http://journal.unoeste.br/index.php/ca/index
DOI: 10.5747/ca.2019.v15.n6.a331
ISSN on-line 1809-8215

Colloquium Agrariae

Submetido: 28/06/2019 Revisado: 01/11/2019 Aceito: 01/11/2019

Caracterização de rizobios noduladores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em solos de três estados do nordeste brasileiro

Marineide Rodrigues do Amorim, Antonio Victor Cavalcante Rocha Silva, Jadson Emanuel Lopes Antunes, Louise Melo de Souza Oliveira, Ademir Sérgio Ferreira Araújo

Universidade Federal do Piauí – UFPI. E-mail: asfaruaj@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi caracterizar isolados de rizóbios noduladores de feijão-fava oriundos de solos dos estados do Ceará, Piauí e Maranhão. Amostras de solos foram coletadas de áreas produtoras de feijão-fava (Ordem: Fabales, Família: Fabaceae, Espécie: *Phaseolus lunatus* L.) nos três estados. O experimento foi realizado em vasos, contendo solo de cada local, semeados com feijão-fava. A coleta dos nódulos para isolamento e caracterização foi realizada aos 35 dias após a emergência das plantas. O total de 75 isolados foram obtidos e submetidos a caracterização morfológica e fisiológica. Morfologicamente, a maioria dos isolados exibiram colônias circulares, convexas, com bordas inteiras e de superfície lisa. Fisiologicamente, todos os isolados apresentaram crescimento rápido e a maioria apresentou reação ácida, habilidade moderada de produzir muco com consistência gomosa e colônias com coloração creme. Os isolados encontrados nestes solos apresentaram características morfológicas e fisiológicas similares àquelas encontradas nos gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium, Allorhizobium* e *Mesorhizobium.*

Palavras-chave: diversidade morfofisiológica; simbiose; condições edafoclimáticas.

Characterization of lima bean-nodulating rhizobia in soils from three northeastern Brazilian States

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize lima bean-nodulating rhizobia from soils of northeastern Brazil. Soil samples were collected in regions with production of lima bean in Ceara, Piaui and Maranhao states. The experiment was conducted in pots containing soil from each region, sowed with lima bean. Nodules were sampled for isolation and characterization at 35 days after plant emergence. A total of 75 isolates were found and submitted to morphological and physiological characterization. Morphologically, the majority of isolates exhibited circular and convex colonies with entire border and smooth surface. Physiologically, all isolated presented fast growth, and the majority of isolates presented acid reaction, moderate ability to produce mucus with gummy consistency and colonies with cream coloration. The isolates found in this study presented similar characteristics to genera *Rhizobium*, *Sinorhizobium, Allorhizobium* e *Mesorhizobium.*

Keywords: *Phaseolus lunatus*; leguminous; tropical soils.

Introdução

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma das espécies do gênero *Phaseolus* de grande importância socioeconômica especialmente na região Nordeste do Brasil. A espécie, cultivada principalmente na América Latina, apresenta grande diversidade genética e capacidade de adaptação à diferentes ambientes (ARAÚJO *et al.*, 2017). Além disto, o feijão-fava tem a capacidade de realizar simbiose com bactérias diazotróficas, comumente conhecidas por rizóbios, responsáveis pelo processo de Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN) e, desta forma, fornecer o nutriente às plantas (BARAÚNA *et al.*, 2014). O processo ocorre no interior de nódulos que são formados a partir de sinalizações moleculares

entre a planta e a bactéria. Além disso, a FBN é influenciada por fatores edafoclimáticos que podem reduzir a eficiência do processo (DABESSA *et al.*, 2018).

