

ZINCO E *Azospirillum brasilense* PARA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DE
FEIJÃO-CAUPI

por

LETICIA ALMEIDA SORANO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioenergia e Grãos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Bioenergia e Grãos.

Nova Andradina - MS

Setembro - 2024

ZINCO E *Azospirillum brasilense* PARA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DE
FEIJÃO-CAUPI

por

LETICIA ALMEIDA SORANO

Comitê de Orientação:

Orientador: Prof. Dr. Aurélio Rubio Neto, IF Goiano - Campus Rio Verde

Orientador: Prof. Dr. Elcio Ferreira dos Santos, IFMS – Campus Nova Andradina

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

S713z Sorano, Leticia Almeida
Zinco e *Azospirillum brasilense* para
biofortificação agrônômica de feijão-caupi / Leticia
Almeida Sorano; orientador Aurélio Rubio Neto. -- Rio
Verde, 2024.
36 f.

Dissertação (Mestrado em Bioenergia e Grãos) --
Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2024.

1. Enriquecimento nutricional. 2. Rizobactérias. 3.
Vigna unguiculata. 4. Grãos.. I. Rubio Neto, Aurélio,
orient. II. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |
| <input type="checkbox"/> Produto técnico e educacional - Tipo: Dissertação | |

Nome completo do autor:
Letícia Almeida Sorano

Matrícula:
2021202331540035

Título do trabalho:
Explorando o Uso de Azospirillum brasilense para Biofortificação Agronômica de Zn em Feijão-Caupi

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 01 / 12 / 2024

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

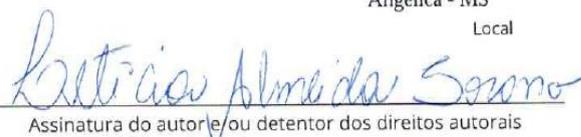
DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Angélica - MS
Local

/ /
Data


Assinatura do autor ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado digitalmente
 **AURELIO RUBIO NETO**
Data: 03/12/2024 11:33:36-0300
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 78/2024 - DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ZINCO E *Azospirillum brasilense* PARA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DE FEIJÃO-CAUPI

Autora: Leticia Almeida Sorano
Orientador: Aurélio Rubio Neto

TITULAÇÃO: Mestre em Bioenergia e Grãos - Área de Concentração Agroenergia

APROVADA em 17 de setembro de 2024.

Assinado eletronicamente
Prof. Dr. Marcos Paulo dos Santos
Avaliador externo - IFMS Campus Nova
Andradina

Assinado eletronicamente
Prof. Dr. Elcio Ferreira dos Santos
Avaliador externo - IFMS Campus Nova
Andradina

Assinado eletronicamente
Prof. Dr. Gutierres Nelson Silva
Avaliador externo - IFMS Campus Nova
Andradina

Assinado eletronicamente
Prof. Dr. Aurélio Rubio Neto
Presidente da Banca - IF Goiano Campus
Rio Verde

DEDICATÓRIA

"Dedico esta pesquisa a todos que, com curiosidade e dedicação, buscam entender e explorar este tema. Que nosso interesse em comum nos motive a avançar e compartilhar novos conhecimentos."

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, que sempre me guia e dá forças diante das dificuldades.

Ao meu esposo, pelo apoio, paciência, compreensão e por sempre estar ao meu lado.

Agradeço aos meus pais, que me criaram, educaram e ensinaram os bons valores da vida e quão importante é o estudo.

Aos professores Elcio Ferreira dos Santos e Aurélio Rubio Neto, pela orientação, motivação e conhecimento admiráveis.

Não poderia deixar de agradecer também a todos os professores que passaram por minha turma deixando o seu conhecimento e contribuindo com a nossa formação.

Aos meus colegas de turma, por superarmos juntos todos os desafios encontrados e pela amizade criada.

Ao IFMS e aos alunos Diego e Camile, pelo suporte junto à pesquisa.

Agradeço também aos meus amigos que me incentivaram e deram forças nessa caminhada.

Ao Polo de Inovação, Rio Verde - GO e a todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos”.

PROVÉRBIOS 16:3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 A cultura do feijão-caupi	15
2.2 Biofortificação agrônômica	16
2.3 <i>Azospirillum brasilense</i>	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Caracterização da área experimental.....	19
3.2 Instalação e condução do experimento	19
3.3 Aplicação de Zn e <i>Azospirillum brasilense</i>	20
3.4 Análise do tecido vegetal	20
3.5 Caracteres agrônômicos	21
3.6 Análise estatística.....	23
4. RESULTADOS	24
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	31
7. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

ZINCO E *Azospirillum brasilense* PARA BIOFORTIFICAÇÃO AGRONÔMICA DE
FEIJÃO-CAUPI

por

LETICIA ALMEIDA SORANO

Sob orientação do Professor Dr. Aurélio Rubio Neto, IF Goiano - Campus Rio Verde e do
Professor Dr. Elcio Ferreira dos Santos, IFMS – Campus Nova Andradina

RESUMO

A biofortificação de zinco (Zn) refere-se ao enriquecimento desse nutriente em alimentos por meio de práticas agronômicas. Programas de biofortificação agronômica têm focado em alimentos de fácil acesso como o feijão-caupi. Recentemente, surgiram evidências que o uso de bactérias promotoras de crescimento (e.g. *Azospirillum brasilense*) podem estimular o processo de acúmulo de Zn em grãos. Desta maneira, o objetivo com este estudo foi explorar o potencial de biofortificação do feijão-caupi em função da adubação de Zn e da inoculação de *Azospirillum brasilense*. O experimento foi realizado no Campus do Instituto Federal de Mato Grosso do Sul, Nova Andradina, utilizando um delineamento em blocos ao acaso no esquema fatorial (2 x 5), sendo duas formas de inoculação e cinco doses de Zn. A associação de Zn com *Azospirillum brasilense* indica resultados significativos na produtividade do feijão-caupi, nos teores de Zn nos grãos e nas folhas, bem como incremento nos teores de proteínas e nos teores de sacarose e de açúcar total. Portanto, esses achados destacam o potencial promissor da prática de inoculação com *Azospirillum brasilense* na biofortificação do feijão-caupi, oferecendo benefícios nutricionais significativos sem afetar negativamente os teores de açúcares.

PALAVRAS-CHAVE: Enriquecimento nutricional, rizobactérias, *Vigna unguiculata*, Grãos.

ZINC AND *Azospirillum brasilense* FOR AGRONOMIC BIOFORTIFICATION OF
COWPE BEANS

por

LETICIA ALMEIDA SORANO

Sob orientação do Professor Dr. Aurélio Rubio Neto, IF Goiano - Campus Rio Verde e do
Professor Dr. Élcio Ferreira dos Santos, IFMS – Campus Nova Andradina

ABSTRACT

Zinc (Zn) biofortification refers to the enrichment of this nutrient in foods through agronomic practices. Agronomic biofortification programs have focused on widely accessible foods such as cowpea. Recent evidence suggests that the use of plant growth-promoting bacteria (e.g., *Azospirillum brasilense*) can enhance Zn accumulation in grains. Therefore, this study aimed to explore the potential of biofortifying cowpea through Zn fertilization and *Azospirillum brasilense* inoculation. The experiment was carried out at the Federal Institute of Mato Grosso do Sul, Nova Andradina campus, using a randomized block design with a factorial scheme (2 x 5), which included one cultivar (Tumucumaque), two inoculation methods, and five Zn doses. The Zn combination with *Azospirillum brasilense* resulted in significant improvements in cowpea productivity, Zn concentrations in grains and leaves, as well as increases in protein content and total saccharose and sugar levels. These findings highlight the promising potential of *Azospirillum brasilense* inoculation for cowpea biofortification, offering substantial nutritional benefits without adversely affecting sugar levels.

KEYWORDS: Nutritional enrichment, rhizobacteria, *Vigna unguiculata*, Grains.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), conhecido popularmente no Brasil como feijão-de-corda, é um alimento básico, especialmente, em populações de baixa renda não só no Brasil, mas em outros países em desenvolvimento, principalmente, os da África Subsaariana, como Angola, Guiné, Gana e Gabão etc. (MAKONNEN *et al.*, 2022). Essa Fabaceae por ser uma leguminosa considerada de fácil cultivo e altamente nutritiva tem grande importância social, uma vez que é fonte de proteínas na dieta humana, sobretudo daquelas de baixa renda, que por sua vez, são mais afetadas por deficiências nutricionais (WELCH, 2001; ALFTHAN *et al.*, 2015).

