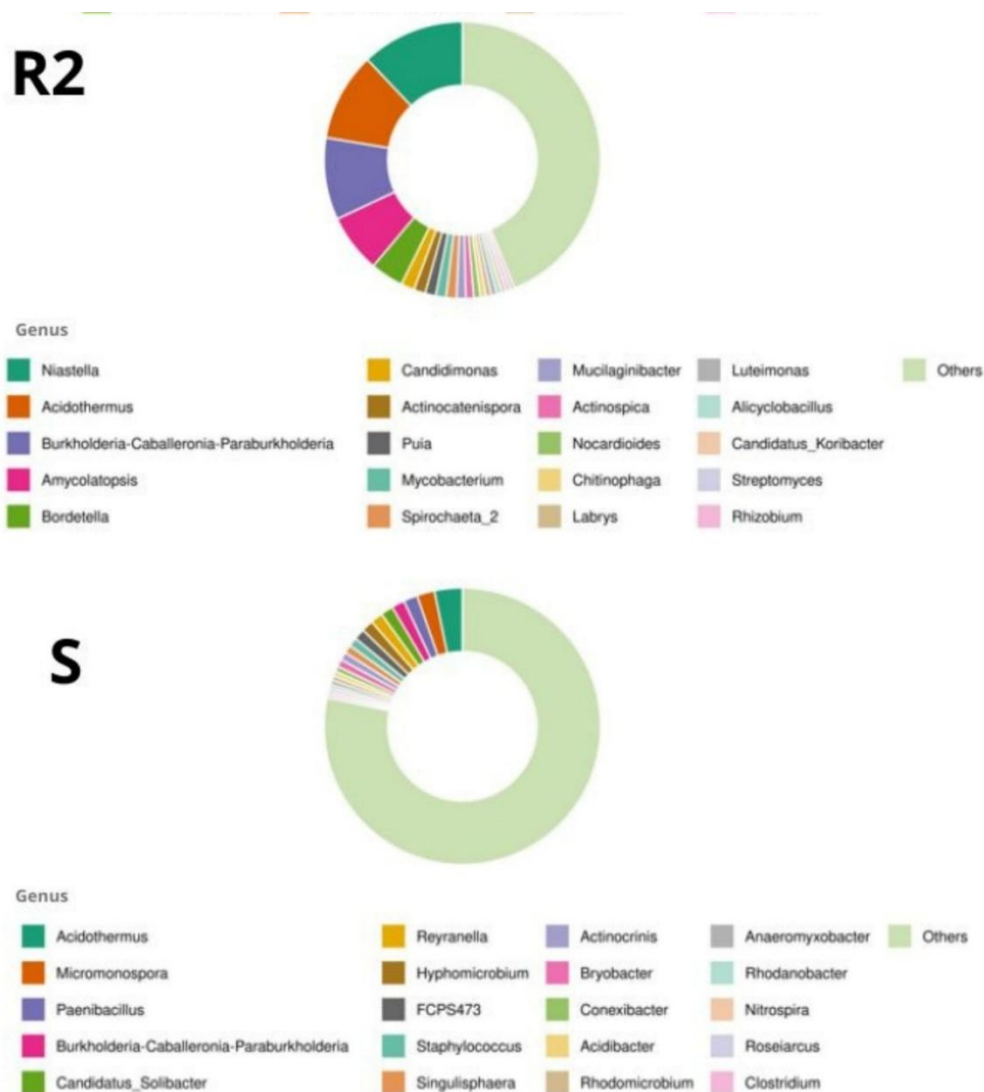


Figura 6: Abundância relativa (%) dos gêneros exclusivos identificados por análise do gene 16S rRNA em cinco compartimentos do sistema solo-planta do feijoeiro. Os gráficos do tipo donut representam a composição relativa de gêneros exclusivos em cada compartimento: R2 (região 2 – coifa), R1 (região 1), RZ1 (rizosfera 1), RZ2 (rizosfera 2) e S (solo). A categoria “Others” representa a soma dos gêneros exclusivos de baixa abundância relativa.

Resultados de meta-análises recentes mostram que a estrutura da comunidade microbiana difere significativamente entre solo em massa e rizosfera, com maior separação de comunidades bacterianas entre esses compartimentos. Além disso, microrganismos estrategistas r, como *Proteobacteria* e *Bacteroidetes*, tendem a ser enriquecidos na rizosfera, enquanto estrategistas K e oligotróficos, como *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae* e *Planctomycetes*, são consistentemente reduzidos no solo rizosférico em comparação ao solo em massa, o que sugere um efeito seletivo marcado mediado pela planta. Essas mudanças são

parcialmente atribuídas à acidificação do solo rizosférico promovida por exsudatos radiculares, que altera as condições químicas e favorece grupos microbianos específicos (Fu et al., 2023).

O solo apresentou a maior complexidade microbiana, com elevada proporção de táxons raros e baixa abundância relativa de gêneros individualizados, característica típica de ambientes edáficos (Jansson; Hofmockel, 2020). Em conjunto, os resultados demonstram um gradiente claro de seleção microbiana, no qual o solo representa o reservatório inicial de diversidade, a rizosfera atua como filtro intermediário e a raiz exerce seleção mais intensa, favorecendo grupos bacterianos potencialmente associados ao desempenho fisiológico do feijoeiro.

5.1.6. Estrutura multivariada da comunidade bacteriana (PCA)

Para avaliar padrões globais na estrutura da comunidade bacteriana e verificar a similaridade entre os compartimentos do sistema solo–planta, realizou-se uma análise multivariada por Análise de Componentes Principais (PCA). Essa abordagem permite reduzir a dimensionalidade dos dados e identificar os principais eixos responsáveis pela variação na composição microbiana, evidenciando agrupamentos e separações entre os compartimentos. Dessa forma, a PCA fornece uma visão integrada do microbioma, destacando diferenças composicionais entre os compartimentos analisados.

A análise de componentes principais (PCA) evidenciou uma clara separação entre os compartimentos amostrados, indicando diferenças na estrutura da comunidade bacteriana associada a cada ambiente. O uso de PCA em estudos de microbioma tem sido amplamente empregado para explorar variação composicional entre ambientes amostrais. O componente principal 1 (PC1) explicou 32,7% da variação total, enquanto o componente principal 2 (PC2) explicou 14%, perfazendo 46,7% da variabilidade representada nos dois primeiros eixos.

Os compartimentos R1 e R2 agruparam-se no quadrante inferior esquerdo do gráfico, apresentando sobreposição parcial, indicando elevada similaridade na composição bacteriana entre esses compartimentos. O compartimento RZ1 localizou-se predominantemente no quadrante superior esquerdo, separando-se de R1 e R2

principalmente ao longo do eixo PC2, evidenciando uma estrutura microbiana distinta. Esse padrão é consistente com Fernández-González et al. (2019), que observaram separação significativa da diversidade beta entre solos de rizosfera e solos a granel, demonstrando que a rizosfera constitui um compartimento microbiologicamente distinto. De forma semelhante, a separação observada neste estudo entre RZ1 e os compartimentos associados diretamente à raiz sugere um efeito seletivo do sistema radicular sobre a composição bacteriana, resultando em comunidades estruturalmente diferenciadas.

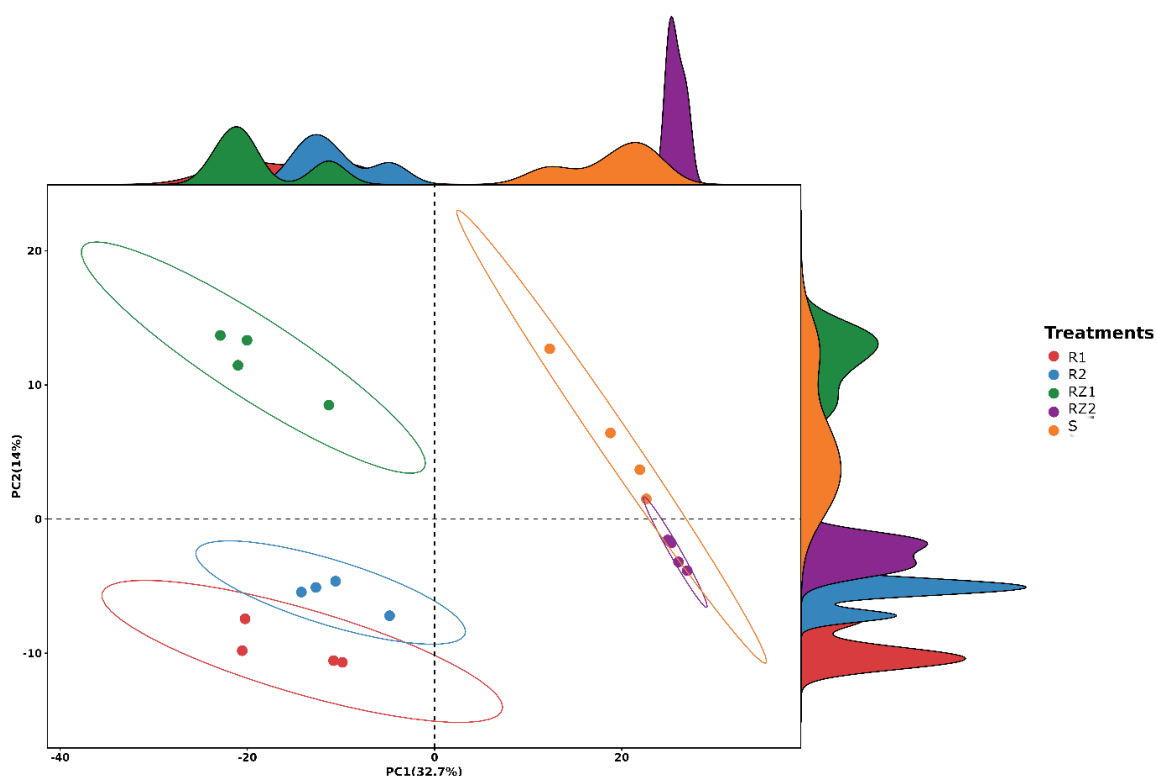


Figura 7. Análise de Componentes Principais (PCA) da comunidade bacteriana baseada no gene 16S rRNA, evidenciando o padrão de ordenação e agrupamento das amostras por compartimento. Os pontos representam as amostras e as elipses indicam a dispersão/agrupamento dentro de cada compartimento. Os percentuais nos eixos indicam a proporção da variação explicada pelos componentes PC1 e PC2. As densidades marginais representam a distribuição das amostras ao longo de cada componente principal.

Os compartimentos S e RZ2 posicionaram-se no lado direito do gráfico (PC1 positivo). RZ2 apresentou um agrupamento mais compacto, com baixa dispersão ao longo do PC2, enquanto o solo (S) exibiu maior dispersão vertical, o que pode ser atribuído à elevada heterogeneidade espacial das comunidades microbianas, associada à existência de múltiplos micro-nichos e à variabilidade de fatores edáficos

em escala fina. Estudos indicam que essa heterogeneidade pode influenciar significativamente a representatividade das amostras e a interpretação da estrutura microbiana (Li et al., 2025), reforçando a necessidade de considerar a variabilidade espacial do solo em análises de comunidades bacterianas.

O padrão geral indica a formação de agrupamentos distintos associados aos diferentes compartimentos do sistema solo–planta, confirmando que a composição bacteriana é fortemente influenciada pelo compartimento amostrado. Essa compartimentalização do microbioma é consistente com outros estudos que mostram que a rizosfera e tecidos vegetais moldam comunidades microbianas distintas em comparação ao solo (Mendes et al., 2013). A proximidade entre R1 e R2 sugere que essas regiões apresentam comunidades microbianas estruturalmente semelhantes, possivelmente em função das condições compartilhadas relacionadas à proximidade com o hospedeiro vegetal, incluindo maior influência de exsudatos radiculares e seleção de microrganismos adaptados à colonização da raiz.

Por sua vez, a separação de RZ1 em relação aos compartimentos associados diretamente à raiz indica que a rizosfera apresenta uma comunidade microbiana intermediária, caracterizada tanto pela influência do sistema radicular quanto pelas propriedades do solo circundante. Elas influenciam de tal forma que podem alterar o pH e estrutura do solo, a disponibilidade de oxigênio e o carbono através de seus exsudatos (Dennis et al., 2010). A maior dispersão observada no solo reforça sua elevada heterogeneidade ecológica, associada à presença de múltiplos nichos microambientais (Fierer et al., 2007).

5.1.7. Inferência funcional do microbioma bacteriano

Embora a composição taxonômica forneça um panorama sobre quais microrganismos compõem a comunidade, ela não revela diretamente o potencial metabólico associado ao microbioma. Dessa forma, a análise de predição funcional foi realizada com o objetivo de identificar diferenças nos perfis metabólicos preditos entre os compartimentos do sistema solo–planta do feijoeiro. Essa abordagem permite inferir possíveis funções relacionadas à nutrição, adaptação e interação planta–microrganismo, contribuindo para interpretar o microbioma não apenas sob o aspecto de composição, mas também quanto ao seu possível papel funcional no ambiente.