Desta forma, o isolamento e caracterização de rizóbios noduladores do feijão-fava em solos de áreas produtoras da cultura pode possibilitar a identificação e futura seleção de estirpes adaptadas as condições edafoclimáticas presentes. No Brasil, a caracterização de isolados noduladores em leguminosas tem sido utilizada como ferramenta na identificaçãoo de bactérias simbiontes em feijão-comum e feijão-caupi (CARDOSO *et al.*, 2017; CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2013). Em feijão-fava, estudos utilizaram a caracterização de isolados na identificação de rizóbios noduladores em solos do Peru e México que são considerados centros de diversidade da espécie (ORMEÑO-ORRILLO *et al.*, 2006; LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2013; DURÁN *et al.*, 2014; MOTTA-ALDANA *et al.*, 2010). Estes estudos identificaram os gêneros *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* como principais gêneros noduladores de feijão-fava no Peru e no México (ORMEÑO *et al.*, 2007; LOPEZ-LOPEZ *et al.*, 2013).

Por outro lado, na região nordeste do Brasil, provável centro de domesticação pela grande diversidade genética presente, os estudos são incipientes na caracterização de bactérias noduladoras na espécie. O principal estudo de caracterização de isolados de rizóbios em feijão-fava no Nordeste brasileiro foi conduzido por Santos *et al.* (2011) em solo do Piauí e que, utilizando uma abordagem morfofisiológica, identificaram os gêneros *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium* como simbiontes da espécie. Desta forma, a caracterização de isolados de rizóbios em solos de outras regiões produtoras do Nordeste possibilitaria ampliar o conhecimento sobre a diversidade de bactérias fixadoras de N noduladoras do feijão-fava e, possivelmente, subsidiaria indicações comerciais para inoculantes. Além disso, as condições edafoclimáticas de cada região influenciam na diversidade dos rizóbios. Neste sentido, a principal hipótese deste estudo é que as diferentes características das regiões produtoras de feijão-fava contribuiriam para ampliar a diversidade de rizóbios noduladores da espécie. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar isolados de rizóbios oriundos de solos dos estados do Ceará, Piauí e Maranhão.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI) (05º05’21” S e 42º48’07” W) entre abril e julho de 2017, Teresina/ Piauí. As amostras de solos utilizadas no experimento foram oriundas de regiões produtoras de feijão-fava nos municípios de Tianguá – Ceará (03º 43' 56" S; 40º 59' 30" W), Várzea Grande - Piauí (06º 32' 41" S; 42º 14' 47" W) e São Domingos do Maranhão - Maranhão (5° 34' 46'' S, 44° 22' 59'' W).

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 5 kg cada em triplicata. De cada localidade foram coletadas 15 kg de solo a uma profundidade de 0-20cm em 10 pontos distintos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições. Em cada vaso foram semeadas oito sementes de feijão-fava, genótipo UFPI-491 (“Boca de Moça”) oriunda do Banco Ativo de Germoplasma de feijão-fava (BAG de feijão-fava) da UFPI. Após sete dias do plantio, o desbaste foi realizado deixando uma planta por vaso. A correção do solo e a adubação química (80kg ha $^{-1}$ P_2O_5, 20kg ha $^{-1}$ K_2O), sem N, foi realizada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura (BEZERRA *et al.*, 2010).

A coleta dos nódulos para isolamento e caracterização foi realizada aos 35 dias após a emergência das plantas. Os nódulos sadios foram lavados em água corrente e armazenados em tubos contendo sílica gel. No isolamento, os nódulos foram reidratados por 12 horas em água destilada autoclavada e, posteriormente, esterilizados com álcool 95% (30 segundos), hipoclorito de sódio 2% (2 minutos) (HUNGRIA, 1994). Os três maiores nódulos foram selecionados e macerados em solução salina a 0,85% de NaCl. Posteriormente, 200µl do macerado foram colocados em placa de Petri contendo o meio de extrato de levedura-manitol-ágar-YMA (VINCENT, 1970), em triplicata, com o reagente Vermelho Congo 0,025% (v/v) (HUNGRIA, 1994). Os isolados foram submetidos a coloração de Gram e aqueles que apresentaram reação negativa, indicativas de rizóbio, foram armazenados em 4°C para posterior caracterização morfológica e fisiológica.