Com base no levantamento anual realizado pelo Ministério da Agricultura, por meio da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2024), o Brasil tem a estimativa de produção de feijão-caupi de 462,8 mil toneladas, com parte significativa de produção nos estados de Mato Grosso, Goiás e Mato Grosso do Sul. A adaptabilidade do feijão-caupi em condições adversas, como clima seco e solos pobres, torna-o uma boa saída de produção por pequenos produtores com escassez econômica ou alimentar (TOGOLA *et al.*, 2023). Nesse contexto, estimativas indicam que a insegurança alimentar é um desafio global. Segundo o relatório "*State of Food Security and Nutrition in the World*" de 2023, aproximadamente, 735 milhões de pessoas enfrentaram a fome no mundo ou 2,4 bilhões de pessoas lidaram com a insegurança alimentar severa ou moderada em 2022 (FAO, 2023). Quanto à composição nutricional do feijão-caupi, destaca-se, principalmente, por ser rico em proteínas, carboidratos, fibras e minerais, como ferro, zinco, manganês, fósforo e potássio, além de ácidos graxos (FROTA *et al.*, 2008). O consumo desta cultura ocorre de várias formas, como sementes secas, verdes, vagens e folhas (GERRANO *et al.*, 2017). Estudos apontam que o consumo adequado de zinco (Zn) está associado à redução da incidência de câncer, distúrbios neurológicos e de doenças autoimunes em humanos (CHASAPIS *et al.*, 2012). Em crianças, a deficiência de Zn manifesta-se como retardo no crescimento, anorexia e hipogeusia (BROWN *et al.*, 2002). Por este motivo, são conduzidas diversas pesquisas com o objetivo de aumentar o teor de Zn em alimentos, por meio da aplicação de técnicas de biofortificação agrônômica (GONÇALVES *et al.*, 2015; CAMBRAIA *et al.*, 2019; CARMONA *et al.*, 2020). No entanto, a absorção de Zn pelas plantas e seu subsequente acúmulo em partes vegetais consumidas pela população humana são processos complexos. Assim sendo, é crucial identificar espécies e/ou genótipos de plantas com potencial para acumular Zn em partes comestíveis, além de avaliar a eficácia da biofortificação por meio da adubação (LOUREIRO *et al.*, 2018). A escolha de

culturas como a do feijão-caupi, que é uma fonte essencial de proteína, acontece pela cultura ser amplamente consumidos pela população brasileira, principalmente a de baixa renda. Isto pode tornar a biofortificação mais eficaz, já que ao melhorar o valor nutricional de um alimento já presente na dieta diária, é possível alcançar maior parcela da população, promovendo benefícios nutricionais de forma acessível e sustentável. Desta forma, a biofortificação do feijão-caupi pode contribuir significativamente para a melhoria da saúde da população que o consome e a redução da desnutrição, possibilitando maior sucesso nos programas de biofortificação (RIBEIRO *et al.*, 2008).

A biofortificação agrônômica de culturas agrícolas com Zn visa aumentar a concentração desse elemento nos alimentos básicos, especialmente nas culturas de grãos. Isso é realizado através da integração em programas de fertilização e do aprimoramento genético de variedades, com o objetivo de atender às necessidades nutricionais da população, especialmente daquelas de baixa renda (VERGÜTZ *et al.*, 2016). Estudo desenvolvido por Oliveira *et al.*, (2024) evidencia o aumento na produção e na qualidade dos grãos do feijão-caupi após a fertilização foliar com Zn. Além disso, essa estratégia proporcionou, também, aumento da disponibilidade de Zn no grão, aumento de sacarose, de aminoácidos e de proteínas, demonstrando, portanto, ser importante para a biofortificação agrônômica e consequentemente para a segurança alimentar.

Vale destacar que biofortificação agrônômica é realizada de várias formas, como adubação do solo, da semente, por meio de fertirrigação, de aplicação foliar ou através do próprio mergulho das plântulas em solução fertilizante (LOUREIRO *et al.*, 2018). Aliado a isto, uma alternativa promissora para enfrentar não apenas os desafios de uma agricultura mais sustentável, mas também auxiliar na biofortificação é a utilização de inoculantes microbianos, com o objetivo de aumentar a produtividade, o retorno econômico e minimizar os impactos ambientais (FLORENCIO *et al.*, 2022). Nesse contexto, as bactérias do gênero *Azospirillum* destacam-se como excelentes candidatas pelas capacidades de fixação de nitrogênio atmosférico e de promoção do crescimento das plantas, demonstrando resultados positivos em monoculturas (FERNANDES *et al.*, 2023; SANTOS *et al.*, 2023).

A bactéria *A. brasilense* tem capacidade de promover o aumento na absorção de nutrientes, como o Zn, nas partes comestíveis da planta, isso é especialmente relevante para melhorar a nutrição humana. Vários estudos têm evidenciados em diferentes culturas, como trigo, cana-de-açúcar, arroz, gramíneas de pastagens e milho que o uso de *A. brasilense* traz inúmeros benefícios para as plantas, como melhora na absorção de Zn, crescimento, produtividade, resistência às secas e a patógenos (BASEN *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2021).

Portanto, objetivou-se com a pesquisa demonstrar o potencial de exploração do uso de *A. brasilense* na biofortificação agronômica de Zn via adubação foliar em feijão-caupi.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do feijão-caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) é conhecido também como feijão fradinho, feijão-de-corda ou catador está classificado na ordem *Fabales*, na família *Fabaceae*, na subfamília *Faboideae*, na tribo *Phaseolae*, na subtribo *Phaseolinae* e no gênero *Vigna* e na espécie *Vigna unguiculata* L. (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

Essa leguminosa, originária do sudeste Asiático, demonstra grande capacidade de adaptação a climas tropicais e subtropicais, sendo cultivada em diversas áreas da África, América Latina, sul dos Estados Unidos e, evidentemente, no próprio sudeste da Ásia. Devido ao elevado teor de proteínas, resistência à seca e altas temperaturas, além de habilidade para prosperar em solos com baixa fertilidade, este tipo de leguminosa, como o feijão-caupi, assume importância particularmente significativa (TOGOLA *et al.*, 2023).

No Nordeste, o caupi é amplamente cultivado em termos de área, mas a contribuição para a produção regional é relativamente modesta, por causa da baixa produtividade. Essa cultura é predominantemente mantida por agricultores familiares que ainda seguem práticas tradicionais de cultivo (FREIRE FILHO *et al.*, 2011).

Essa espécie é uma planta herbácea anual, caracterizada por seu hábito de crescimento determinado e indeterminado arbustivo. Em condições ideais de água, luz e temperatura, a germinação ocorre aproximadamente entre 2 e 3 dias após a semeadura (VALE, *et al.*, 2017). As raízes são do tipo fasciculadas e adventícias. O caule pode atingir até quatro metros de altura e apresenta formas angulares ou cilíndricas. As folhas são compostas por três folíolos ligados a uma haste, apresentando formas subglobosas, sublanceoladas, globosas e lanceoladas (POTTORFF *et al.*, 2012). Além disso, a cultura não demanda muita água, sendo necessário o mínimo de 300 mm de precipitação para uma produção satisfatória, sem a necessidade de irrigação adicional. Regiões com precipitação anual entre 250 e 500 mm são consideradas ideais para o cultivo dessa cultura (FREIRE FILHO, 2020). A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento do feijão-caupi situa-se entre 18 e 34°C. Temperaturas elevadas podem causar o aborto de flores, a queda de vagens imaturas e a redução do número de sementes por vagem. Por outro lado, temperaturas muito baixas retardam o surgimento de flores, prolongando o ciclo da planta (COSTA *et al.*, 2020).

Então, Silva *et al.* (2018), considera a cultura como fonte de proteínas rica em lisina, que complementa as proteínas encontradas nos cereais, proporcionando uma alternativa essencial para populações de baixa renda em termos de alimentação e nutrição.

2.2 Biofortificação agronômica

Existem duas formas de biofortificação, é uma técnica empregada para enriquecer nutricionalmente os alimentos cultivados no campo. Este processo ocorre de duas maneiras: através do melhoramento genético das culturas, seja de forma convencional ou por meio da transgenia, conhecida como biofortificação genética; ou por meio de técnicas e estratégias de adubação, denominada biofortificação agronômica (VERGUTZ, 2016). Seu objetivo é aumentar os teores de micronutrientes, como vitamina A, Zn, ferro, iodo, entre outros, em alimentos básicos como milho, arroz, feijão, feijão-caupi, mandioca, batata-doce, trigo e abóbora (TOGOLA *et al.*, 2023).