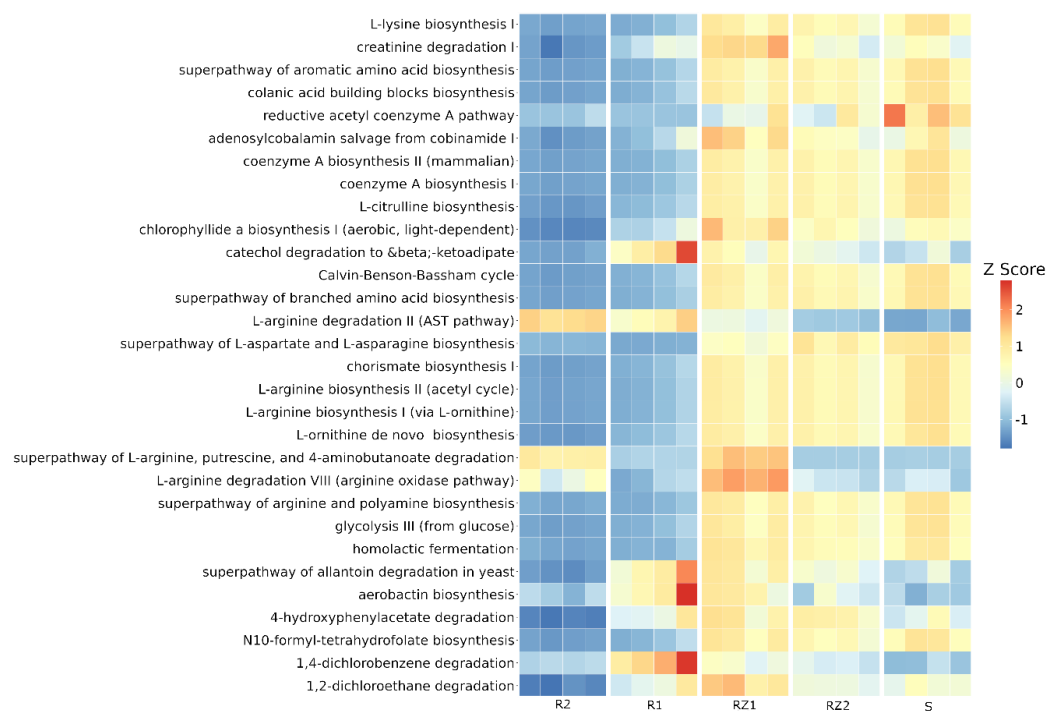


Figura 8. Heatmap do perfil funcional predito do microbioma bacteriano nos compartimentos avaliados (R2, R1, RZ1, RZ2 e S), mostrando vias metabólicas diferencialmente representadas entre compartimentos. As cores indicam o Z-score da abundância relativa predita das vias (azul = menor representação; vermelho = maior representação), conforme escala apresentada.

A análise de abundância funcional relativa, representada pelo heatmap de Z-score, evidenciou diferenças marcantes no potencial metabólico da comunidade microbiana entre os compartimentos avaliados. Observou-se que, nos compartimentos R1 e R2 houve maior enriquecimento de vias relacionadas à biossíntese de aminoácidos, incluindo *L-*lisina, *L-*arginina, *L-*ornitina e aspartato/asparagina, além de rotas associadas ao metabolismo central do carbono, como glicólise e o ciclo de Calvin-Benson-Bassham, indicando um perfil predominantemente anabólico. Esse padrão funcional é descrito em microbiomas de rizosfera como associado à síntese de metabólitos primários essenciais ao crescimento microbiano e à interação planta-microrganismo (Bulgarelli et al., 2013). Estudos prévios também relatam que a expressão de vias biossintéticas de aminoácidos e rotas centrais do carbono pode refletir a adaptação das comunidades microbianas à disponibilidade de exsudatos radiculares e ao ambiente nutritivo da rizosfera (Mendes et al., 2013).

Em contraste, o compartimento RZ1 destacou-se pelo enriquecimento significativo de vias relacionadas à degradação de compostos aromáticos, como catecol, metabolismo de nitrogênio (degradação de arginina e alantoína), biossíntese de N10-formil-tetrahidrofolato e produção de sideróforos, como a aerobactina, sugerindo maior atividade metabólica e especialização funcional, possivelmente associada a um ambiente de maior competição microbiana e maior demanda por nutrientes, especialmente ferro (Janssen, 2006). Essas funções estão diretamente relacionadas a mecanismos de promoção de crescimento vegetal, uma vez que poliaminas derivadas da arginina, a reciclagem de nitrogênio e a produção de sideróforos contribuem para a melhoria da nutrição mineral da planta e para o aumento da tolerância a estresses abióticos (Kusano et al., 2008).

Por sua vez, RZ2 e S apresentaram perfil funcional mais homogêneo, sem enriquecimentos expressivos, indicando uma comunidade com potencial metabólico mais generalista, característica frequentemente associada a ambientes com maior redundância funcional microbiana (Allison; Martiny, 2008). De forma geral, os resultados sugerem que a estrutura funcional do microbioma varia conforme o compartimento, refletindo adaptações ecológicas específicas e reforçando o papel da microbiota associada ao feijoeiro na ciclagem de nutrientes e no suporte fisiológico da planta (Philippot et al., 2013), aspectos fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de manejo agrícola baseadas em insumos biológicos e comunidades sintéticas microbianas (Bakker et al., 2012).

5.2. Caracterização da comunidade microbiana associada ao feijoeiro

5.2.1. Atividade metabólica e diversidade funcional

Para uma avaliação integrada da funcionalidade microbiana associada aos diferentes compartimentos do sistema radicular do feijoeiro, foram analisados, simultaneamente, o desenvolvimento médio da cor dos poços (AWCD) e o índice de diversidade de Shannon ao longo do tempo de incubação em ecoplaquetas Biolog EcoPlate™. Enquanto o AWCD reflete a intensidade metabólica global das comunidades microbianas, o índice de Shannon permite estimar a diversidade funcional com base no padrão de utilização das fontes de carbono. A apresentação conjunta dessas métricas possibilita uma interpretação mais abrangente da dinâmica

metabólica entre compartimentos, uma vez que ambos os parâmetros são complementares e descrevem diferentes dimensões da atividade funcional da microbiota.

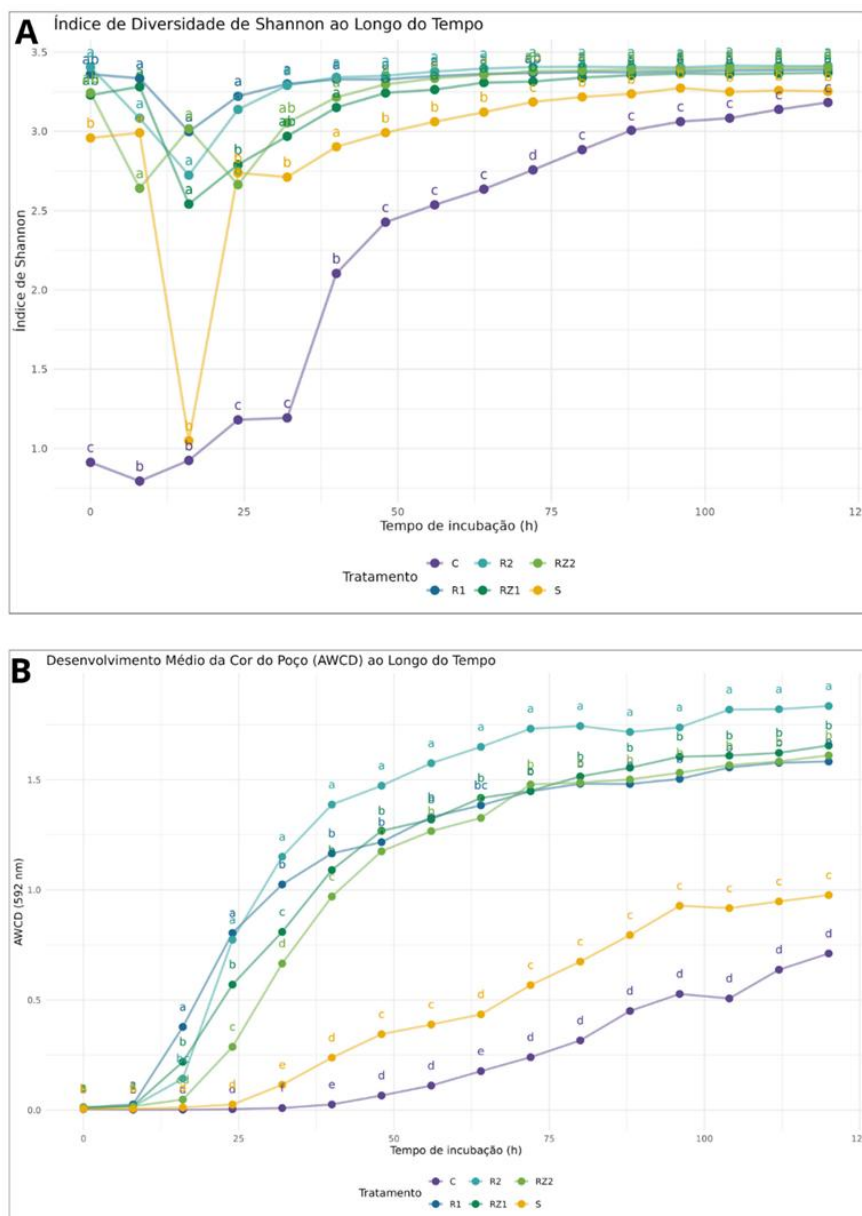


Figura 9. Dinâmica temporal da atividade metabólica global e da diversidade funcional das comunidades microbianas provenientes de diferentes compartimentos do sistema radicular do feijoeiro. (A) Desenvolvimento médio da cor dos poços (AWCD) ao longo do tempo de incubação. (B) Índice de diversidade de Shannon calculado a partir do perfil de utilização das fontes de carbono em ecoplaquetas Biolog EcoPlate™. Os valores representam médias das leituras de absorbância a 592 nm, e letras diferentes indicam diferenças significativas entre compartimentos em cada tempo de avaliação ($p < 0,05$).

A análise conjunta do desenvolvimento médio da cor dos poços (AWCD) e do índice de diversidade de Shannon permite distinguir não apenas diferenças na intensidade metabólica entre compartimentos, mas também variações na complexidade funcional das comunidades microbianas, fornecendo uma visão integrada do efeito radicular sobre a microbiota nativa. Essa análise revelou padrões consistentes entre os compartimentos avaliados, evidenciando diferenças marcantes na atividade metabólica global e na diversidade funcional das comunidades microbianas associadas ao sistema radicular do feijoeiro. De modo geral, os compartimentos diretamente influenciados pelas raízes (R1, R2, RZ1 e RZ2) apresentaram maiores valores de AWCD e Shannon em comparação ao solo não rizosférico (S) e ao controle (C), indicando comunidades mais ativas e funcionalmente mais complexas.

O maior AWCD e índice de Shannon foram observados no compartimento R2, o que é consistente com resultados reportados por Aponte et al (2023), que observaram maior atividade metabólica, atividade enzimática e densidade microbiana na zona radicular de *Baccharis linearis* em rejeitos de mina. Segundo esses autores, esse padrão está associado ao aumento da biomassa microbiana e à maior disponibilidade de matéria orgânica estimulada pelos exsudatos radiculares. De forma semelhante, os resultados obtidos neste estudo indicam que as raízes secundárias do feijoeiro constituem regiões de elevada atividade microbiana, evidenciando o papel do sistema radicular na modulação funcional da microbiota nativa. Essas afirmações corroboram a ideia de que as regiões associadas às raízes secundárias são reconhecidas como *hotspots* microbiológicos, ou seja, microambientes caracterizados por alta atividade metabólica e maior interação entre microrganismos, em comparação ao solo circundante (Kuzakov & Blagodatskaya, 2015).

O compartimento R1 também apresentou elevados números em ambas as análises. Essa região é caracterizada pela liberação contínua de mucilagem e compostos orgânicos (Dennis et al., 2010), além da renovação celular, fatores que favorecem o recrutamento inicial de microrganismos metabolicamente ativos. Assim, R1 pode ser interpretado como uma zona de ativação e seleção da microbiota associada ao feijoeiro, atuando de forma complementar ao compartimento R2 na estruturação funcional das comunidades microbianas ao longo do sistema radicular.

As comunidades rizosféricas (RZ1 e RZ2) exibiram valores de AWCD e Shannon semelhantes aos observados nos compartimentos internos da raiz, confirmando o efeito rizosférico clássico, caracterizado pelo enriquecimento microbiano promovido pela planta hospedeira (Philippot et al., 2013). Esse efeito reflete não apenas maior abundância microbiana, mas também, maior diversidade funcional, uma vez que ambos os parâmetros indicam resposta metabólica frente às múltiplas fontes de carbono (Berg et al., 2009).

O solo não rizosférico apresentou atividade metabólica intermediária, refletindo a presença de microbiota basal, porém, sem o estímulo contínuo proporcionado pelos exsudatos radiculares. No caso do índice de Shannon, observou-se uma queda inicial no solo, a explicação para isso é que o sistema Biolog tende a favorecer microrganismos de crescimento rápido, uma vez que as condições das ecoplacas são ricas em nutrientes, resultando em dominância inicial de bactérias copiotróficas sobre aquelas de crescimento mais lento, comumente predominantes em solos não rizosféricos, por isso, observa-se atividade predominante de poucos grupos oportunistas, enquanto microrganismos de crescimento mais lento passam a contribuir para o metabolismo apenas após um período de adaptação (Garland & Mills, 1991; PrestoN-Mafham et al., 2002).