A caracterização morfológica foi realizada em meio sólido YMA com o indicador ácido-básico azul de bromotimol (VINCENT, 1970). Os isolados foram caracterizados através dos descritores: 1) Forma da colônia (FC- punctiforme

(até 1 mm de diâmetro); circular (com mais de 1 mm de diâmetro); irregular; filamentosa); 2) Elevação da colônia (EC - plana, lenticular, convexa, pulvinada); 3) Bordas da colônia (BC- inteiros, ondulados, lobados, denteada, filamentosa); 4) Superfície da colônia (SC- lisa, rugosa, papilada); 5) Caracteres ópticos da colônia (DO - opaca, translúcida e transparente) (MELLONI *et al.*, 2006).

A caracterização fisiológica foi realizada em meio YMA com indicador azul de bromotimol, considerando os descritores: 1) tempo de crescimento (TC: MR- muito rápido, 1 dia, R - rápido, 2 a 3 dias, I – intermediário - 4 a 5 dias, L- lento- 6 a 15 dias) (MARTINS *et al.*, 1997); 2) formação de ácidos e álcalis (FAA: AC - ácida, N- neutra, AL - alcalina), 3) formação de muco (FM: A - ausente, P - presente); 4) volume do muco (VM: UM - muito, M - médio, P - pouco e S - seco); 5) elasticidade do muco (EM: P - presença de fio, A - ausência de fio), 6) Cromogenia ou Pigmentação da colônia - amarela, branca, creme, incolor (MELLONI *et al.*, 2006).

Na análise de divergência genética entre os isolados bacterianos noduladores de feijão-fava utilizou-se a moda dos dados referentes às características morfológicas e fisiológicas para obter-se a matriz de dissimilaridade, que posteriormente foi submetida ao método hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). O corte no dendrograma gerado pelo método UPGMA foi realizado no ponto em que se observou a mudança abrupta de nível, conforme recomendado por Cruz *et al.*, (2004). As análises do dendrograma foram realizadas com auxílio do programa GENES (CRUZ, 2013).

Resultados e Discussão

Um total de 75 isolados foram caracterizados, sendo 17, 17 e 41 oriundos dos solos dos estados do Ceará, Piauí e Maranhão, respectivamente. Os resultados da caracterização morfológica e fisiológica estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Características morfológicas e fisiológicas dos isolados de rizóbios noduladores de feijão-fava, oriundos de solo de São Domingos do Maranhão, Maranhão.

Isolados	Características morfológicas [1]					Características fisiológicas[2]				
	FC	EC	BC	SC	DO	TC	pH	PM	TM	CC
MA01	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	VC	AM
MA03	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	AM
MA06	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	MD	GM	AM
MA07	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	GM	AM
MA08	EL	CV	IT	LS	TL	RP	NE	MD	GM	CR
MA11	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	AD	GM	AM
MA12	CI	PL	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA13	EL	CV	IT	LS	OP	RP	AC	PC	GM	CR
MA14	CI	PL	OD	LS	OP	RP	AC	PC	GM	AM
MA15	IR	CV	OD	RG	OP	RP	AC	PC	GM	AM
MA17	CI	PL	IT	LS	TL	RP	AC	EC	SC	CR
MA18	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	VC	CR
MA20	CI	PL	IT	LS	OP	RP	AC	PC	GM	CR
MA21	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA22	CI	PL	IT	LS	TL	RP	AC	EC	SC	CR
MA25	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	PC	GM	AM
MA27	CI	CV	IT	RG	OP	RP	AC	MD	VC	CR
MA28	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	VC	CR
MA29	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	GM	AM
MA31	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA32	CI	PL	IT	LS	OP	RP	NE	EC	SC	CR
MA33	IR	PL	OD	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA34	IR	PL	IT	RG	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA36	CI	CV	IT	RG	OP	RP	AC	AD	GM	CR
MA37	CI	PL	IT	RG	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA39	CI	CV	IT	RG	OP	RP	AC	MD	VC	CR
MA41	CI	PL	IT	LS	OP	RP	AC	PC	GM	CR
MA42	IR	PL	OD	RG	TL	RP	AC	EC	SC	CR
MA45	CI	PL	IT	RG	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA46	IR	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	VC	AM
MA48	CI	CV	OD	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA49	CI	PL	IT	LS	OP	RP	AC	PC	GM	CR
MA51	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA52	CI	PL	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	AM
MA53	CI	PL	OD	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA54	CI	CV	OD	LS	TL	RP	AC	AD	VC	CR
MA55	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
MA56	IR	CV	OD	LS	TL	RP	AC	MD	GM	AM
MA59	CI	PL	IT	RG	OP	RP	AC	MD	GM	AM
MA61	IR	CV	IT	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
MA62	IR	PL	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR

[1]Morfológicas: FC - forma (CI: circular, IR: irregular, EL: elipsóide); EC - elevação (CV: convexa, PL: plana);BC - borda (IT: inteira, OD: ondulada);SC- superfície (LS: lisa, RG: rugosa); DO- detalhes ópticos (TL: translúcida, OP: opaco) [2]Fisiológicas: TC - tempo de crescimento (RP: rápido); pH- formação de ácido e álcalis (AC: ácida, NE: neutro); PM- produção de muco (AD: abundante, MD: moderada; PC: pouco; EC: escassa), TM - consistência do muco (GM: gomosa; VC: viscosa (elástica); SC: seca), CC- cor (CR: creme, AM: amarelo).

Morfologicamente, a maioria dos isolados exibiram colônias circulares, convexas, com bordas inteiras e de superfície lisa. Entretanto, as colônias opacas foram mais frequentes entre os isolados do solo do Ceará, enquanto nos solos do Piauí e Maranhão predominaram isolados com colônias translúcidas. Fisiologicamente, todos os isolados apresentaram crescimento rápido.

Por outro lado, a maioria dos isolados apresentou reação ácida, habilidade moderada de produzir muco com consistência gomosa e colônias com coloração creme. Entretanto, um total de dez isolados apresentou abundância de muco.

Tabela 2: Características morfológicas e fisiológicas dos isolados de rizóbios noduladores de feijão-fava, oriundos de solo de Tianguá, Ceará.

Isolados	Características morfológicas [1]					Características fisiológicas [2]				
	FC	EC	BC	SC	DO	TC	pH	PM	TM	CC
CE02	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
CE03	CI	CV	OD	LS	OP	RP	NE	PC	VC	CR
CE06	CI	CV	OD	LS	TL	RP	AC	MD	GM	AM
CE10	EL	CV	IT	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
CE15	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
CE17	IR	CV	OD	LS	OP	RP	AC	MD	GM	CR
CE18	CI	CV	IT	LS	OP	RP	NE	MD	GM	CR
CE19	CI	CV	IT	LS	TL	RP	NE	MD	GM	CR
CE27	EL	PL	IT	LS	TL	RP	AC	PC	GM	CR
CE32	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	VC	CR
CE34	CI	CV	IT	LS	OP	RP	AC	AD	GM	AM
CE36	CI	CV	IT	LS	OP	RP	NE	MD	GM	CR
CE40	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
CE43	CI	PL	IT	RG	OP	RP	AC	EC	VC	IN
CE48	CI	CV	IT	RG	OP	RP	AC	PC	GM	AM
CE49	CI	CV	OD	LS	TL	RP	NE	MD	GM	CR
CE52	CI	CV	IT	LS	TL	RP	NE	MD	GM	CR

[1]Morfológicas: FC - forma (CI: circular, IR: irregular, EL: elipsóide); EC - elevação (CV: convexa, PL: plana);BC - borda (IT: inteira, OD: ondulada);SC- superfície (LS: lisa, RG: rugosa); DO- detalhes ópticos (TL: translúcida, OP: opaco) [2]Fisiológicas: TC - tempo de crescimento (RP: rápido); pH- formação de ácido e álcalis (AC: ácida, NE: neutro); PM- produção de muco (AD: abundante, MD: moderada; PC: pouco; EC: escassa), TM - consistência do muco (GM: gomosa; VC: viscosa (elástica); SC: seca), CC- cor (CR: creme, AM: amarelo).