No Brasil, a biofortificação iniciou em 2003 por meio de uma parceria firmada entre o programa Harvestplus e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), e a principal finalidade foi amenizar a fome oculta. Acredita-se que a produção e distribuição de alimentos biofortificados é uma maneira de contribuir para o desenvolvimento agrícola e para segurança alimentar nutricional (DUARTE, 2021).

A carência de elementos minerais essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do corpo humano pode desencadear distúrbios no sistema imunológico. Algumas doenças ou sintomas relacionados com a falta de ferro, de Zn, de vitamina A e outros micronutrientes podem incluir: anemia, fraqueza, sonolência e letargia, comprometendo a capacidade de trabalho e cognição do indivíduo. Essas deficiências representam sério problema de saúde que, em casos mais graves, podem até levar à morte (PEDRAZA & QUEIROZ, 2011).

Sabendo que a alimentação é crucial para a vida e sobrevivência humana, e considerando que parte dos problemas de saúde está ligada ao ambiente em que se vive, torna-se inevitável associar saúde à produção de alimentos ou a um modelo agroalimentar capaz de suprir as deficiências de nutrientes essenciais para o funcionamento adequado do organismo. Esse modelo também precisa lidar com o aumento populacional e enfrentar os desafios relacionados à desnutrição e à segurança alimentar (MENEGASSI *et al.*, 2018).

As técnicas envolvidas na aplicação da biofortificação agronômica incluem a adubação via solo, o tratamento de sementes e a aplicação foliar. Além disso, outras práticas como a utilização de biofertilizantes (por exemplo, inoculação com fungos micorrízicos), rotação de culturas e irrigação são adotadas com o objetivo de aumentar o teor de minerais nas culturas (MORAES *et al.*, 2009).

Neste cenário, a biofortificação para aumentar os micronutrientes através das plantas torna-se a opção mais recomendada. Isso se deve a maior acessibilidade dos consumidores aos

vegetais, custos reduzidos e menor risco de toxicidade (BOUIS *et al.*, 2011; MEENAKSHI *et al.*, 2007; NESTEL *et al.*, 2006).

2.3 *Azospirillum brasilense*

O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria diazotrófica que contribui para a fixação de nitrogênio atmosférico quando inoculada em plantas, também auxilia na redução de estresses bióticos e abióticos (FUKAMI *et al.*, 2018). O gênero *Azospirillum* consiste em bactérias Gram-negativas de vida livre, que não formam esporos, não fermentam e são capazes de fixar nitrogênio (FERREIRA *et al.*, 2020). Esse gênero coloniza a rizosfera e os espaços radiculares intercelulares de várias espécies de plantas, preferindo condições microaerofílicas e apresentando células em forma de bastão ou espiral (CASSÁN *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2020).

Os benefícios da inoculação da bactéria *A. brasilense* no crescimento e desenvolvimento das plantas são principalmente atribuídos à habilidade de fixar nitrogênio atmosférico e produzir fitohormônios como auxinas, citocininas e giberelinas (CASSÁN *et al.*, 2020).

A inoculação de rizobactérias visa estabelecer simbiose entre bactéria e planta. Essa prática pode ser aplicada na semeadura, nos sulcos, nas sementes ou por via foliar após o plantio, buscando estimular o desenvolvimento e crescimento da cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Na cultura do feijão-caupi, observou-se aumento na produtividade de 24,9% com a inoculação em comparação com a cultura não inoculada (SOUSA *et al.*, 2018).

As bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum* demonstram a habilidade de colonizar uma variedade de tecidos nas plantas, incluindo caules, raízes, folhas, flores, frutos e até mesmo sementes. Uma vez estabelecidas no interior da planta, essas bactérias são capazes de realizar a fixação do nitrogênio atmosférico e, por meio de processos bioquímicos, transformá-lo em formas de nitrogênio assimiláveis, como amônio ou aminoácidos. Adicionalmente, podem também sintetizar hormônios de crescimento, como auxinas e giberelinas (PURI *et al.*, 2018; NONG *et al.*, 2023). Portanto, a inoculação de *Azospirillum* está associada a diversos benefícios, incluindo o estímulo ao crescimento das plantas, a fixação de nitrogênio, a solubilização de fósforo, o aumento na absorção de água, a competição com patógenos e a redução de custos com fertilizantes nitrogenados. Esses benefícios são particularmente relevantes dada a extensa área de produção agrícola no Brasil (CASSÁN *et al.*, 2020).

Nesse contexto, existe uma lacuna na literatura envolvendo a biofortificação agronômica de Zn do feijão-caupi associada ao uso de *A. brasilense*. Porém, pesquisas envolvendo outras espécies de feijão, como o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) foram desenvolvidas por Jalal *et al.*, (2021), que verificaram resultados positivos na capacidade do feijoeiro em absorver, acumular e utilizar o Zn, com o auxílio de *A. brasilense*. Especificamente, os resultados indicaram que essas combinações de microrganismos podem melhorar não apenas a absorção e o acúmulo de Zinco no feijão comum (parte aérea e grãos), mas também aumentou a produtividade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado no campus do Instituto Federal de Mato Grosso do Sul, localizado no município de Nova Andradina, latitude: 22° 14' 6" Sul, longitude 53°19' 54" Oeste, cerca de 346,5 metros acima do nível do mar. Possui clima tropical, com menos chuvas no inverno do que no verão e a temperatura média anual e a precipitação pluviométrica variam entre 20-22°C e 1500-1700 mm respectivamente (SEMADE, 2015).

3.2 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido no ano de 2023, utilizando o cultivar BRS Tumucumaque do feijão-caupi. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso no esquema fatorial (2 x 5): (duas formas de inoculação [com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*]) × 5 (doses de Zn: 0, 300, 600, 900 e 1200 g ha⁻¹), com 3 repetições.

Inicialmente foi realizado o preparo do solo visando a descompactação, revolvimento de material vegetal e controle de plantas daninhas. Após o preparo do solo foi realizada a adubação da área com semeadora adubadora, distribuindo apenas o adubo no sulco de semeadura na profundidade de 0,13 m, utilizando a formulação 05-30-10 de N, P₂O₅ e K₂O respectivamente na dose de 395 kg ha⁻¹. Após o estaqueamento, a área do experimento foi de 8 m x 30 m que compreende 240 m², dividida em 30 parcelas experimentais, cada parcela tem 2,4 m x 2,00 m = 4,8 m², com 6 fileiras por parcela, com espaçamento de 0,40 m entre as fileiras com 3 linhas.

A semeadura do feijão-caupi foi realizada com sementes do BRS Tumucumaque, sendo abertos covas nas linhas em que foi realizada adubação com a semeadora, distribuindo a semente de forma manual, com densidade de 10 sementes por metro linear, visando o desbaste futuro, permanecendo oito plantas por metro linear, com população aproximada de 200 mil plantas ha⁻¹. O cultivar apresenta ciclo médio de 60 a 70 dias, crescimento indeterminado, tem ramos relativamente curtos e apresentam resistência ao acamamento, essa característica a torna adaptada à colheita mecânica com o uso do dessecamento (HAMMES, 2020).

Após a semeadura foi instalada a irrigação na área que perdurou durante todo ciclo do feijão-caupi, além disso, devido ao desenvolvimento das plantas foi realizado o desbaste. Também foi realizado a adubação de cobertura com ureia e cloreto de potássio de acordo com as recomendações para a cultura.

A fonte de nitrogênio aplicada foi a ureia na dose de 60 kg ha⁻¹ quando as plantas apresentaram de 3 a 4 trifólios (entre 10 e 14 dias após a emergência - DAE) e totalmente desenvolvidos na haste principal. Já o cloreto de potássio foi aplicado uma semana após a aplicação da ureia na dose de 60 kg ha⁻¹, sendo que ambos foram distribuídos de forma manual e homogênea em todas as parcelas.

Durante o desenvolvimento da cultura foram adotadas diversas estratégias para o controle de plantas daninhas, pragas e doenças. Para o controle das plantas daninhas foram realizadas capinas, utilizando de ferramentas adequadas, como enxadas e roçadeiras.

No que se refere ao controle de pragas, foram adotadas diversas medidas, como o tratamento de sementes no momento da semeadura com defensivos agrícolas, bem como a aplicação de Fipronil para o controle de formigas cortadeiras. Além disso, foram utilizados inseticidas específicos para o controle de lagartas e percevejos. Para o controle de doenças, foram realizadas apenas duas aplicações de fungicida durante o período vegetativo, próximo do florescimento (40 a 50 DAE).