O controle manteve os menores valores para ambas as métricas ao longo do período avaliado, evidenciando baixa atividade metabólica e menor complexidade funcional na ausência de influência vegetal direta. Enquanto o AWCD reduzido reflete limitada intensidade metabólica global, os baixos valores de Shannon indicam participação restrita de grupos microbianos no consumo das fontes de carbono, resultando em um perfil funcional simplificado. Esse padrão é consistente com a ausência de estímulo por exsudatos radiculares (Bais et al., 2006; Philippot et al., 2013), reconhecidos como determinantes para a ativação e diversificação metabólica da microbiota rizosférica.

5.2.2. Dinâmica temporal do consumo das classes de carbono

Para aprofundar a compreensão das diferenças funcionais entre os compartimentos do sistema radicular do feijoeiro, avaliou-se o consumo agregado das principais classes de carbono presentes nas ecoplacas após 120 horas de incubação.

Essa análise permite identificar preferências metabólicas das comunidades microbianas, evidenciando como regiões específicas da raiz e suas rizosferas modulam o uso de diferentes tipos de substratos, em comparação ao solo não rizosférico e ao controle.

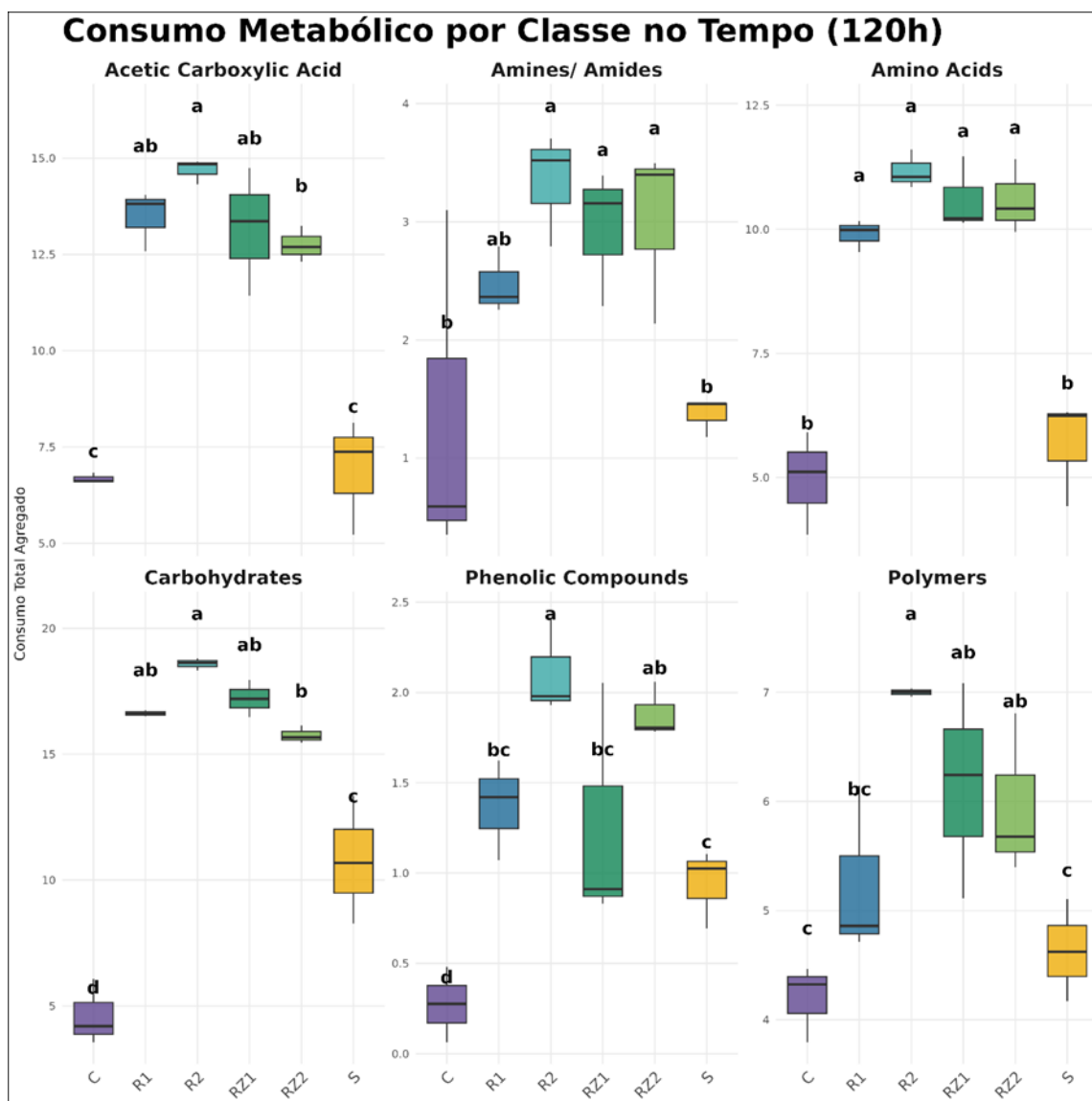


Figura 10. Consumo metabólico agregado das diferentes classes de carbono (ácidos carboxílicos/acéticos, aminas/amidas, aminoácidos, carboidratos, compostos fenólicos e polímeros) pelas comunidades microbianas provenientes dos compartimentos, após 120 horas de incubação em ecoplaças Biolog EcoPlate™. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre compartimentos dentro de cada classe de substrato ($p < 0,05$).

O consumo das classes de carbono após 120 horas evidenciou padrões metabólicos distintos entre os compartimentos avaliados, com maior utilização da

maioria das classes nos compartimentos associados às raízes e suas rizosferas, em comparação ao solo não rizosférico e ao controle.

O elevado consumo de carboidratos, aminoácidos e ácidos carboxílicos em R1 e R2 indica intensa utilização de compostos tipicamente associados aos exsudatos radiculares, que incluem, principalmente, açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos (Badri; Vivanco, 2009). Esses compostos representam importantes fontes de energia e nitrogênio para microrganismos copiotróficos (Fierer et al., 2007), além de desempenharem papel central na ciclagem de nutrientes e nas interações planta-microrganismo (Jones et al., 2009)

As rizosferas RZ1 e RZ2 exibiram perfis metabólicos semelhantes aos observados nas regiões internas da raiz, especialmente para carboidratos, aminoácidos e polímeros, indicando forte influência da planta sobre o solo adjacente. Esse comportamento confirma o efeito rizosférico, caracterizado pelo enriquecimento funcional da microbiota próxima às raízes, evidenciando que a modulação metabólica não se restringe ao interior radicular, estendendo-se ao ambiente circundante.

As rizosferas RZ1 e RZ2 exibiram perfis metabólicos semelhantes aos observados nas regiões internas da raiz, especialmente para carboidratos, aminoácidos e polímeros, indicando forte influência da planta sobre o solo adjacente (Marschner et al., 2001). Esse comportamento confirma o efeito rizosférico, caracterizado pelo enriquecimento funcional da microbiota próxima às raízes, evidenciando que a modulação metabólica não se restringe ao interior radicular, estendendo-se ao ambiente circundante (Smalla et al., 2001)

O maior consumo de polímeros em R2, RZ1 e RZ2 sugere maior capacidade dessas comunidades em degradar compostos mais complexos, indicando maior versatilidade metabólica nesses compartimentos (Berg et al., 2009) De forma semelhante, o maior consumo de compostos fenólicos em R2 e RZ2 aponta para a presença de microrganismos capazes de metabolizar moléculas mais recalcitrantes, frequentemente associadas ao metabolismo secundário vegetal (Abdel-Hamid et al., 2013). Em contraste, o solo não rizosférico apresentou consumo intermediário para a maioria das classes, enquanto o controle exibiu os menores valores em todas as categorias avaliadas, refletindo baixa atividade metabólica e menor diversidade funcional na ausência da influência direta das raízes.

5.2.3. Perfil de utilização dos substratos aos 120 h

Para detalhar o perfil metabólico das comunidades microbianas associadas aos diferentes compartimentos do sistema radicular do feijoeiro, analisou-se o padrão de consumo individual das fontes de carbono das ecoplacas após 120 horas de incubação. Essa abordagem permite identificar substratos específicos preferencialmente utilizados em cada compartimento, fornecendo uma visão mais refinada da funcionalidade microbiana e evidenciando a influência da planta na seleção metabólica da microbiota nativa.

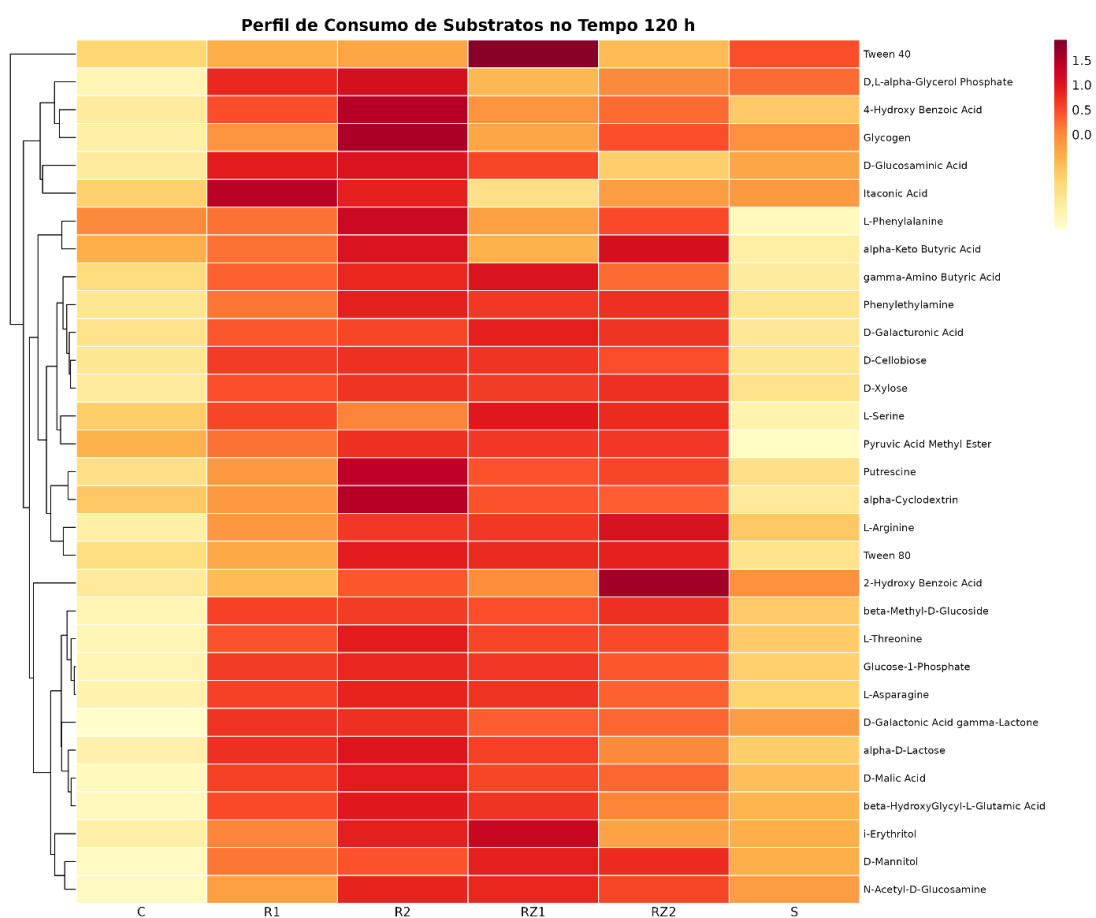


Figura 11. *Heatmap* do perfil de consumo das fontes individuais de carbono pelas comunidades microbianas provenientes dos diferentes compartimentos após 120 horas de incubação em ecoplacas Biolog EcoPlate™. As cores indicam a intensidade relativa de utilização dos substratos, variando de amarelo (menor consumo) a vermelho (maior consumo). O dendrograma representa o agrupamento hierárquico dos compartimentos com base na similaridade metabólica dos perfis de utilização de carbono.

O *heatmap* evidenciou padrões específicos de utilização de substratos individuais entre os compartimentos avaliados, com clara separação entre os

ambientes associados às raízes (R1, R2, RZ1 e RZ2) e aqueles sem influência direta da planta (solo e controle), conforme indicado pelo agrupamento hierárquico. O solo não rizosférico exibiu menor intensidade geral de consumo e um perfil mais restrito de substratos (Degens et al., 2000), enquanto o controle apresentou os menores valores para praticamente todas as fontes de carbono avaliadas, refletindo baixa complexidade metabólica.

O compartimento R1 apresentou maior consumo de açúcares simples e aminoácidos, como D-celobiose, D-xilose, L-serina, L-treonina e L-asparagina, indicando uma comunidade adaptada à rápida assimilação de compostos facilmente disponíveis, característica compatível com a intensa liberação de mucilagem e rizodepósitos na região da coifa (Hawes et al., 2016). Esse padrão indica que R1 desempenha papel central no recrutamento inicial e na seleção funcional da comunidade microbiana associada (Walker et al., 2003). O compartimento R2 destacou-se pelo elevado consumo de uma ampla gama de substratos, incluindo α -ciclodextrina, glicogênio, putrescina, D-manitol, i-eritritol e L-arginina, além de ácidos orgânicos, evidenciando maior versatilidade metabólica e capacidade de degradação de compostos mais complexos (Paterson et al., 2007), pois essa região é funcionalmente ativa. A capacidade de metabolizar tanto compostos simples quanto mais complexos sugere uma comunidade microbiana altamente especializada, envolvida em processos centrais de ciclagem de carbono e nitrogênio (Jones et al., 2004).