3.3 Aplicação de Zn e *Azospirillum brasilense*

A adubação foliar de Zn ocorreu aos 14 DAE e a inoculação com *Azospirillum brasilense* ocorreu as 21 DAE, uma única vez antes da floração (plantas com 5 a 6 trifólios totalmente desenvolvidos), antecipando o pico de absorção e uso nutricional da cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2024). Para a dosagem do sulfato de zinco foi utilizado uma balança de precisão para pesagem, posteriormente a dose foi diluída em 500 mL de água e adicionado ao pulverizador costal. Para a inoculação com *Azospirillum brasilense* foram utilizadas as estirpes Ab-V5e Ab-V6, na concentração de 2x10⁸ células viáveis por grama do produto comercial, sendo aplicado a dose de 200 mL ha⁻¹ do inoculante líquido. Para a aplicação de Zn e da bactéria foi utilizado um pulverizador costal do tipo Jacto PJH 20L, com bico cone.

3.4 Análise do tecido vegetal

Para a análise química do tecido vegetal foi coletada a folha diagnóstica, no terço médio do ramo principal, no início do florescimento (SOUZA *et al.*, 2011). Em laboratório as amostras vegetais foram lavadas, secas em estufa de circulação forçada a 60°C (±5°C) até peso constante, posteriormente foram moídas em moinho tipo Willey e armazenadas em sacos plásticos etiquetados. No tecido vegetal foram determinadas as concentrações de Zn (Zn). Para a determinação de Zn, foi obtido extrato via digestão nítrico-perclórica a partir do qual determinou-se o elemento usando a visualização radial do espectrômetro de emissão óptica

com plasma acoplado (ICP-OES) equipado com câmara de nebulização. Em relação aos grãos, foi realizada a colheita de duas linhas homogêneas de cada parcela, com todas as vagens sendo coletadas manualmente. Em seguida, os grãos foram retirados das vagens manualmente. Após a remoção, os grãos foram secos em estufa a 60°C até atingirem massa constante e, posteriormente, moídos em moinho Wiley, utilizando uma peneira de 1 mm.

3.5 Caracteres agronômicos

A produtividade e a peso dos grãos foram determinadas pela colheita da área útil de cada unidade amostral. Após a colheita, as vagens foram levadas para estufa de ventilação forçada a 65°C, e permaneceram por 72 horas, com objetivo de retirar a umidade. Após a secagem, as vagens foram debulhadas e coletado os grãos para pesagem, na sequência os dados de produtividade foram extrapolados para kg ha⁻¹. Com esse mesmo material coletado, foi realizada a contagem e a aferição da massa de 1000 grãos. Todos os grãos coletados no tratamento foram levados a uma bancada para que fosse separado 1000 grãos para pesagem.

Outros parâmetros finais analisados no experimento foram: comprimento de vagens (COMPV), comprimento de 5 vagens (COM5V), números de grãos por vagem (NGV), número de grãos de 5 vagens (NG5V), peso de grãos de 5 vagens (PG5V) e peso de 100 grãos. A produtividade de grãos (kg/ha⁻¹) foi calculada a partir das vagens das plantas coletadas, dentro das parcelas, e foi realizada a debulha manual, posteriormente, os grãos foram pesados e realizado o seguinte cálculo [PG (g/área da parcela útil/ 0,5)]. Adaptado de Silva & Neves (2011).

3.6 Análise de Nutrientes Minerais

Amostras de folhas e grãos, previamente secas e moídas, com 0,25 g de peso cada, foram pesadas com precisão e submetidas à digestão em tubos de material perfluoroalcóxi (PFA). Cada tubo recebeu 2 mL de ácido nítrico (HNO₃) grau analítico (70%), 1 mL de água Milli-Q e 1 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Para a análise dos minerais fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn), as amostras digeridas foram diluídas na proporção de 1:10 com água Milli-Q. A análise dos dados foi realizada utilizando o software Qtegra™ versão 7.1 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), conforme os métodos descritos por Silva *et al*, 2018.

3.7 Determinação de Açúcares Totais e Sacarose nos Grãos

A quantificação da sacarose foi realizada segundo o método de van Handel, 1968. Nesse procedimento, foram adicionados 20 µL da porção hidrofílica do extrato MCW, 500 µL de KOH a 30% e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) a um tubo de vidro. A mistura foi agitada em vórtice e aquecida a 100°C por 10 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 490 nm utilizando um espectrofotômetro (SP-220, Bioespectro™, São Paulo, Brasil). O teor de sacarose foi expresso em mg g⁻¹ de massa seca (DW). A quantificação dos açúcares totais seguiu o protocolo descrito por DuBois *et al.* 1956. Nesse procedimento, 20 µL da porção hidrofílica do extrato MCW, 500 µL de fenol a 5% e 2 mL de H₂SO₄ concentrado foram combinados em um tubo de vidro. Após agitação em vórtice, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 490 nm no espectrofotômetro (SP-220, Bioespectro™). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de massa seca (DW). Uma curva padrão de sacarose foi utilizada para quantificar tanto a sacarose quanto os açúcares totais.

3.8 Determinação de Aminoácidos Totais e Proteínas de Armazenamento

A quantificação dos aminoácidos livres totais nos grãos foi realizada conforme o método de Yemm *et al.* 1955. Para isso, foram misturados 250 µL da porção hidrofílica do extrato MCW, 500 µL de citrato de sódio a 0,2 M, 200 µL de ninidrina a 5% em etilenoglicol e 1 mL de KCN a 0,0002 M em um tubo de vidro. A mistura foi agitada em vórtice e aquecida a 100°C por 15 minutos. Após resfriamento com água corrente por 10 minutos, adicionou-se 1 mL de etanol a 60%, e a solução foi novamente agitada em vórtice. A absorbância foi medida a 570 nm utilizando um espectrofotômetro (SP-220, Bioespectro™). A concentração de aminoácidos nos grãos foi calculada com base em uma curva padrão de metionina, com os resultados expressos em mg g⁻¹ de massa seca (DW). Para a extração das proteínas de armazenamento, 0,20 g de grãos secos e moídos foram extraídos sequencialmente com 12 mL de água deionizada (para determinação de albumina), 5 mL de NaCl 5,0% (para globulina), 5 mL de etanol 60% (para prolamina) e 3 mL de NaOH 0,4% (para glutelina). A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford 1976, utilizando BSA (albumina sérica bovina) como padrão.

3.9 Análise estatística

Para o fator qualitativo (com e sem) a inoculação de *Azospirillum brasilense* foi utilizado análise de variância e teste de comparação múltipla. Para o fator quantitativo (dose), foi utilizado análise de regressão. O modelo de regressão foi escolhido baseado no coeficiente de determinação (R^2), significância dos coeficientes e no fenômeno biológico, considerando um nível de significância de 5 ou 1%. Utilizou-se o programa SAS para as análises e o SigmaPlot para as confecções dos gráficos.

4. RESULTADOS

Os caracteres agronômicos avaliados no cultivar BRS Tumucumaque do feijão-caupi, como altura (m), massa seca da parte aérea (g), comprimento de vagens (cm), comprimento de cinco vagens (cm), número de grãos por vagens, número de grãos em cinco vagens, peso de grãos de cinco vagens (g) e peso de cem grãos (g) não foram influenciados de maneira significativa ($P < 0,05$) pelos tratamentos (Tabela 1). Essa ausência de resposta pode ser atribuída a alta adaptabilidade dos cultivares às condições locais de cultivo, demonstrando uma estabilidade de resposta mesmo em condições variadas de adubação e inoculação. Estudos anteriores sugerem que essa estabilidade é um traço desejável, pois indica resistência a variações ambientais, e pode ser vantajoso em sistemas de produção com manejo variável.

Tabela 1. Médias dos resultados de altura, massa seca da parte aérea (MSPA), comprimento de vagens (COMPV), comprimento de cinco vagens (COM5V), número de grãos por vagens (NGV), número de grãos em cinco vagens (NG5V), peso de grãos de cinco vagens (PG5V) e peso de cem grãos (P100).