RZ1 apresentou maior consumo de derivados de parede celular vegetal, como N-acetil-D-glucosamina, D-celobiose e D-xilose, o que promove a reciclagem de resíduos vegetais e a manutenção de comunidades especializadas na degradação de componentes estruturais (Reay et al., 2012). Em RZ2, observou-se maior utilização de L-arginina e compostos fenólicos, indicando seleção de microrganismos capazes de metabolizar moléculas associadas ao metabolismo secundário vegetal (Badri et al., 2013), característica de uma rizosfera mais funcionalmente madura e com maior complexidade metabólica.

5.3. Atividade enzimática microbiana estimada pelo método FDA

A atividade microbiana variou significativamente entre os diferentes compartimentos da rizosfera, evidenciando padrões contrastantes de atividade metabólica. A análise por FDA permitiu identificar diferenças claras entre as regiões avaliadas, indicando a influência espacial das raízes sobre a dinâmica microbiana do solo.

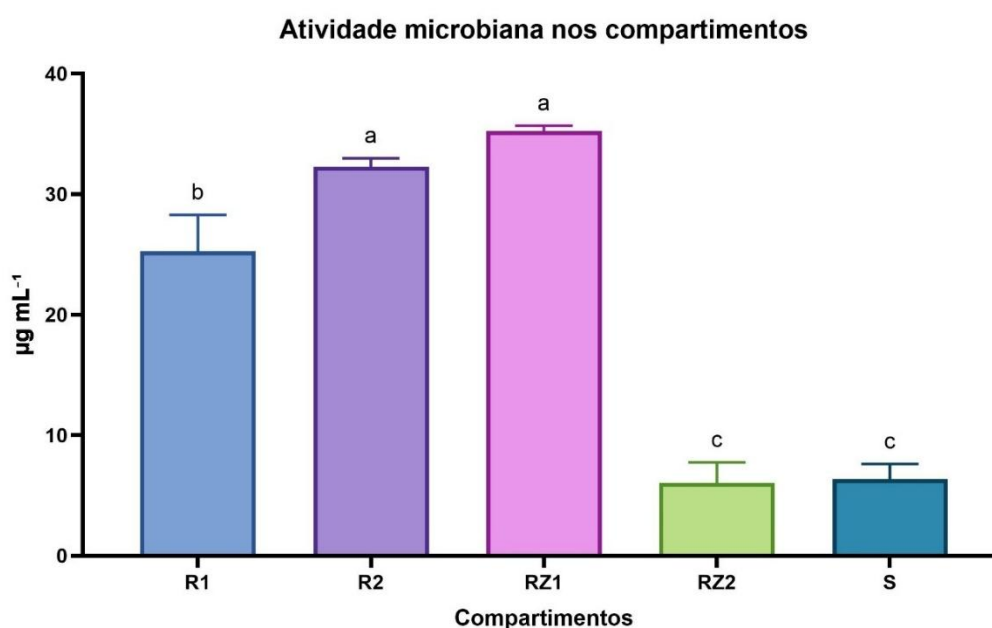


Figura 12: Atividade microbiana estimada pelo método FDA ($\mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$) em diferentes compartimentos radiculares: R1 (coifa), R2 (raízes secundárias), RZ1 (rizosfera da coifa), RZ2 (rizosfera da raiz secundária) e solo não aderido (S). Barras representam média \pm desvio padrão ($n = 3$). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os compartimentos pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), após ANOVA unidirecional ($F(4,10) = 205,2$; $p < 0,0001$).

A atividade microbiana, estimada pelo método FDA, diferiu significativamente entre os compartimentos avaliados. O teste de Tukey ($p \leq 0,05$) agrupou os compartimentos em três grupos estatisticamente distintos. Os maiores valores médios de FDA foram observados em RZ1 ($35,24 \mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$) e R2 ($32,27 \mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$), que não diferiram entre si. O compartimento R1 apresentou valor intermediário ($25,26 \mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$), diferindo significativamente de RZ1 e R2. Já RZ2 ($6,06 \mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$) e o solo não aderido (S) ($6,34 \mu\text{g fluoresceína mL}^{-1}$) apresentaram os menores valores.

mL⁻¹) apresentaram os menores valores, não diferindo entre si, porém, significativamente inferiores aos demais compartimentos.

RZ1 apresentou a maior atividade microbiana, o que pode ser atribuído à intensa liberação de mucilagem e exsudatos orgânicos nessa região da coifa, reconhecida como zona de elevado metabolismo radicular. A coifa representa um importante *hotspot* biológico, caracterizado pela secreção contínua de compostos facilmente assimiláveis, como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos, os quais aumentam a disponibilidade de carbono no solo adjacente e estimulam fortemente o metabolismo microbiano. Dessa forma, observa-se maior atividade enzimática na rizosfera associada ao ápice radicular.

O compartimento R2 também apresentou elevada atividade microbiana. Esse comportamento está relacionado à colonização direta da superfície radicular por comunidades microbianas aderidas, frequentemente organizadas em biofilmes. Esses biofilmes favorecem a permanência dos microrganismos junto ao tecido vegetal, promovendo trocas metabólicas diretas com a planta e resultando em elevada atividade enzimática local. Raízes secundárias, por constituírem tecidos mais maduros e estruturalmente estáveis, favorecem o estabelecimento dessas comunidades, concentrando a atividade microbiana diretamente na raiz.

Em R1, a atividade foi intermediária quando comparada a RZ1 e R2. Esse padrão pode ser explicado pela forte seletividade exercida pela coifa, que atua como um filtro biológico ativo. Embora haja intensa liberação de exsudatos nessa região, a superfície radicular apresenta renovação celular contínua e ativa mecanismos de defesa que limitam a colonização direta por microrganismos. Assim, grande parte da resposta microbiana ocorre na RZ1, onde os exsudatos se acumulam, e não diretamente sobre a coifa.

Por outro lado, RZ2 apresentou baixa atividade microbiana, semelhante à observada no solo. Esse resultado indica redução do efeito rizosférico nessa região, devido à menor liberação de carbono lábil por raízes secundárias mais maduras, limitando a difusão de substratos para o solo adjacente. Assim, enquanto R2 apresenta elevada atividade associada ao rizoplaneo, RZ2 reflete um ambiente com menor estímulo metabólico, aproximando-se do comportamento do solo não aderido.

O solo não aderido (S) apresentou os menores valores, evidenciando a ausência da influência direta dos exsudatos radiculares e reforçando o papel central da raiz na modulação da atividade microbiana.

5.4. Abundância microbiana cultivável

5.4.1. Contagem de bactérias cultiváveis

A quantificação da comunidade microbiana foi realizada por meio da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), método que permite estimar a densidade de microrganismos viáveis e cultiváveis presentes nas amostras. Essa abordagem possibilita avaliar diferenças na abundância microbiana entre os compartimentos, considerando apenas microrganismos capazes de crescer sob as condições do meio de cultivo utilizado. Os valores obtidos foram submetidos à análise estatística, a fim de identificar possíveis variações significativas associadas à origem das amostras.

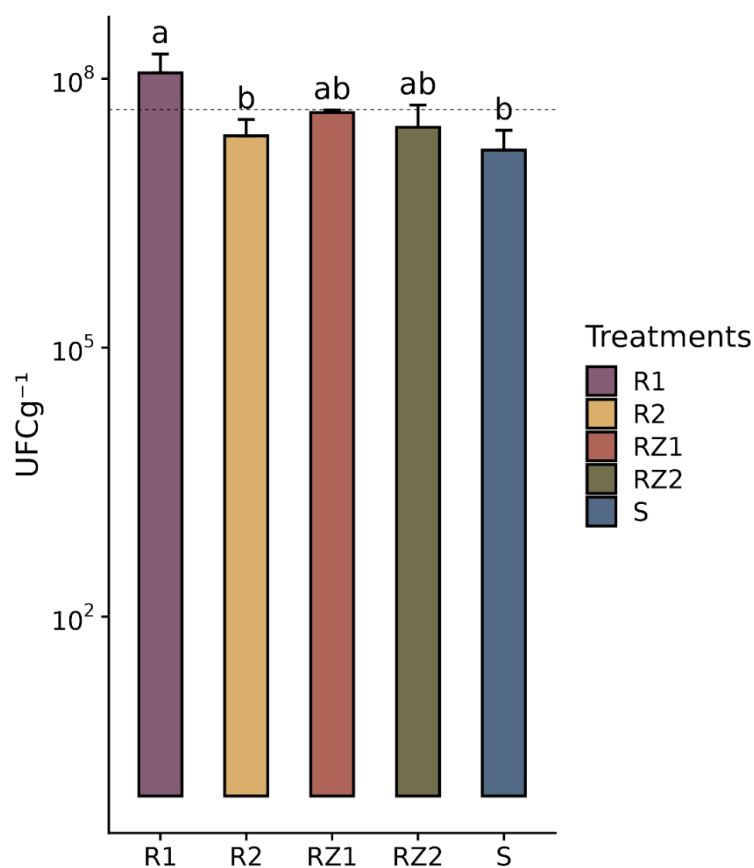


Figura 13: Contagem de microrganismos cultiváveis expressa em UFC g⁻¹ de amostra nos diferentes compartimentos. Os compartimentos analisados foram R1 (região 1), R2 (região 2), RZ1 (rizosfera 1), RZ2 (rizosfera 2) e S (solo). As barras representam a média de três replicatas biológicas (n = 3) e as barras de erro indicam o desvio-padrão. Letras diferentes acima das colunas indicam diferença estatisticamente significativa entre os compartimentos, de acordo com o teste de Tukey (p < 0,05).

A contagem de microrganismos viáveis, expressa em UFC g⁻¹, revelou diferenças significativas entre os compartimentos avaliados, evidenciando variações na densidade da microbiota cultivável em função da origem das amostras. Os valores observados indicam que determinados ambientes apresentam maior capacidade de sustentar populações microbianas ativas quando comparados a outros.

O compartimento R1 apresentou o maior valor médio de UFC, diferindo estatisticamente dos compartimentos R2, S, RZ1 e RZ2 (p < 0,05), o que indica que a região 1 oferece condições mais favoráveis ao crescimento microbiano. A coifa radicular é uma região altamente ativa metabolicamente, responsável pela produção de mucilagem e liberação de células de borda (*border cells*), as quais formam uma matriz rica em compostos orgânicos prontamente assimiláveis pelos microrganismos (Van Veen et al., 2005). Esse microambiente favorece a colonização bacteriana, o que pode explicar os elevados valores de unidades formadoras de colônia observados nesse compartimento.

Os menores valores de UFC observados foram no R2 e no S, o que pode estar relacionado à maior distância em relação à ponta radicular, reconhecida como o principal sítio de exsudação de compostos orgânicos e liberação de células de borda. Estudos demonstram que a exsudação radicular apresenta distribuição espacial heterogênea, concentrando-se predominantemente nos segmentos mais jovens da raiz e diminuindo progressivamente em regiões mais antigas ou submetidas ao desenvolvimento secundário. Nessas porções, a diferenciação tecidual e a função predominantemente estrutural das raízes secundárias reduzem a liberação de exsudatos facilmente assimiláveis, limitando o estímulo à colonização microbiana (Strock, 2020). Adicionalmente, o solo não aderido à raiz carece da influência direta da sinalização química vegetal, apresentando menor influência das raízes e densidade microbiana inferior (Geng et al., 2026) o que pode explicar os menores valores de UFC observados nesses compartimentos.

Estudos com algodão demonstraram que as raízes exercem forte efeito seletivo sobre a comunidade bacteriana da rizosfera, promovendo ou reduzindo a diversidade microbiana conforme as condições do solo, por meio da modulação das propriedades físico-químicas e da liberação de exsudatos radiculares (Qiao et al., 2017). Observou-se maior proporção de bactérias benéficas (como *Bacillus* e *Pseudomonas*) na rizosfera em comparação ao solo não rizosférico, evidenciando o recrutamento seletivo de microrganismos pela planta (Geng et al., 2026). No presente estudo com *P. vulgaris*, a maior contagem de UFC na região próxima à ponta radicular (R1), em contraste com as rizosferas RZ1 e RZ2, sugere que o feijoeiro estabelece um gradiente espacial de seleção microbiana nas rizosferas associadas às diferentes regiões radiculares, associado à maior atividade metabólica e exsudação nas regiões jovens da raiz.

5.4.2. Isolamento bacteriano e obtenção de culturas puras

A partir das colônias obtidas nas placas de cultivo, foram selecionados isolados bacterianos com base na distinção morfológica, considerando principalmente variações de cor e textura, com o objetivo de representar a diversidade fenotípica associada aos diferentes compartimentos do sistema solo-raiz.

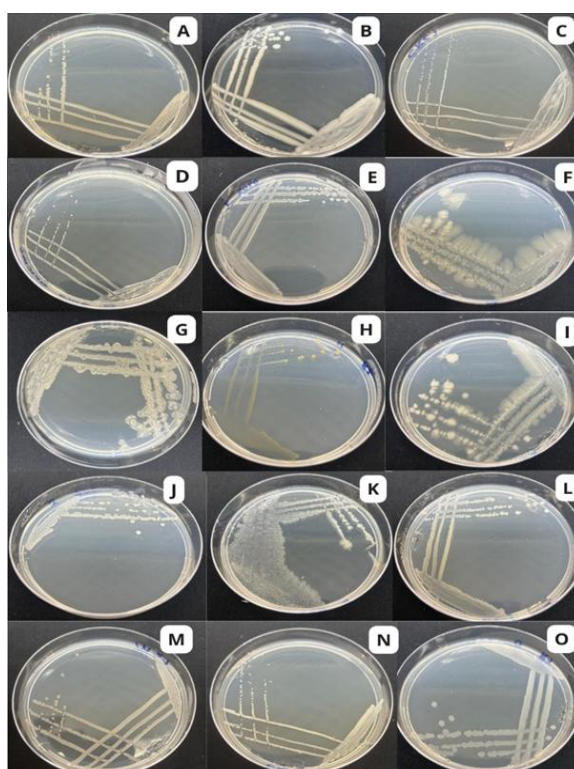


Figura 14: Diversidade morfológica de colônias bacterianas isoladas de diferentes compartimentos do sistema solo-raiz de *Phaseolus vulgaris*. As placas (A–O) ilustram variações fenotípicas quanto à forma, tamanho, coloração, margem e elevação das colônias obtidas em meio sólido, utilizadas como critério para seleção de isolados e obtenção de culturas puras.