Dose de Zn	Altura (m)	MSPA (g)	COMPV (cm)	COM5V (cm)	NGV	NG5V	PG5V (g)	P100 (g)
0 -Azo	1,08	44,03	19,37	96,87	10,80	54,00	13,17	25,03
30 -Azo	1,07	50,91	19,30	96,50	10,60	53,00	13,47	23,33
60 -Azo	1,13	48,90	19,33	96,63	11,27	56,33	14,20	24,57
90 -Azo	1,08	43,35	20,47	102,33	11,20	56,00	13,87	24,77
120 -Azo	1,07	44,88	20,40	102,00	12,27	61,33	13,97	23,37
0 +Azo	1,72	46,64	17,77	88,83	9,93	49,67	11,23	24,13
30 +Azo	1,89	46,27	19,37	96,83	10,67	53,33	12,30	23,97
60 +Azo	1,59	52,63	17,40	87,00	9,07	45,33	11,23	24,80
90 +Azo	1,63	47,77	19,03	95,17	10,27	51,33	11,73	25,23
120 +Azo	1,74	46,80	19,70	98,50	11,47	57,33	13,30	23,13

A produtividade do feijão-caupi foi significativamente influenciada pela dose de Zn aplicada, com tendência crescente observada conforme as doses aumentaram. O tratamento que combinou o cultivar Tumucumaque com a inoculação de *Azospirillum brasilense* apresentou as maiores médias de produtividade (Figura 1).

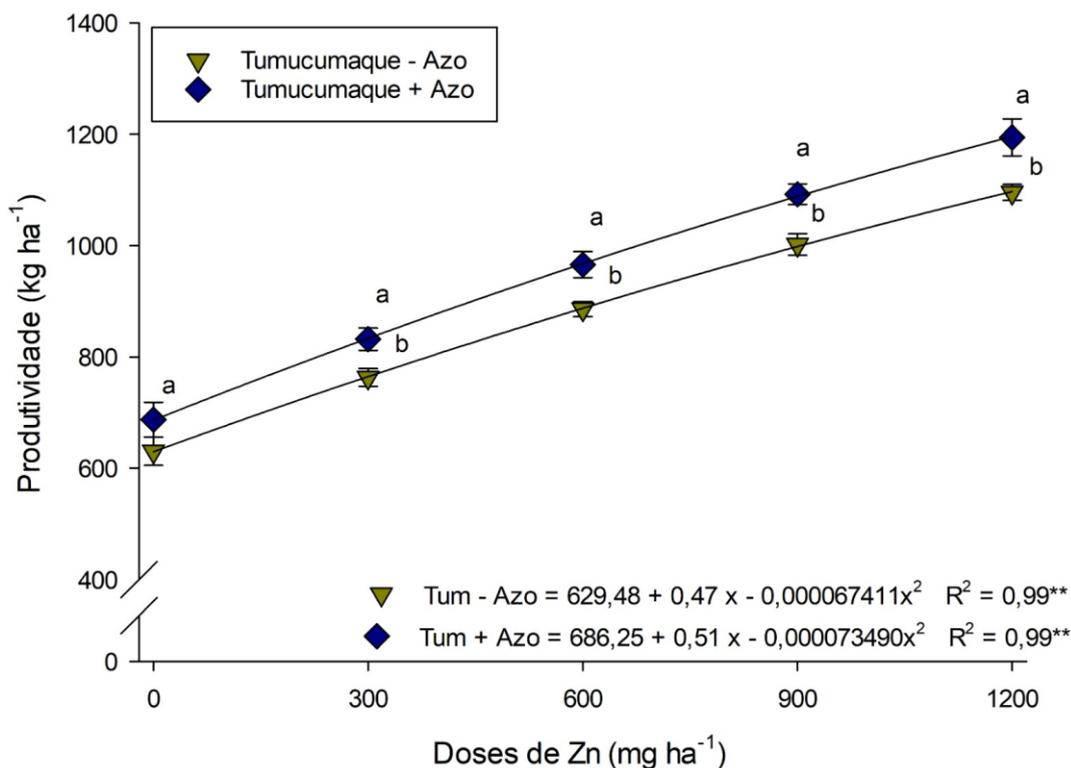


Figura 1. Valores médios de produtividade do cultivar BRS Tumucumaque de feijão-caupi submetida as doses de 0, 300, 600, 900 e 1200 mg ha⁻¹ de zinco associadas ou não a inoculação com *Azospirillum brasilense* no município de Nova Andradina – MS.

Adicionalmente, a concentração de Zn nos grãos e nas folhas do feijão-caupi também aumentou em resposta às doses de Zn testadas, com as maiores concentrações na combinação do cultivar Tumucumaque com *Azospirillum brasilense*. Esse aumento pode ser explicado pela capacidade do *A. brasilense* de melhorar a absorção de nutrientes, possivelmente pela solubilização de minerais como o Zn e pela promoção de um sistema radicular mais desenvolvido, que facilita a absorção de nutrientes do solo (Figura 2 A e B). Por outro lado, os tratamentos com doses de 0 e 300 mg de Zn não apresentaram diferenças significativas em relação à concentração de Zn, sugerindo que estas doses podem não ser suficientes para provocar acúmulo detectável de Zn nas plantas. Isso aponta para um possível ponto de saturação do solo ou da planta, em que doses abaixo desse nível mínimo não são eficazes para a biofortificação.

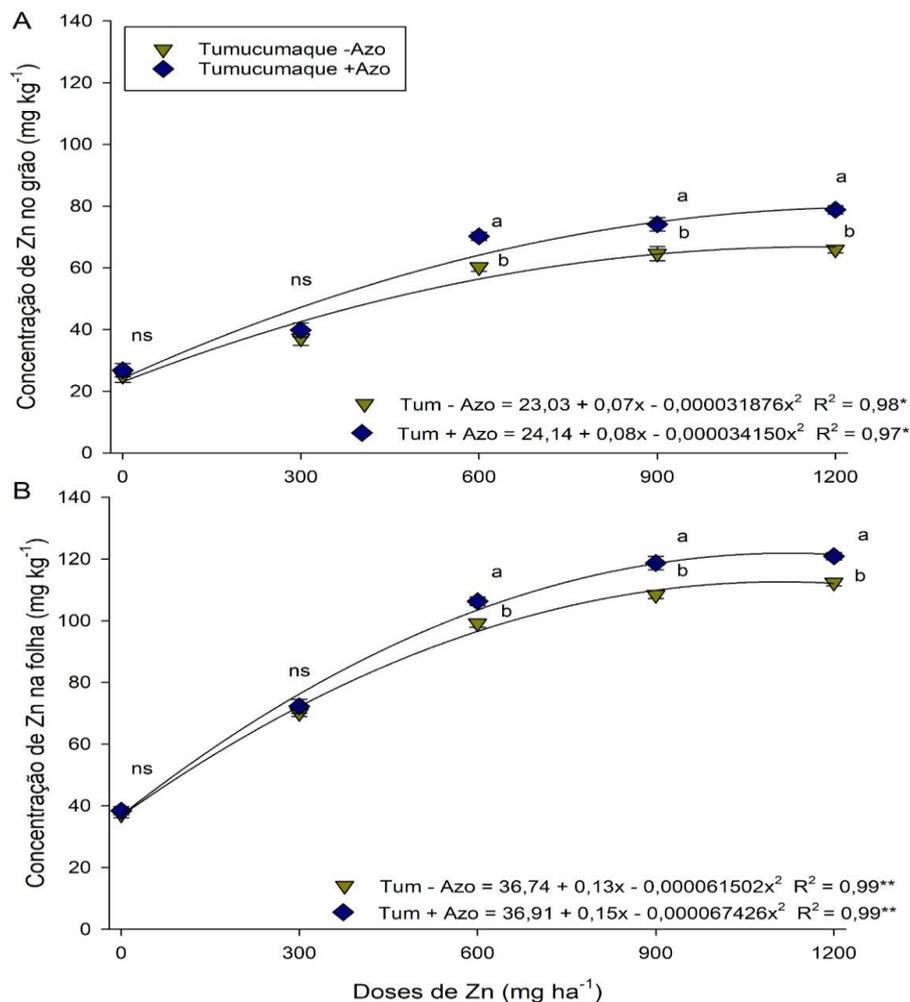


Figura 2. Concentração de zinco no grão (A) e na folha (B) do cultivar Tumucumaque de feijão-caupi submetidas as doses de 0, 300, 600, 900 e 1200 mg ha^{-1} de zinco associadas ou não a inoculação com *Azospirillum brasilense* no município de Nova Andradina – MS.

Em relação à concentração de sacarose no grão e ao açúcar total na folha não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, para cada dose de zinco ($P > 0,05$). Isso indica que, independentemente inoculação com *Azospirillum*, essas variáveis não foram afetadas pelos níveis de Zn e inoculação utilizadas no experimento (Figura 3 A e B).

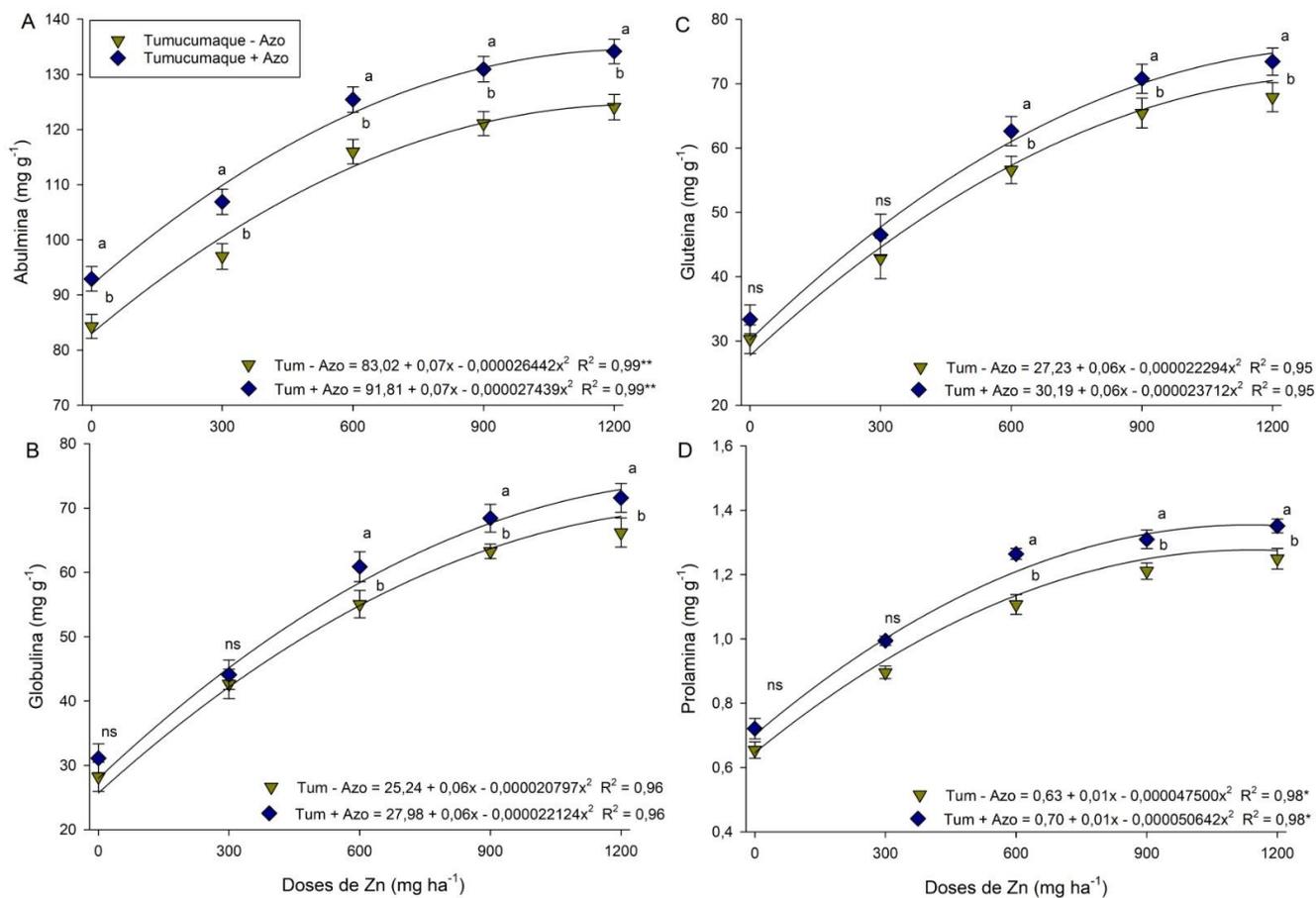


Figura 4. Concentrações de proteínas albumina (A), globulina (B), gluteína (C) e prolamina (D) provenientes do cultivar Tumucumaque de feijão-caupi submetidas as doses de 0, 300, 600, 900 e 1200 mg ha^{-1} de zinco associadas ou não a inoculação com *Azospirillum brasilense* no município de Nova Andradina – MS.

5. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo indicam que a biofortificação agronômica com Zn, combinada com a inoculação de *A. brasilense*, pode ser uma estratégia promissora para aumentar a produtividade e a qualidade nutricional do feijão-caupi. No entanto, é fundamental considerar as propriedades do solo e as condições ambientais ao aplicar essas técnicas, pois fatores como pH, matéria orgânica e capacidade de troca catiônica podem influenciar significativamente os resultados obtidos (BOUAIN *et al.*, 2014; CAKMAK & KUTMAN, 2018).

Estudos prévios demonstraram que o feijão-caupi tem alto potencial genético para produtividade quando cultivado sob condições de biofortificação agronômica com Zn (SILVA *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2024). Contudo, nesta pesquisa, os caracteres agronômicos avaliados, como altura, massa seca da parte aérea, comprimento de vagens e número de grãos por vagem não apresentaram influência significativa dos tratamentos testados. Isso pode estar relacionado ao fato do cultivar estar adaptado aos locais de estudo, respondendo de maneira semelhante às condições com resposta estável (GONÇALVES *et al.*, 2017).

A produtividade do cultivar Tumucumaque foi influenciada pela inoculação da bactéria do gênero *Azospirillum brasilense* nas diferentes doses de Zn. Vale destacar que tanto o mineral Zn quanto o *A. brasilense* agiram de forma sinérgica na produtividade do feijão-caupi. Portanto, este resultado sugere que o Zn desempenha papel crucial no metabolismo das plantas, contribuindo para processos essenciais como a síntese de proteínas e de carboidratos, que impactam diretamente no rendimento de grãos (CAKMAK & KUTMAN, 2018).

Por outro lado, bactérias rizotróficas como *A. brasilense* promovem o crescimento das plantas por meio da fixação biológica de nitrogênio, produção de fitohormônios e pela capacidade de solubilizar minerais como o Zn, tornando-o mais disponível para a planta e, conseqüentemente, melhorando a nutrição e capacidade fotossintética, resultando em maior produtividade (DINESH *et al.*, 2018; ESHAGHI *et al.*, 2019).

O aumento no acúmulo de Zn nos grãos promovido pela inoculação com *Azospirillum brasilense* pode ser explicado por diversos mecanismos fisiológicos e moleculares. A fixação biológica de nitrogênio realizada por *A. brasilense* contribui para a síntese de aminoácidos e proteínas que estão diretamente envolvidos no transporte e mobilização de micronutrientes, como o Zn, no interior da planta (CAKMAK & KUTMAN, 2018). Portanto, resumidamente, como as concentrações de proteínas aumentaram significativamente, esse resultado pode ser explicado pelo papel do *A. brasilense* na fixação biológica de nitrogênio, que é essencial para

a síntese de aminoácidos e, conseqüentemente, de proteínas. Adicionalmente, *A. brasilense* é conhecido por produzir fitohormônios, como auxinas, que promovem o desenvolvimento do sistema radicular, aumentando a área de absorção de nutrientes do solo, incluindo o Zn (BOUAIN *et al.*, 2014).

O uso de *A. brasilense* pode induzir a expressão de genes relacionados ao transporte de Zn na planta, como os transportadores da família ZIP (ZRT, IRT-like Proteins), que são responsáveis pela captação de Zn das raízes e a translocação para outras partes da planta, como os grãos (BOUAIN *et al.*, 2014). Além disso, a solubilização de fosfatos pela ação bacteriana pode liberar Zn adsorvido ao solo, tornando-o mais disponível para a planta. Esse processo é potencializado pelo aumento na produção de sideróforos por *A. brasilense*, que complexam e solubilizam metais no solo, facilitando a absorção pelas raízes (XIE *et al.*, 2024; BOUKHALFA *et al.*, 2023).

Esses processos resultam em maior acumulação de Zn nos tecidos vegetais, incluindo os grãos, sem causar efeitos adversos na planta. Isso evidencia o papel multifacetado de *A. brasilense* não apenas como promotor de crescimento, mas também como agente biofortificante, potencializando a qualidade nutricional dos cultivos (BOUKHALFA *et al.*, 2023).

Apesar dos benefícios do *A. brasilense* no teor de Zn, quanto ao teor de sacarose e de açúcar total, não foi constatada nenhuma diferença significativa. Esse resultado sugere que o *A. brasilense* pode não ter ação direta ou substancial no metabolismo de carboidratos do feijão-caupi. Além disso, é possível que a expressão de genes relacionados à produção de sacarose nos cultivares testados não seja significativamente influenciada pela presença desse microrganismo, o que poderia ser uma área interessante para investigações futuras, especialmente em diferentes condições ambientais e com outros genótipos de feijão-caupi (CASSÁN *et al.*, 2020; DI SALVO *et al.*, 2018).