O processo de isolamento resultou na obtenção de colônias com ampla diversidade morfológica, evidenciada por diferenças em forma, tamanho, coloração, margem, elevação e textura. Essa variabilidade indica a presença de diferentes grupos bacterianos na fração cultivável do microbioma associado ao feijoeiro. Observou-se maior diversidade visual de colônias nos compartimentos associados diretamente à raiz e à rizosfera, sugerindo efeito seletivo do sistema radicular sobre a comunidade microbiana. Esse padrão está relacionado à liberação de exsudatos radiculares, que favorecem o estabelecimento de microrganismos específicos nessas regiões. Os isolados obtidos foram submetidos a repicagens sucessivas até a obtenção de culturas puras e utilizados nas análises funcionais subsequentes, permitindo a avaliação do potencial de microrganismos com aplicação como bioinoculantes.

5.5. Microrganismos diazotróficos e potencial de fixação biológica de nitrogênio

5.5.1 Quantificação (NMP) em JNFB

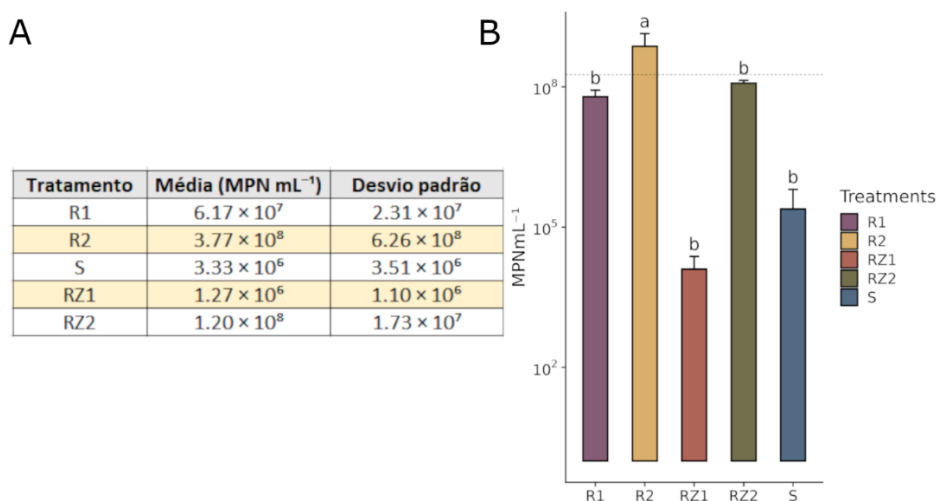


Figura 15: Quantificação de microrganismos diazotróficos cultiváveis em meio JNFB (MPN mL⁻¹) nos diferentes compartimentos. (A) Tabela com os valores médios e respectivos desvios-padrão da estimativa de NMP mL⁻¹ para cada compartimento. (B) Representação gráfica das médias (\pm DP) de NMP mL⁻¹ em escala logarítmica. Barras representam a média de três replicatas biológicas (n = 3) e as barras de erro indicam o desvio-padrão. Letras distintas acima das colunas indicam diferença estatisticamente significativa entre os compartimentos, conforme teste de Tukey (p < 0,05).

A quantificação de microrganismos diazotróficos cultiváveis, estimada pelo método do Número Mais Provável (NMP), revelou diferenças significativas entre os compartimentos avaliados em meio JNFB. O compartimento R2 apresentou o maior valor médio de NMP ($3,77 \times 10^8$ MPN mL⁻¹), diferindo estatisticamente dos demais (p < 0,05). Embora R1, RZ1, RZ2 e S pertençam ao mesmo grupo estatístico (letra "b"), observa-se numericamente valores intermediários em R1 ($6,17 \times 10^7$ MPN mL⁻¹) e RZ2 ($1,20 \times 10^8$ MPN mL⁻¹), enquanto RZ1 ($1,27 \times 10^6$) e S ($3,33 \times 10^6$) apresentam as menores magnitudes absolutas.

O R2 indica maior abundância de bactérias diazotróficas. Esse resultado sugere que as condições edáficas e a disponibilidade de exsudatos radiculares em R2 favorecem esses microrganismos (Baldani et al., 2014), por apresentarem microambiente úmido/microaerófilos com exsudatos ricos em sacarose/manitol, condições ideais para diazotróficos selecionados pelo JNFB.

R1 e RZ2 apresentaram valores numericamente intermediários, indicando população considerável de diazotróficos na região e rizosfera, reforçando o ambiente radicular como nicho favorável à fixação biológica de nitrogênio. R1, mais aeróbio e com mucilagem rica em outros açúcares, favorece grupos alternativos (Canarini et al., 2019), enquanto RZ2 herda influência positiva de R2, rica em sacarose, substrato ideal para JNFB (Galindo-Castañeda et al., 2024). RZ1 e S exibiram os menores valores absolutos. A baixa densidade no solo associa-se à ausência de exsudatos ricos em C, aminoácidos e açúcares da rizosfera (Naheer et al., 2011). Para RZ1, pode refletir estágio fisiológico, microbiota local ou propriedades físico-químicas do solo (Song et al., 2022).

A elevada variabilidade em R2 e S, refletida pelos altos desvios-padrão, indica heterogeneidade do solo comum em ensaios de NMP (Döbereiner et al., 1995).

Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas.). Ainda assim, ambientes radiculares superam o solo não rizosférico.

A estimativa do Número Mais Provável (NMP) de microrganismos cultiváveis em meio LGI evidenciou diferenças significativas entre os compartimentos avaliados. Os valores médios variaram de $1,07 \times 10^7$ a $1,02 \times 10^9$ MPN mL⁻¹, demonstrando elevada densidade microbiana e ampla variação entre as origens das amostras.

5.5.2 Quantificação (NMP) em LGI

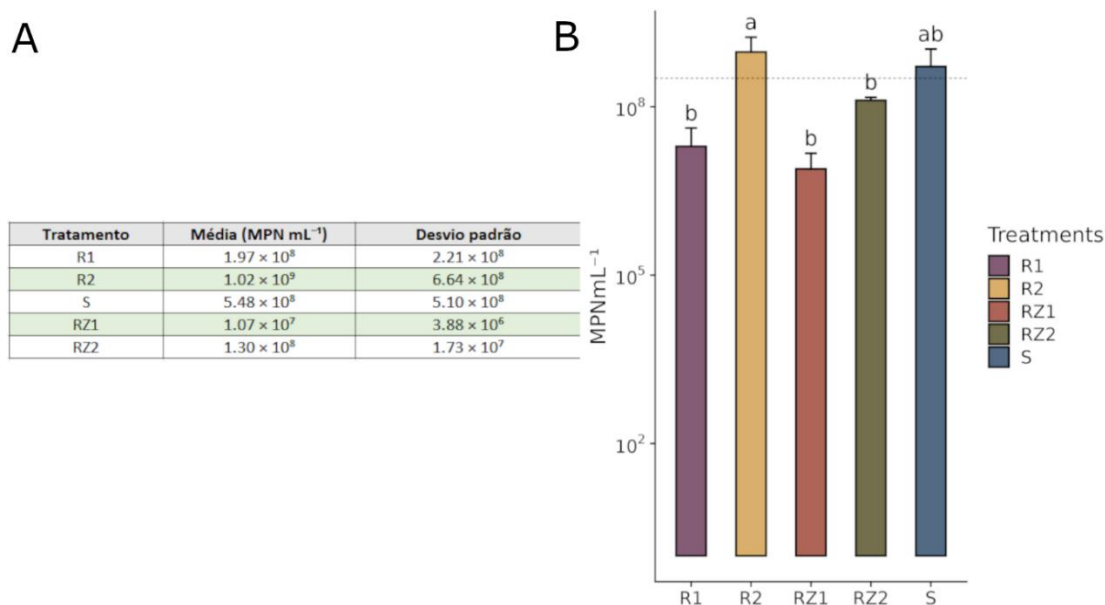


Figura 16. Quantificação de microrganismos cultiváveis em meio LGI (MPN mL⁻¹) nos diferentes compartimentos. (A) Tabela com os valores médios e respectivos desvios-padrão da estimativa de Número Mais Provável (NMP mL⁻¹) para cada compartimento. (B) Representação gráfica das médias (\pm DP) de NMP mL⁻¹ em escala logarítmica. As barras representam a média de três replicatas biológicas ($n = 3$) e as barras de erro indicam o desvio-padrão. Letras diferentes acima das colunas indicam diferença estatisticamente significativa entre os compartimentos, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O compartimento R2 apresentou o maior valor médio de NMP ($1,02 \times 10^9$ MPN mL⁻¹), diferindo significativamente de R1, RZ1 e RZ2, mas semelhante ao S (letras Tukey, $p < 0,05$). Isso indica que R2 e S abrigam populações adaptadas ao LGI, ambiente com alto malato e baixo nitrogênio, mais abundantes em raízes basais e solo oligotrófico do que em rizosferas competitivas (Baldani et al., 2005).

O R1 e RZ2 apresentaram valores intermediários de NMP ($1,97 \times 10^8$ e $1,30 \times 10^8$ MPN mL⁻¹), no mesmo grupo estatístico. O R1 contribui por mucilagem rica em malato/glucose, enquanto RZ2 herda exsudatos persistentes da raiz secundária, ambos nichos estáveis para diazotróficos de vida livre (Bagwell et al., 1998). Esses resultados indicam que tanto a região quanto a rizosfera contribuem para a manutenção de populações microbianas expressivas, embora em menor magnitude quando comparadas ao compartimento R2.

Por outro lado, o compartimento RZ1 apresentou o menor valor médio de NMP ($1,07 \times 10^7$ MPN mL⁻¹), diferindo significativamente de R2 e S. A menor abundância pode relacionar-se à competição intensa por rizóbios simbióticos, que são dominantes da região apical, que não apresentam bom crescimento em LGI, ou menor adaptação de diazotróficos de vida livre ao malato ácido do meio em RZ1 mais aeróbia e com mucilagem fresca (Bagwell et al., 1998)

5.5.3 Comparação JNFb × LGI

As diferenças observadas entre os valores de NMP obtidos nos meios JNFB e LGI refletem o caráter seletivo distinto de cada meio de cultivo e a possibilidade de comparar diferentes dimensões da comunidade microbiana associada ao solo e à rizosfera. O meio JNFB, isento de nitrogênio mineral, foi empregado para estimar especificamente o potencial funcional de microrganismos diazotróficos capazes de fixar nitrogênio atmosférico (Baldani et al., 2014). Enquanto o meio LGI permite o crescimento de uma comunidade microbiana mais ampla, menos seletivo, permitindo avaliar a abundância de microrganismos cultiváveis de forma mais ampla, incluindo populações diazotróficas facultativas e microrganismos não fixadores (Marin et al., 1999). Dessa forma, a comparação entre os dois meios possibilitou distinguir ambientes com elevada densidade microbiana daqueles com maior potencial funcional para a fixação biológica de nitrogênio, evidenciando que abundância microbiana e capacidade funcional nem sempre estão diretamente associadas, porque o JNFB quantificou a fração funcional capaz de fixar o nitrogênio, já o LGI refletiu a comunidade cultivável de forma mais ampla.

5.6. Caracterização do *Rhizobium* e condições experimentais

A utilização de rizóbios na agricultura tem como objetivo principal potencializar a fixação biológica de nitrogênio, reduzindo a dependência de fertilizantes nitrogenados. Para que esse processo ocorra de forma eficiente, é essencial que os microrganismos apresentem elevada viabilidade nos substratos utilizados como veículos de inoculação. A turfa é amplamente empregada como carreador de rizóbios, sendo sua qualidade frequentemente associada à densidade de bactérias viáveis. Dessa forma, nesta seção são apresentados os resultados referentes à densidade de *Rhizobium* em turfa, determinados por contagem de unidades formadoras de colônias.

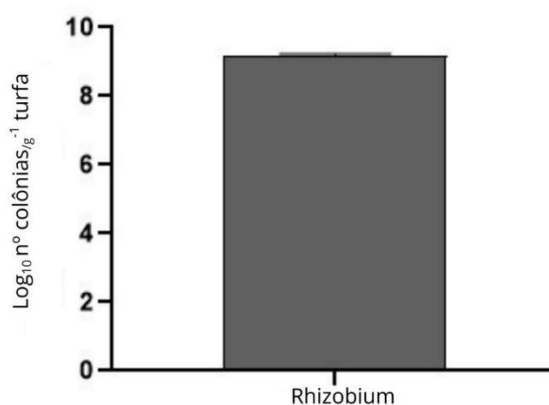


Figura 17. Densidade de *Rhizobium* em turfa determinada por contagem de unidades formadoras de colônias (UFC g⁻¹), obtidas em meio semissólido. Os dados foram transformados em log₁₀ e expressos como média ± desvio-padrão (n = 3).

A formulação do isolado turfoso apresentou alta densidade populacional de *Rhizobium*, alcançando, aproximadamente, 10⁹ células g⁻¹ de turfa. Esse valor atende os requisitos mínimos estabelecidos pela Instrução Normativa MAPA nº 30/2010 para inoculantes comerciais ($\geq 10^8$ UFC g⁻¹), garantindo viabilidade suficiente para aplicação em sementes de feijoeiro. A concentração de 10⁹ células g⁻¹ obtida na turfa é adequada para garantir eficiência na nodulação e fixação biológica de nitrogênio (FBN) em *P. vulgaris*, especialmente quando associada às bactérias diazotróficas isoladas da própria rizosfera do feijoeiro. Estudos demonstram que inoculantes turfosos com $\geq 10^8$ UFC g⁻¹ mantêm viabilidade por até seis meses e promovem acúmulo de N superior em 20-40% em relação ao não inoculado (Barbosa et al., 2015). A turfa esterilizada atua como excelente veículo por sua capacidade de retenção de

umidade e proteção das células bacterianas contra oscilações ambientais, permitindo adesão eficiente às sementes durante o processo de infecção (Hungria et al., 2015). Além disso, a baixa variação observada entre as repetições sugere uniformidade na distribuição das bactérias no substrato, o que é desejável em formulações destinadas à inoculação agrícola. A homogeneidade populacional é um aspecto importante, pois reduz variações na dose de microrganismos aplicados e aumenta a previsibilidade da resposta das plantas inoculadas.

5.7. Parâmetros agrônômicos

5.7.1. Crescimento vegetativo de plantas de feijão sob tratamentos bacterianos

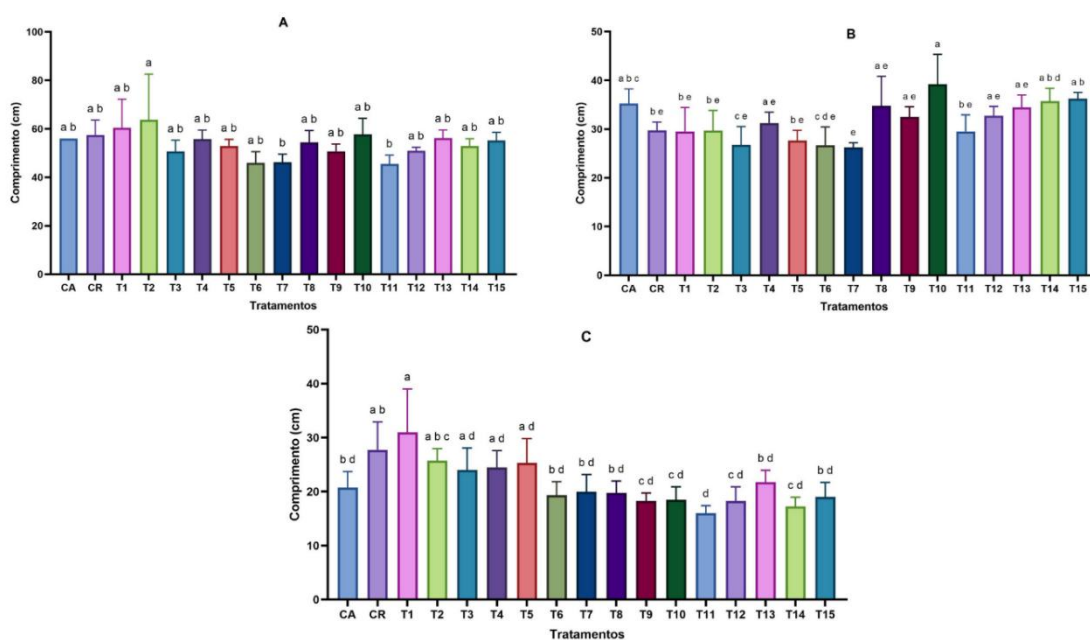


Figura 18: Crescimento vegetativo de plantas de feijão submetidas ao controle absoluto (CA), controle relativo com *Rhizobium* (CR) e diferentes isolados bacterianos provenientes de distintos compartimentos. (A) Altura das plantas; (B) comprimento da parte aérea; (C) comprimento radicular. Barras representam média \pm desvio-padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para a altura das plantas (Figura A), o tratamento T2, isolado da RZ1, apresentou a maior média, diferindo estatisticamente dos tratamentos T7 de RZ2 e T11 de RZ2, que apresentaram os menores valores, enquanto os controles permaneceram em grupos intermediários. Em relação ao comprimento da parte aérea (Figura B), o tratamento T10, proveniente de R2, destacou-se com valor

significativamente superior ao controle relativo e a diversos outros tratamentos, ao passo que T7, também de R2, apresentou o menor desempenho. Quanto ao comprimento radicular (Figura C), o tratamento T1 de R1 promoveu maior desenvolvimento das raízes, diferindo do controle absoluto e de vários isolados, enquanto T11 da RZ2 apresentou o menor valor. De modo geral, observou-se ampla variabilidade entre os tratamentos, com respostas distintas mesmo entre isolados provenientes do mesmo compartimento.

Os resultados evidenciam que os isolados bacterianos exerceram influência diferenciada sobre o crescimento vegetativo do feijoeiro, destacando-se, principalmente, aqueles provenientes da rizosfera e de regiões específicas da raiz. O desempenho superior de T1 e T2 de R1, e de T10 de R2, sugere que bactérias adaptadas às diferentes regiões radiculares possuem maior capacidade de promover crescimento. Esse efeito pode ocorrer por meio da produção de fitormônios, aumento da disponibilidade de nutrientes ou estímulo direto ao desenvolvimento radicular (Bhattacharyya; Jha., 2012) refletindo a especificidade da interação planta–microrganismo.

Isolados provenientes de RZ1 e de RZ2 também mostraram tendência a promover crescimento, embora de forma menos consistente, enquanto isolados provenientes diretamente do solo (S) apresentaram efeito mais limitado. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores que relatam que PGPR (bactérias promotoras de crescimento vegetal) afetam principalmente o desenvolvimento radicular (Vessey, 2003), podendo modular o crescimento da parte aérea secundariamente.

A superioridade de alguns isolados em relação ao controle relativo, inoculado com *Rhizobium*, indica que microrganismos nativos podem apresentar potencial igual ou superior ao inoculante simbiótico convencional, especialmente no estímulo ao crescimento da parte aérea e radicular. Em contrapartida, tratamentos como T7 e T11 apresentaram desempenho inferior, evidenciando que nem todos os isolados exercem efeito promotor, podendo ocorrer ausência de compatibilidade planta–bactéria ou baixa eficiência metabólica.

Em termos de biomassa fresca, a aplicação dos diferentes isolados bacterianos influenciou significativamente a produção de biomassa das plantas de

feijão, tanto na parte aérea ($F = 2,119$; $p = 0,0227$) quanto no sistema radicular ($F = 5,419$; $p < 0,0001$). A análise de variância (ANOVA) indicou diferenças globais entre todos os tratamentos, incluindo os controles e os isolados, mas não especificou quais tratamentos se diferenciavam individualmente.

5.7.2. Produção de biomassa fresca e seca de plantas de feijão

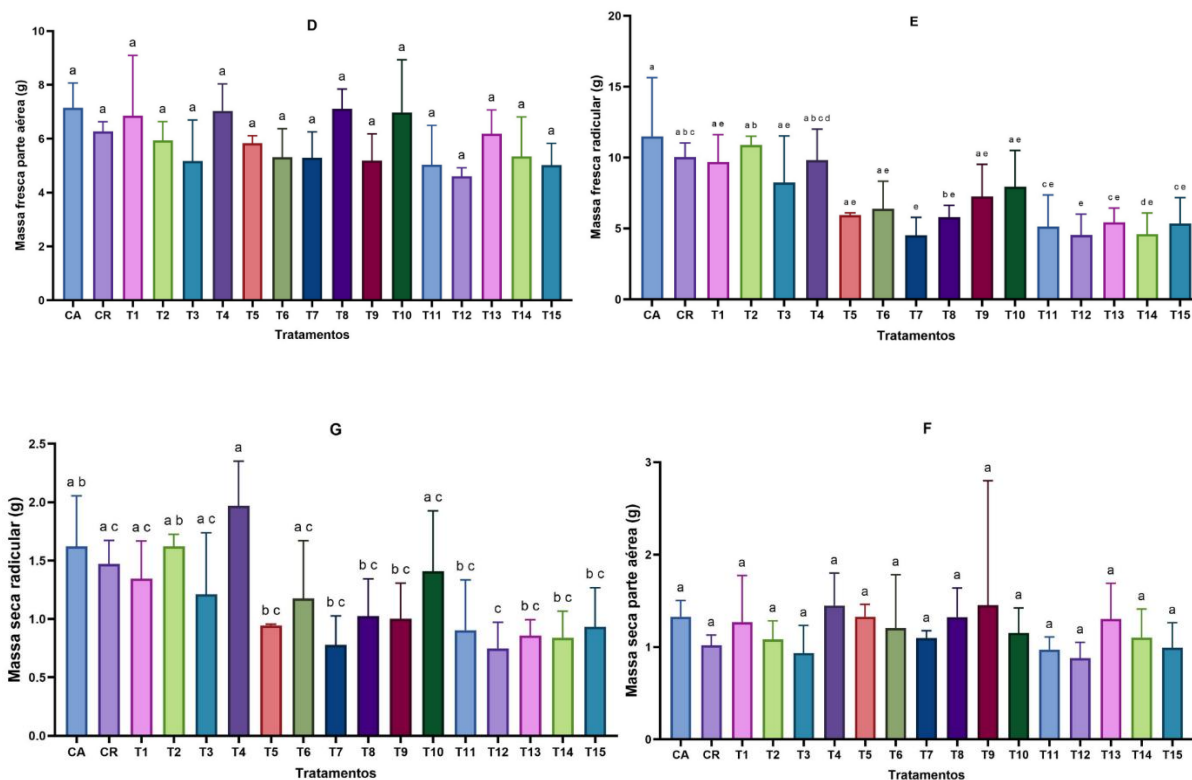


Figura 19: Produção de biomassa fresca de plantas de feijão submetidas ao controle absoluto (CA), controle relativo com *Rhizobium* (CR) e diferentes isolados bacterianos provenientes de distintos compartimentos. (FD) massa fresca da parte aérea; (E) massa fresca radicular, massa seca da parte aérea (F); massa seca radicular (G). Barras representam média \pm desvio-padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No teste de Tukey, a massa fresca da parte aérea (Figura D) não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos, mesmo com a significância global apontada pela ANOVA, indicando que os isolados bacterianos avaliados não foram suficientes para promover aumento significativo da biomassa aérea em relação aos controles.

Por outro lado, a massa fresca radicular (Figura E) evidenciou respostas diferenciadas entre os tratamentos. O controle absoluto (CA) apresentou a maior média, diferindo estatisticamente de diversos isolados, incluindo T7 (região 2), T11 e T12 (rizosfera 2) e T13, T14 e T15 (região 1), que apresentaram os menores valores. Os demais tratamentos ocuparam médias intermediárias, indicando efeitos contrastantes sobre o acúmulo de biomassa radicular.

A menor biomassa radicular observada em alguns tratamentos pode estar relacionada à competição inicial por nutrientes entre a planta e os microrganismos ou à baixa compatibilidade entre certos isolados e a planta hospedeira, possivelmente decorrente de diferenças na seletividade dos exsudatos radiculares, que favorecem o estabelecimento de algumas bactérias em detrimento de outras (Badri; Vivanco, 2009). Além disso, a origem dos isolados parece influenciar diretamente sua capacidade de estimular o desenvolvimento radicular, sendo que isolados provenientes de regiões menos ativas na absorção inicial ou do solo (S) apresentaram efeito mais limitado.

Os isolados T1 e T2, provenientes da região 1 da raiz (coifa, R1), e o isolado T10, da região 2 das raízes secundárias (R2), destacaram-se no estímulo ao crescimento radicular, indicando que bactérias adaptadas às regiões radiculares específicas possuem maior capacidade promotora. Os isolados provenientes da rizosfera (RZ1 e RZ2) também apresentaram efeito positivo, porém, menos consistente, reforçando a especificidade das interações planta–bactéria.

Em relação à massa seca, a ANOVA da parte aérea (Figura F) não revelou efeito significativo dos tratamentos bacterianos ($F = 0,6514$; $P = 0,8252$), e o teste de Tukey confirmou que todas as médias pertencem ao mesmo grupo. Ou seja, os isolados testados não foram capazes de aumentar a produção de biomassa seca da parte aérea acima dos controles.

Já a massa seca radicular (Figura G) apresentou efeito significativo ($F = 4,318$; $P < 0,0001$), com destaque para os isolados T4 e T10, que acumularam maior biomassa seca nas raízes em comparação a T7, T11 e T12. Esse padrão evidencia que determinados bioinsumos podem atuar de forma localizada, estimulando o crescimento radicular mesmo quando não há incremento na parte aérea.

O comportamento observado sugere que os efeitos de bioinsumos bacterianos se manifestam preferencialmente no sistema radicular, promovendo absorção de água e nutrientes e fortalecendo a saúde da planta antes de refletirem no crescimento da parte aérea (Solusolo, 2025). A ausência de efeito significativo na parte aérea pode ser explicada pelo estágio de desenvolvimento das plantas, intensidade do estímulo microbiano ou complexidade das interações microbiológicas envolvidas.