6. CONCLUSÃO

Esta dissertação teve como objetivo explorar o potencial de biofortificação do feijão-caupi, visando a melhoria da qualidade da nutrição humana, bem como descrever as respostas nutricionais em função da adubação de Zn e da inoculação de *Azospirillum brasilense*. Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que o uso da inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do feijão-caupi proporciona rendimentos na produtividade, nas concentrações de zinco, bem como nas de proteínas nessa cultura.

7. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados deste estudo evidenciam que a biofortificação agronômica do feijão-caupi com zinco (Zn), associada à inoculação com *Azospirillum brasilense*, é uma prática eficaz para aumentar a qualidade nutricional dos grãos, promovendo elevações significativas nas concentrações de Zn e proteínas. A interação sinérgica entre as doses crescentes de Zn e a inoculação com *Azospirillum brasilense* demonstrou impacto positivo na produtividade, corroborando com a importância dessas práticas para o manejo sustentável de culturas agrícolas.

A cultivar Tumucumaque ao ser submetida à biofortificação apresentou potencial de acúmulo de Zn nos grãos e nas folhas quando inoculada com *Azospirillum brasilense*. No entanto, não foram observadas alterações significativas nos teores de sacarose e açúcar total, sugerindo que os efeitos benéficos da inoculação e adubação concentram-se, principalmente na absorção e acúmulo de nutrientes essenciais e na melhoria da composição proteica.

Estes achados reforçam a relevância da utilização de tecnologias biológicas, como a inoculação com bactérias promotoras de crescimento, na intensificação de práticas agronômicas voltadas para a biofortificação de culturas de importância social e econômica. Contudo, é necessário que estudos adicionais sejam realizados para avaliar a eficácia dessas estratégias em diferentes condições edafoclimáticas e em outras variedades de feijão-caupi, visando a otimização das práticas de manejo para alcançar o máximo potencial agrônomico e nutricional. Assim, a combinação de adubação com Zn e inoculação com *Azospirillum brasilense* configura-se como ferramenta promissora para o incremento da produtividade e da qualidade dos grãos de feijão-caupi, contribuindo para a segurança alimentar e nutricional, especialmente em regiões com populações vulneráveis à deficiência de micronutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bouain, N.; Shahzad, Z.; Rouached, A.; Khan, G. A.; Berthomieu, P.; Abdelly, C.; Poirier, Y.; Rouached, H.** 2014. Phosphate and zinc transport and signalling in plants: toward a better understanding of their homeostasis interaction. *Journal of Experimental Botany*, v. 65, p.5725-5741. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru289>
- Boukhalfa, H.; Lack, J. G.; Reilly, S. D.; Hersman, L.; Neu, M. P.** 2023. Microbial Siderophores and Their Potential Applications: A Review. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27595-1>.
- Bradford, M.M.** 1976. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgramas de proteína utilizando o princípio da ligação proteína corante. *Anal. Bioquímica*, 72, 248–254.
- Brown, K. H.; Peerson, J. M.; Rivera, J.; Allen, L. H.** 2002. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*, v.75, p.1062-1071.
- Bouis, H. E.; Hotz, C.; McClafferty, B.; Meenakshi, J. V.; Pfeiffer, W. H.** 2011. Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. *Food and nutrition bulletin*, v.32, p.31-40.
- Cassán, F.; Coniglio, A.; López, G.; Molina, R.; Nievas, S.; Carlan, C. L. N., Donadio, F.; Torres, D.; Rosas, S.; Pedrosa, F.O.; Souza, E.; Zorita, M.D.; Bashan, L.; Mora, V.** 2020. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, v.56, p.461-479.
- Cakmak, I & Kutman, U. A.** 2018. Agronomic biofortification of cereals with Zn: a review. *European Journal of Soil Science*, v.69, p.172-180. <https://doi.org/10.1111/ejss.12437>
- Cambraia, T. L. L.; Fontes, R. L. F.; Vergütz, L.; Vieira, R. F.; Neves, J. C. L.; Netto, P. S. C.; Dias, R. F. N.** 2019. Biofortificação agrônômica de grãos de feijão com Zn. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.54, p.01003.
- Carmona, V.; Vergara, M.; Cecílio Filho, A. B.; Almeida, H. J. D.; Silva, G. C.; Reis, A. R. D.** 2020. Biofortificação agrônômica de beterraba com Zn via condicionamento osmótico de sementes. *Revista Caatinga*, v.33, p.116-123.
- Chasapis, C. T.; Loutsidou, A. C.; Spiliopoulou, C. A.; Stefanidou, M. E.** 2012. Zinc and human health: an update. *Archives of toxicology*, v.86, p.521-534.
- Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB.** 2024. Acompanhamento da safra brasileira. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/feijão-caupi>. Acesso em: 09 nov. 2024.
- Costa, A. F.; Souza, M. C. M.; Silva, K. R. G.** 2020. Cadernos do Semiárido Riquezas & Oportunidades. Conselho Regional de Engenharia e Agronomia de Pernambuco, v.17.
- Dinesh, R.; Srinivasan, V.; Hamza, S.; Sarathambal, C.; Gowda, S. A.; Ganeshamurthy, A. N.** 2018. Isolation and characterization of potential Zn solubilizing bacteria from soil and its effects on soil Zn release rates, soil available Zn and plant Zn content. *Geoderma*, v.321, p.173–186. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.013>
- Di Salvo, L. P.; Ferrando, L.; Fernández-Scavino, A.; García de Salamone, I. E.** 2018. Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial

communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant and Soil*, v.424, p.405-417.

Duarte, V. L. 2021. Alimentos biofortificados na merenda escola: relato sobre o projeto cooperar e crescer. Cachoeira do Sul. Repositório, UERGS, 2021.

DuBois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. 1956. Método Colorimétrico para Determinação de Açúcares e Substâncias Relacionadas. *Anal. Química*, 28, 350–356.

Eshaghi, E.; Nosrati, R.; Owlia, P.; Malboobi, M. A.; Ghaseminejad, P. 2019. Zinc solubilization characteristics of efficient siderophore-producing soil bacteria. *Iranian Journal of Microbiology*, v.11, p.419. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6854792/>

Ferreira, L. L.; Santos, G. F.; Carvalho, I. R.; Sá Fernandes, M.; Carnevale, A. B.; Lopes, K.; Curvêlo, C.R.S. 2020. Inoculation of *Azospirillum brasilense* in corn. *Communications*, v.10, p.037-045.

Freire Filho, F. R.; Ribeiro, V. Q.; Rocha, M.M.; Silva, K. J. D.; Nogueira, M.S.R.; Rodrigues, E. V. 2011. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa Meio-Norte, p.84.

Frota, K. D. M. G.; Soares, R. A. M.; Arêas, J. A. G. 2008. Chemical composition of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), BRS-Milênio cultivar. *Food Science and Technology*, v.28, p.470-476.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. The State of Food Security and Nutrition in the World. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/publications/sofi/2023/en/>. Acessado em 28 de junho de 2024.

Florencio, C.; Bortoletto-Santos, R.; Favaro, C. P.; Brondi, M. G.; Velloso, C. C., Klaic, R.; Mattoso, L. H. 2022. Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. *Química Nova*, v.45, p.1133-1145.

Fukami, J.; Cerezini, P.; Hungria, M. 2018. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *Amb Express*, v.8, p.73.

Gerrano, A.S.; Van Rensburg, W.S.J.; Adebola, P.O. 2017. Nutritional composition of immature pods in selected cowpea [*Vigna unguiculata*(L.) Walp.] genotypes in South Africa. *Australian Journal of Crop Science*, v.11, p.134-141.

Gonçalves, A. S. F.; Gonçalves, W. M.; Silva, K. M.J.; Oliveira, R. M. 2015. Uso da biofortificação vegetal: uma revisão. *Cerrado Agrociências*, v.6, p.75-87.

Jalal, A.; Júnior, E. F.; Teixeira Filho, M. C. M. 2024. Interaction of zinc mineral nutrition and plant growth-promoting bacteria in tropical agricultural systems: a review. *Plants*, v.13, p.571.

Hammes, C.F. 2020. Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em diferentes cultivares de feijão na Região das Missões-RS. Repositório da Universidade Federal da Fronteira do Sul, 2020.

Loureiro, M. P.; Cunha, L. R.; Nastaro, B. T.; Santos, K. Y.P; Lima, M.N. 2018. Biofortificação de alimentos: problema ou solução? *Segurança Alimentar e Nutricional*, v.25, p. 66-84.