De maneira geral, os resultados demonstram que a promoção do crescimento vegetal por bioinóculos é localizada e específica, sendo essencial considerar tanto a origem dos isolados quanto a região da raiz de onde são extraídos. A seleção criteriosa de estirpes com real capacidade promotora torna-se fundamental para o desenvolvimento de bioinoculantes eficientes e com potencial de aplicação prática na cultura do feijão.

5.7.3. Nodulação em plantas de feijão submetidas aos tratamentos bacterianos

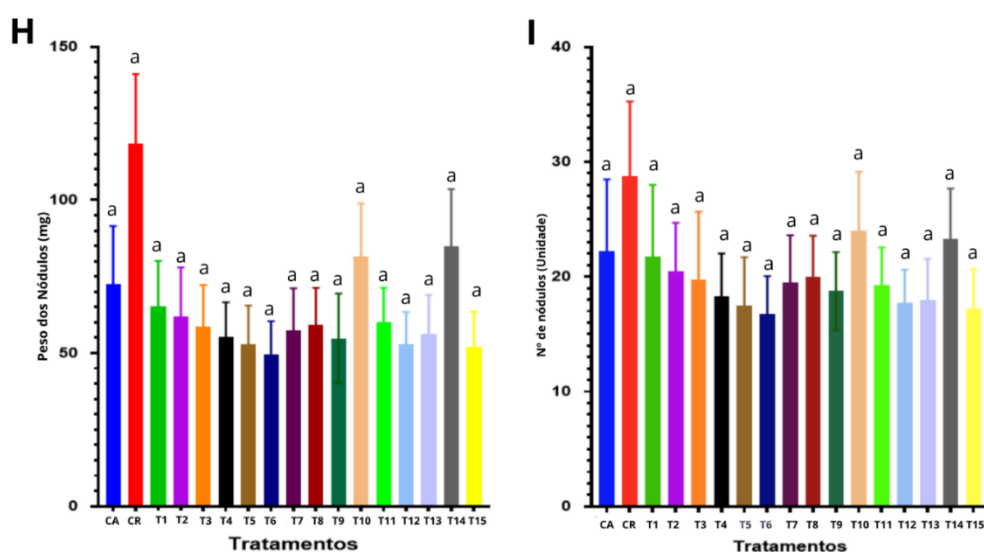


Figura 20. Prancha dos parâmetros relacionados à nodulação em plantas de feijão submetidas a diferentes tratamentos: H - número de nódulos (unidades); I - peso dos nódulos (g). Valores apresentados como médias \pm desvio padrão. Letras acima das barras indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A nodulação das plantas de feijão, avaliada por meio do peso (Figura 20H) e do número de nódulos (Figura 20I), apresentou variações entre os tratamentos em função da origem das bactérias co-inoculadas com *Rhizobium*.

Na Figura 20H (peso dos nódulos), observa-se que o tratamento com inoculação exclusiva de *Rhizobium* (CR) apresentou o maior acúmulo de massa nodular, evidenciando alta eficiência simbiótica. Em relação aos tratamentos co-inoculados, destaca-se o T14 (bactérias da região 1), seguido do T10 (rizosfera 2), que apresentaram os maiores valores dentro desse grupo. Esses resultados sugerem que isolados provenientes da região 1 e da rizosfera 2 possuem maior potencial de interação positiva com o *Rhizobium*, favorecendo o desenvolvimento dos nódulos.

Por outro lado, os menores valores foram observados nos tratamentos T6 (bactérias do solo) e T7 (bactérias da região 2), indicando que esses isolados podem não contribuir de forma eficiente para o incremento da nodulação ou até competir com o *Rhizobium*. De modo geral, os tratamentos com bactérias da rizosfera 1 (T1-T3) e do solo (T4-T6) apresentaram desempenho intermediário, sem ganhos expressivos em relação ao controle com *Rhizobium*.

Na Figura 20I (número de nódulos), o comportamento foi semelhante ao observado para o peso. O tratamento CR novamente apresentou o maior número de nódulos, reforçando a eficiência da inoculação isolada. Entre os tratamentos co-inoculados, os maiores valores foram observados em T14 (região 1) e T10 (rizosfera 2), indicando consistência no desempenho desses isolados em ambos os parâmetros avaliados. Isso sugere que esses microrganismos não apenas favorecem a formação de nódulos, mas também contribuem para o seu desenvolvimento.

Em contrapartida, os menores valores de número de nódulos foram registrados em T6 e T7, corroborando os resultados observados para o peso nodular e indicando baixa eficiência desses isolados na promoção da nodulação. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários, sem diferenças marcantes entre os grupos de origem.

Apesar das diferenças numéricas observadas, todos os tratamentos foram agrupados estatisticamente na mesma classe pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), indicando ausência de diferença significativa. A ausência de diferenças significativas entre os tratamentos co-inoculados pode ser explicada pela dependência das interações entre os microrganismos e as condições experimentais, uma vez que a coinoculação nem sempre resulta em incrementos na nodulação (Hungria et al., 2013).

6.CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que o sistema solo-planta apresenta uma clara compartimentalização microbiana, com diferenças estruturais e funcionais bem definidas entre os compartimentos solo, rizosfera e raiz. Essa organização espacial do microbioma reflete a influência direta do hospedeiro vegetal e das características ambientais de cada compartimento, resultando em comunidades bacterianas com perfis ecológicos distintos.

A raiz destacou-se como o compartimento com maior capacidade de seleção microbiana, abrigando comunidades bacterianas mais semelhantes entre si, porém, metabolicamente mais ativas e funcionalmente especializadas. Esse padrão reflete um processo de filtragem biológica exercido pela planta, favorecendo microrganismos metabolicamente compatíveis com o hospedeiro, especialmente aqueles estimulados pelos exsudatos radiculares.

Por sua vez, a rizosfera apresentou características intermediárias, funcionando como uma zona de transição ecológica com maior heterogeneidade microbiana e atividade metabólica moderada, refletindo a influência simultânea das propriedades do solo e da raiz. Esse ambiente favorece a coexistência de diferentes grupos microbianos, contribuindo para a formação de uma comunidade dinâmica e funcionalmente diversificada.

O solo, por outro lado, apresentou maior riqueza taxonômica e elevada diversidade microbiana, configurando-se como um reservatório de microrganismos. Entretanto, apesar dessa elevada diversidade, a atividade metabólica observada nesse compartimento foi relativamente menor, possivelmente em função da ausência de aporte direto de exsudatos radiculares e da maior heterogeneidade ambiental.

Na avaliação agronômica, os isolados bacterianos apresentaram efeitos específicos sobre o crescimento do feijoeiro, com maior impacto no sistema radicular. Destacaram-se os isolados T1, T2 e T10, que promoveram maior desenvolvimento radicular e acúmulo de biomassa, indicando potencial para favorecer a absorção de água e nutrientes. Não foram observadas diferenças significativas na biomassa da parte aérea, possivelmente em função do estágio de desenvolvimento das plantas.

Em relação à nodulação, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos; contudo, T14 e T10 apresentaram tendência de melhor desempenho em

associação com *Rhizobium*. De modo geral, os resultados evidenciam o potencial de isolados oriundos de nichos radiculares específicos para aplicação como bioinoculantes.

De forma integrada, os resultados demonstram que o feijoeiro exerce forte influência na estruturação de seu microbioma, promovendo uma compartimentalização clara das comunidades bacterianas entre solo, rizosfera e raiz. Essa organização está associada às diferenças no potencial funcional das comunidades e a processos ecológicos importantes, como ciclagem de nutrientes, promoção do crescimento vegetal e interações simbióticas. Assim, os achados fornecem bases científicas para a seleção de microrganismos compatíveis com a cultura e para o desenvolvimento de bioinsumos voltados a sistemas agrícolas mais eficientes e sustentáveis.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allison, S.D., Martiny, J.B.H. (2008) Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105:11512-11519.

Abdel-Hamid, A.M., Solbiati, J.O., Cann, I.K.O. (2013) Insights into lignin degradation and its potential industrial applications. *Advances in Applied Microbiology*, 82:1-28.

Aponte, H., et al. (2023) Biochemical, catabolic and plant growth-promoting activity of microbial communities and bacterial strains from the rhizosphere of *Baccharis linearis* in a Mediterranean mine tailing. *Microorganisms*, 11:2639 DOI doi.org/10.3390/microorganisms11112639.

Backer, R., et al. (2018) Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms, and roadmap. *Frontiers in Plant Science*, 9:1473.

Badri, D.V., Vivanco, J.M. (2009) Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 32:666-681.

Bagwell, C.E., Piceno, Y.M., Ashburne-Lucas, A., Lovell, C.R. (1998) Physiological diversity of culturable diazotrophic bacteria associated with the

rhizosphere of *Spartina alterniflora*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64:1162-1168.

Bais, H.P., et al. (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions. *Annual Review of Plant Biology*, 57:233-266.

Bakker, M.G., Manter, D.K., Vivanco, J.M. (2012) Harnessing the rhizosphere microbiome. *Plant and Soil*, 360:1-13.

Baldani, J.I., Baldani, V.L.D., Döbereiner, J. (2005) Inoculação de plantas com bactérias diazotróficas. In: Fernandes, M.S. (ed.) *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.585-608.

Baldani, J.I., Rouws, L., Cruz, L.M., et al. (2014) A família *Oxalobacteraceae*. In: Rosenberg, E., et al. (ed.) *Os Procariotos*. Berlim: Springer, p.919-974.

Barbosa, J.Z., Consalter, R., Vezzani, F.M., Motta, A.C.V. (2015) Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. *Revista Agrogeoambiental*, 7:103-116. DOI doi.org/10.18406/2316-1817v7n32015688.

Barraza, A., Vizuet-de-Rueda, J.C., Alvarez-Venegas, R. (2020) Highly diverse root endophyte bacterial community in *Phaseolus vulgaris*. *PeerJ*, 8:e9423. DOI doi.org/10.7717/peerj.9423.

Berg, G., Raaijmakers, J.M. (2019) The rhizosphere microbiome: plant–microbial interactions for plant health. *Nature Reviews Microbiology*, 17:661-675.

Berg, G., Smalla, K. (2009) Plant species and soil type shape microbial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 68:1-13.

Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28:1327–1350.

Boon, E., et al. (2014) Interactions in the microbiome: communities of organisms and communities of genes. *FEMS Microbiology Reviews*, 38:90-118.

Bulgarelli, D., et al. (2013) Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64:807-838.

Campanari, G.G., Silva, J.F., Silva, D.J. (2019) Bioinsumos na agricultura: panorama e perspectivas no Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14:e5655.

Canarini, A., et al. (2019) Plant exudation of carbon influences microbial communities. *Trends in Plant Science*, 24:418-427.

Carvalho, L.A.L. (2021) Investigação sobre o efeito do sistema de cultivo na composição da microbiota da cana-de-açúcar. Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 120p.

Checucci, A., Marchetti, M., Mengoni, A., et al. (2020) Biological nitrogen fixation in legumes: mechanisms and interactions with rhizobia. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104:8093–8103. DOI doi.org/10.1007/s00253-020-10823-1.

Coêlho, J. (2023) Caderno setorial ETENE: Feijão. Fortaleza: Banco do Nordeste, 15p.

Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A. (2010) Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42:669–678.

Costa, D.P., et al. (2014) Composição diferencial das comunidades bacterianas na rizosfera de variedades de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38:1694-1702.

Cunha, I.C.M. (2023) Efeito da inoculação de bactérias no microbioma da rizosfera de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) e na promoção de crescimento. Mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, Piracicaba, 160p.

Da Silva Brito, D., Dos Santos, K.F., Da Silva, D.V. (2024) Efeito da nutrição de plantas na resistência a pragas e doenças. *Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro*, 9:1. DOI doi.org/10.61164/rmnm.v9i1.2838.

Da Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. (2007) Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agrônomo, 312p.

Dang, P., et al. (2026) O aquecimento climático de longo prazo reduz substancialmente a riqueza microbiana global do solo. *One Earth*, 9:101511. DOI doi.org/10.1016/j.oneear.2025.101511.

Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P., Vojvodić-Vuković, M. (2000) Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 32:189–196.

Dennis, P.G., Miller, A.J., Hirsch, P.R. (2010) Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits? *FEMS Microbiology Ecology*, 72:313–327.

Dias, M.A.M. (2020) *Fixação biológica de nitrogênio: características moleculares e simbióticas de bactérias nativas do Semiárido brasileiro*. São Paulo: Editora Dialética, 120p.

Díaz-Rodríguez, A.M., et al. (2025) Microbial inoculants in sustainable agriculture: potential, challenges and opportunities. *Plants*, 14:191. DOI doi.org/10.3390/plants14020191.

Döbereiner, J., Andrade, V.O., Marin, V.L.D. (1999) *Protocolos para preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 25p.

Döbereiner, J., Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. (1995) Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: Embrapa, p.39-43.

Dong, C., Jiao, C., Zhang, Z. (2023) Transporte de nanomateriais solo–planta. In: *Nano-Enabled Sustainable and Precision Agriculture*. Amsterdam: Elsevier, p.1-25.

Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., et al. (2015) Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112:E911–E920.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1994) *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: Embrapa, 54p.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2026) *Ater Mais Digital: Inoculantes*. Disponível em: <https://www.atermaisdigital.cnptia.embrapa.br/web/inoculantes>. Acesso em: 04 de maio de 2026.

Fernández-González, A.J., et al. (2019) Defining the root endosphere and rhizosphere microbiomes from the World Olive Germplasm Collection. *Scientific Reports*, 9:20423. DOI doi.org/10.1038/s41598-019-56977-9.

Ferreira, A.G. (2008) Caracterização morfológica, citogenética e palinológica de genótipos de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) - Fabaceae. Mestrado - Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 60p.

Ferreira, S.M.R., Nalepa, K.C. (2013) Avaliação da qualidade do feijão preto. *Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde*, 8:115-124.

Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B. (2007) Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88:1354–1364. DOI doi.org/10.1890/05-1839.

Finkler, R., Pires, A.S. (2018) Anatomia e morfologia vegetal. Porto Alegre: SAGAH. E-book. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/books/9788595028647>. Acesso em: 04 de maio de 2026.

Florencio, C., et al. (2022) Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. *Química Nova*, 45:1133-1145.

Flores, S.W.S. (2015) Composição e funcionalidade do microbioma da rizosfera de feijão selvagem e cultivado. Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba, 145p.

Fu, X., et al. (2023) Critical transition of soil microbial diversity triggered by rhizosphere effects. *Frontiers in Plant Science*, 14:1160.

Galindo-Castañeda, T., et al. (2024) Root traits and rhizosphere interactions shape microbial community assembly in plants. *Journal of Experimental Botany*, 75:594–606.

Garland, J.L., Mills, A.L. (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57:2351–2359.

Geng, J., et al. (2026) Characteristics of rhizosphere and bulk soil microbial communities in pear trees. *PeerJ*, 14:e20627. DOI doi.org/10.7717/peerj.20627.

Gonçalves, L. (2024) O consumo de feijão caiu no Brasil? Paracatu Rural, 12 de janeiro de 2024. Disponível em: <https://www.ibrafe.org/o-consumo-de-feijao-caiu-no-brasil/>. Acesso em: 16 de julho de 2025.

Haichar, F.E.Z., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W. (2014) Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry*, 77:69–80.

Haus, M.J., et al. (2020) Root system architecture and its interaction with soil microorganisms. *Plant and Soil*, 453:115–125.

Hawes, M.C., Gunawardena, U., Miki, D., Zhao, X. (2016) The role of root border cells in plant defense. *Trends in Plant Science*, 21:189–198. DOI doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.005.

Hungria, M., Nogueira, M.A., Araujo, R.S. (2013) Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and *Azospirillum brasilense*: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, 49:791–801. DOI doi.org/10.1007/s00374-013-0814-5.

Hungria, M., Nogueira, M.A., Araujo, R.S. (2015) Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a successful strategy for improving yield. *Agronomy Journal*, 107:2264–2269. DOI doi.org/10.2134/agronj15.0205.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2023) Produção de feijão. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/feijao/br>. Acesso em: 04 de dezembro de 2025.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2024) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: estimativa da safra nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas em 2024. Rio de Janeiro: IBGE, 85p. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/>. Acesso em: 20 de dezembro de 2025.

Janssen, P.H. (2006) Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 72:1719–1728. DOI doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006.

Jansson, J.K., Hofmockel, K.S. (2020) Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, 18:35–46.

Jones, D.L., Hodge, A., Kuzyakov, Y. (2004) Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, 163:459–480.

Jones, D.L., Nguyen, C., Finlay, R.D. (2009) Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface. *Plant and Soil*, 321:5–33.

Kavamura, V.N., et al. (2018) Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 206:46–56.

Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., Takahashi, Y. (2008) Polyamines: essential factors for growth and survival. *Trends in Plant Science*, 13:278–285.

Kuzyakov, Y., Blagodatskaya, E. (2015) Microbial hotspots and hot moments in soil: concept and review. *Soil Biology and Biochemistry*, 83:184–199.

Li, G., Li, X., Jin, T., et al. (2025) Spatial heterogeneity in soil microbial communities impacts their suitability as bioindicators for evaluating productivity in agricultural practices. *Microorganisms*, 13:1160.

Liu, Y., et al. (2023) Deciphering key factors in pathogen-suppressive rhizosphere microbiome assembly. *Frontiers in Plant Science*, 14:1301698.

Lopes, L.S. (2024) Efeito das condições edafoclimáticas na biodiversidade microbiana do solo. Doutorado – Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 180p. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/entities/publication/76bef9b6-0814-4a1b-9b32-93118878b90c>. Acesso em: 15 de novembro de 2025.

Marcante, N.C. (2015) Eficiência de absorção e utilização de fósforo por cultivares de arroz e feijão no Brasil. Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba, 145p.

Marin, V.A., Baldani, V.L.D., Teixeira, K.R.S., Baldani, J.I. (1999) Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 24p. (Série Documentos, 91).

Marschner, P., Yang, C.H., Lieberei, R., Crowley, D.E. (2001) Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 33:1437–1445.

Matteoli, F.P. (2018) Genômica de bactérias promotoras do crescimento vegetal isoladas de vermicompostos. Doutorado – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, 130p.

Mendes, R., Garbeva, P., Raaijmakers, J.M. (2013) The rhizosphere microbiome: importance of beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37:634-663.

Mendes, R., et al. (2024) O papel do microbioma da rizosfera no desenvolvimento e proteção das plantas. In: Santos, C.A., et al. (ed.) *Microbiologia do solo*. 3. ed. Brasília: Embrapa, p.450-475. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1171778/1/OK-cap-19.pdf>. Acesso em: 23 de novembro de 2025

Morales-Santos, M.E., et al. (2017) Características físicas e germinação de sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agrociencia*, 51:1-12.

Moreira, F.S. (2014) Isolamento e caracterização de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal em trigo. Mestrado – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, 85p.

Naher, U.A., et al. (2011) Effect of root exuded specific sugars on biological nitrogen fixation and growth promotion in rice (*Oryza sativa*). *Australian Journal of Crop Science*, 5:1210-1217.

Nunes, C.N., Jansen, A.B., Quináia, S.P. (2022) Otimização da extração de antocianinas em feijão-preto. *Química Nova*, 45:113-120.

Nyssen, D. (2016) Aplicação de inoculante e adubação nitrogenada em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Araras, 45p.

Paterson, E., Sim, A., Davidson, J., Daniell, T.J. (2007) Arbuscular mycorrhizal colonisation promotes a rapid, transient increase in rhizosphere microbial community structure and function. *New Phytologist*, 176:829–841.

Peres, J.R.R., Vidor, C. (1980) Relação entre concentração de células no inoculante e competição por sítios de infecção nodular entre estirpes de *Rhizobium japonicum* em soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 4:44-49.

Pérez-Jaramillo, J.E., et al. (2017) Linking the composition of the rhizosphere microbiome of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to phenotypic, genotypic, and root characteristics. *The ISME Journal*, 11:2244-2257. DOI doi.org/10.1038/ismej.2017.85.

Philippot, L., et al. (2013) Going back to the roots. *Nature Reviews Microbiology*, 11:789-799.

Poppeliers, S.W.M., et al. (2024) High-resolution quantification of rhizosphere microbiome dynamics. *bioRxiv*. DOI doi.org/10.1101/2024.06.21.600027.

Preston-Mafham, J., Boddy, L., Randerson, P.F. (2002) Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique. *FEMS Microbiology Ecology*, 42:1–14.

Qi, S., et al. (2022) Mycorrhizal fungi and phosphorus uptake. *Frontiers in Plant Science*, 13:843132.

Qiao, Q., Wang, F., Zhang, J., et al. (2017) The variation in the rhizosphere microbiome of cotton with soil type, genotype and developmental stage. *Scientific Reports*, 7:3940.

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. (2014) *Biologia vegetal*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856p.

Reis, F.V., et al. (2021) Persistent members of the bean rhizosphere microbiome. *The ISME Journal*, 15:1892-1906.

Rocha, E.N. (2019) Inoculação de *Bacillus subtilis* e tratamento químico em sementes de feijão caupi e feijão comum: lotes, tempo de exposição e doses. *Graduação – [Inserir Instituição], [Inserir Cidade]*, 55p.

Rocha, M.J.C., et al. (2021) Componentes da produção do feijão preto cultivado em solo arenoso em função da inoculação das suas sementes com *Azospirillum brasilense*. *Brazilian Journal of Development*, 7:95385–95396.

Rodrigues, A.A.M. (2015) Aplicação de ferramentas de identificação molecular para microrganismos em processos fermentativos. *Graduação – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Macaé*, 48p.

Rojas-Rojas, F.U., et al. (2020) *Paraburkholderia* em *Phaseolus vulgaris*. Revista Argentina de Agrobiotecnología, 2:1-15.

Rolfe, S.A., Griffiths, J., Ton, J. (2019) Crying out for help with root exudates. Trends in Plant Science, 24:1127-1139. DOI doi.org/10.1016/j.tplants.2019.08.002.

Sah, S., Krishnani, S., Singh, R. (2021) *Pseudomonas*-mediated activities. Current Research in Microbial Sciences, 2:100065.

Saharan, B.S., Nehra, V. (2011) Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life Sciences and Medicine Research, 2011:LSMR-21.

Santos, A.B., Silva, C.R., Oliveira, M.L. (2018) Metagenomics reveals microbial diversity and functional potential in soil environments. Applied Soil Ecology, 130:123–130.

Sarkar, S., et al. (2026) Common bean in a changing world. Trends in Food Science & Technology, 168:104520.

Schleder, E.J.D., Aguiar, E.B., Matias, R. (2020) Material didático: introdução à taxonomia e sistemática vegetal. [Inserir Cidade]: Editora Científica, 60p.

Schnürer, A., Rosswall, T. (1982) Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. Applied and Environmental Microbiology, 43:1256–1261.

Shade, A., Handelsman, J. (2012) Beyond the Venn diagram. Environmental Microbiology, 14:4-12.

Silva, G.A.A. (2025) Influência do tratamento de sementes de feijão com espécies de *Bacillus* no crescimento e desenvolvimento da cultura. Graduação – Instituto Federal Goiano – IF Goiano, Cristalina, 52p. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/5157>. Acesso em: 17 de dezembro de 2025.

Silva, G.S., Tavares, P.L.M., Nascente, A.S., et al. (2023) Microrganismos promotores de crescimento no desenvolvimento das raízes de arroz de terras altas. Revista Científica da UniMais, 22:1-19.

Silveira, W., et al. (2021) Uso de bactérias promotoras de crescimento em cana-de-açúcar: uma abordagem para a sustentabilidade. [Inserir tipo de trabalho – Instituição], [Cidade], 1p.

Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., et al. (2001) Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:4742–4751. DOI doi.org/10.1128/AEM.67.10.4742-4751.2001.

Solusolo (2025) O papel das rizobactérias PGPR. Disponível em: <https://solusolo.com.br/o-papel-das-rizobacterias-pgpr>. Acesso em: 23 de novembro de 2025.

Song, Y., Wang, C., Sun, D. (2022) Both dissolved oxygen and chlorophyll explain large-scale longitudinal variation of deep scattering layers in the tropical Pacific Ocean. *Frontiers in Marine Science*, 9:782032. DOI doi.org/10.3389/fmars.2022.782032.

Souza, J.E.B., Ferreira, E.P.B. (2017) Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 237:250-257.

Souza, R.D.F., Straliozzo, R., Teixeira, M.G. (2004) Especificidade entre linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo Jalo e estirpes de rizóbio. *Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida*, 24:19–24.

Steinkellner, S., et al. (2007) Flavonoids and strigolactones in root exudates as signals in plant–fungus interactions. *Molecules*, 12:1290-1306.

Stocco, P., Cantamessa, S., Marchisio, V.F. (2008) Soil microbial communities and their relationship with soil properties in alpine environments. *Applied Soil Ecology*, 40:397–406.

Stopnisek, A., et al. (2021) *Burkholderia* enrichment. *Frontiers in Microbiology*, 12:656434.

Strock, J.M., et al. (2020) Root secondary growth: an unexplored component of soil carbon and nutrient cycling. *Plant and Soil*, 456:21-45.

Taiz, L., et al. (2010) Plant physiology and development. 6. ed. Sunderland: Sinauer, 761p.

Talbi, C., Delgado, M.J., Girard, L., et al. (2010) *Burkholderia phymatum* strains capable of nodulating *Phaseolus vulgaris* are present in Moroccan soils. Applied and Environmental Microbiology, 76:4587-4591.

Van Der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., Van Straalen, N.M. (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecology Letters, 11:296–310.

Van Veen, J.A., Van Overbeek, L.S., Van Elsas, J.D. (2005) Root cap influences root colonization by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. FEMS Microbiology Ecology, 54:123-130. DOI doi.org/10.1016/j.femsec.2005.03.005.

Vessey, J.K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255:571-586. DOI doi.org/10.1023/A:1026037216893.

Walker, T.S., Bais, H.P., Grotewold, E., Vivanco, J.M. (2003) Root exudation and rhizosphere biology. Plant Physiology, 132:44–51. DOI doi.org/10.1104/pp.102.019661.

Wander, A.E., Silva, O.F. (2025) Consumo de feijão. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/feijao/pos-producao/consumo>. Acesso em: 08 de setembro de 2025.

Yang, C.X., et al. (2025) The recruitment and assembly of the plant microbiome driven by plant exudates facilitate plant health management. FEMS Microbiology Reviews, 49:fuaf008. DOI doi.org/10.1093/femsre/fuaf008.

Zhang, H., Xu, N., He, X., Zhang, J. (2019) Role of soil microbial community in plant hormone regulation and stress tolerance. Soil Biology and Biochemistry, 130:162–173.

Zhou, Y., Wei, X., et al. (2022) Plant root microbiome responses to environmental conditions and soil properties. Frontiers in Microbiology, 13:916843.