Marcolini, B. D. P. 2018. Inoculação de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio, visando produção de etanol e teor de proteína nos grãos, em milho cultivado na entressafra

sob baixa latitude. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Tocantins - Campus Universitário de Palmas, 2018.

Meenakshi, J. V., Johnson, N. L., Manyong, V. M., DeGroot, H., Javelosa, J., Yanggen, D. R.; Naher, F.; Gonzalez, C.; Garcia, J.; Meng, E. 2010. How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An ex ante assessment. *World Development*, v.38, p.64-75.

Mehdi, F.; Cao, Z.; Zhang, S.; Gan, Y.; Cai, W.; Peng, L.; Wu, Y.; Wang, W.; Yang, B. 2024. Factors affecting the production of sugarcane yield and sucrose accumulation: suggested potential biological solutions. *Frontiers in Plant Science*, v.15, p.1374228.

Mekonnen, T.W.; Gerrano, A.S.; Mbuma, N.W.; Labuschagne, M.T. 2022. Breeding of vegetable cowpea for nutrition and climate resilience in Sub-Saharan Africa: progress, opportunities, and challenges. *Plants*, v.11, p.1583.

Menegassi, B.; Almeida, J. B.; Olimpino, M. Y. M.; Bunharo, M. S. M.; Langa, F. R. 2018. A nova classificação de alimentos: teoria, prática e dificuldades. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.23, p.4165-4176.

Moraes, M.F.; Nutti M.R.; Watanabe, E.; Carvalho, J.L.V. 2009. Práticas agronômicas para aumentar o fornecimento de nutrientes e vitaminas nos produtos agrícolas alimentares. In: *Anais do I Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável; 2009; Viçosa, Minas Gerais: UFV. Viçosa: UFV; 2009.*

Nestel, P.; Bouis, H.E.; Meenakshi, J.V.; Pfeiffer, W. 2006. Biofortificação de culturas alimentares básicas. *The Journal of nutrition*, v.136, p.1064-1067.

Nong, Q.; Malviya, M. K.; Solanki, M. K.; Lin, L.; Xie, J.; Mo, Z.; Wang, Z.; Zong, X.; Huang, X.; Li, C.; Li, Y. 2023. Integrated metabolomic and transcriptomic study unveils the gene regulatory mechanisms of sugarcane growth promotion during interaction with an endophytic nitrogen-fixing bacteria. *BMC Plant Biology*, v.23, p.54.

Oliveira, A. A.; Torres, F. E.; Santos, É. F.; Rodrigues, A. M.; Silva, R. A.; Silva, G. N.; Garcia, F.P.; Magri, T. A. 2022. Nitrogênio e formas de aplicação de *Azospirillum brasilense* em milho cultivado em solo arenoso. *Research, Society and Development*, v.11, p.e56411335819-e56411335819.

Oliveira, A. L. M.; Reis, C.K.; Ferreira, D.C.; Milani, K. M. L.; Santos, O. J. A. P.; Silva, M. B.; Zuluaga, M. Y. A. 2014. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. *Biochemistry and Biotechnology Reports*, v.3, p.56-77.

Oliveira, CF; Silva, MG; Silva, G. N.; Ducatti, KR; Rocha, MDM; Reis, AR; Rabêis, ESF; Lavres, J.; Santos, EF. 2024. Agronomic Biofortification Increases Concentrations of Zinc and Storage Proteins in Cowpea Grains. *Agriculture*. 2024; 14(6):911.

Pedraza, D.F.; Queiroz, D. 2011. Micronutrientes no crescimento e desenvolvimento infantil. *Journal of Human Growth and Development*, v.21, p.156-171.

Pottorff, M., Ehlers, J. D.; Fatokun, C.; Roberts, P. A.; Close, T. J. 2012. Leaf morphology in cowpea [*Vigna unguiculata* (L) Walp]: QTL analysis, physical mapping and identifying a candidate gene using synteny with model legume species. *Genomics*, v. 13, p. 234.

Puri, A.; Padda, K. P.; Chanway, C. P. 2018. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: recent advances. *Nitrogen in agriculture*. IntechOpen, London, GBR, p.73-94.

Ribeiro, N. D.; Jost, E.; Cerutti, T.; Mazieiro, S. M., Poersch, N. L. 2008. Composição de microminerais em cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. *Bragantia*, v.67, p.267-273.

Santos, M. S.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.45, p.e0200128, 2021.

SEMADE - Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Econômico. 2015. Estudo da dimensão territorial do estado de Mato Grosso do Sul: regiões de planejamento. Governo do Estado de Mato Grosso do Sul, p.91.

Silva, V. M.; Nardeli, A. J.; Mendes, N. A. C.; Rocha, M. M.; Wilson, L.; Young, S. D.; Broadley, M. R.; White, P. J.; Reis, A. R. 2021. Agronomic biofortification of cowpea with zinc: Variation in primary metabolism responses and grain nutritional quality among 29 diverse genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 162, p. 378-387, 2021.

Silva, M. B.; Carvalho, A. J.; Rocha, M. M.; Batista, P. S. C.; Santos, P. V.J; Oliveira, S. M. 2018. Desempenho agrônômico de genótipos de feijão-caupi. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 41, p. 1059- 1066.

Silva, J. A. L. D.; Neves, J. A. 2011. Componentes de produção e suas correlações em genótipos de feijão-caupi em cultivo de sequeiro e irrigado. *Revista Ciência Agronômica*, v.42, p.702-713.

Silva, V. M.; Boleta, E. H. M.; Lanza, M. G. D. B.; Lavres, J.; Martins, J. T.; Santos, E. F.; dos Santos, F. L. M; Putti, F. F.; Júnior, E. F.; Branco, P. J.; et. al. 2018. Caracterização fisiológica, bioquímica e ultraestrutural da toxicidade do selênio em plantas de feijão-caupi. *Meio Ambiente. Exp. Robô.* 2018,150, 172– 182.

Sousa, W. N.; Brito, N. F.; Santos, F. C.; Barros, I. B.; Sousa, J. T. R.; Freitas Sia, E.; Reis, I. M.S. 2018. Resposta do feijão-caupi à inoculação de *Bradyrhizobium japonicum*, adubação nitrogenada e nitrogênio do solo. *Revista Agroecossistemas*, v.10, p.298-308.

Souza, H. A. D.; Hernandez, A.; Romualdo, L. M.; Rozane, D. E.; Natale, W.; Barbosa, J. C. 2011. Folha diagnóstica para avaliação do estado nutricional do feijoeiro. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.15, p.1243-1250.

Skonieski, F. R.; Viégas, J.; Martin, T. N.; Nörnberg, J. L.; Meinerz, G. R.; Tonin, T. J.; Ber, P.; Frata, M. T. 2017. Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.46, p.722-730.

Saubidet, M.I.; Fatta, N.; Barneix, A.J. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil*, v.245, p.215-222.

Scudeletti, D.; Crusciol, C. A. C.; Momesso, L.; Bossolani, J. W.; Moretti, L. G.; Oliveira, E. F.; Tubaña, B.S.; Silva, M.A.; Castro, S.G.Q.; Hungria, M. 2023. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a strategy to enhance sugarcane biomass production and bioenergy potential. *European Journal of Agronomy*, v.144, p.126749.

Suganya, A.; Saravanan, A.; Manivannan, N. 2020. Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, v.51, p.2001-2021.

Togola, A.; Datinon, B.; Laouali, A.; Traore, F.; Agboton, C.; Ongom, P. O.; Ojo, J.A.; Pittendrigh, B.; Boukar, O.; Tamò, M. 2023. Recent advances in cowpea IPM in West Africa. *Frontiers in Agronomy*, v.5, p. 1220387.

Vale, J. C.; Bertini, C.; Borem, A. 2017. Feijão-caupi: do plantio a colheita. 1. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, p.267.

van Handel, E. 1968. Microdeterminação direta de sacarose. *Anal. Bioquímica*, 22, 280–283.

Vergütz, L.; Luz, J. M. R.; Silva, M. C. S.; Kasuya, M. 2016. Biofortificação de alimentos: saúde ao alcance de todos. *Boletim informativo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, v.42, p.20-23.

Xie, B.; Wei, X.; Wan, C.; Zhao, W.; Song, R.; Xin, S.; Song, K. (2024). Exploring the Biological Pathways of Siderophores and Their Multidisciplinary Applications: A Comprehensive Review. *Molecules*, v.10, p.2318 <https://doi.org/10.3390/molecules29102318>.

Yemm, E. W.; Cocking, C. E.; Ricketts, R. E. 1955. A determinação de aminoácidos com ninidrina. *Analista*, 80, 209–214.