Tabela 3: Características morfológicas e fisiológicas dos isolados de rizóbios noduladores de feijão-fava, oriundos de solo de Várzea Grande, Piauí.

Isolados	Características morfológicas [1]					Características fisiológicas [2]				
	FC	EC	BC	SC	DO	TC	pH	PM	TM	CC
PI02	EL	CV	OD	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
PI03	CI	CV	IT	RG	OP	RP	AC	PC	GM	CR
PI04	CI	CV	OD	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
PI08	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	VC	CR
PI09	IR	PL	OD	RG	OP	RP	AC	MD	GM	AM
PI10	CI	PL	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
PI11	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	GM	AM
PI12	CI	CV	IT	RG	TL	RP	AC	PC	GM	CR
PI13	EL	CV	OD	LS	OP	RP	AC	PC	VC	CR
PI17	IR	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
PI18	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	CR
PI21	EL	CV	IT	LS	TL	RP	AC	AD	VC	AM
PI25	IR	PL	OD	LS	TL	RP	AC	MD	VC	CR
PI26	IR	CV	IT	LS	TP	RP	NE	EC	SC	IN
PI40	CI	PL	IT	RG	OP	RP	AC	PC	GM	CR
PI45	CI	CV	IT	LS	TL	RP	AC	MD	GM	AM
PI49	CI	PL	OD	LS	OP	RP	NE	PC	GM	CR

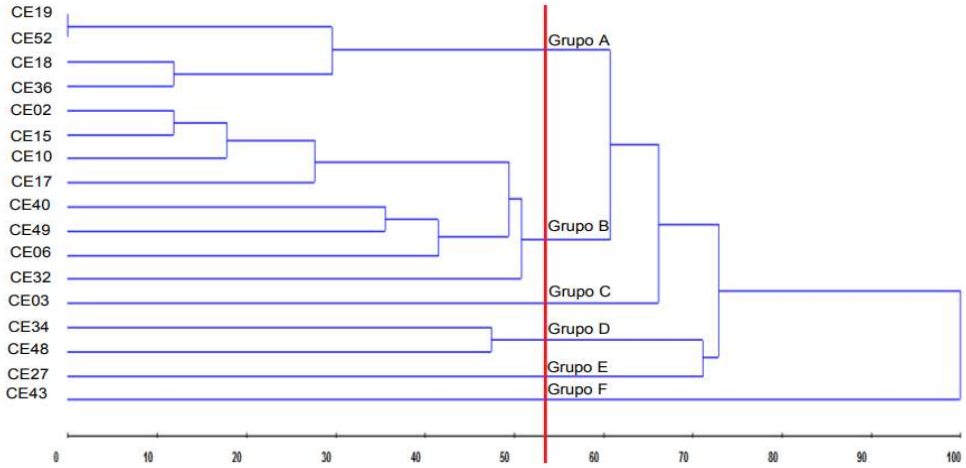
[1]Morfológicas: FC - forma (CI: circular, IR: irregular, EL: elipsóide); EC - elevação (CV: convexa, PL: plana);BC - borda (IT: inteira, OD: ondulada);SC- superfície (LS: lisa, RG: rugosa); DO- detalhes ópticos (TL: translúcida, OP: opaco) [2]Fisiológicas: TC - tempo de crescimento (RP: rápido); pH- formação de ácido e álcalis (AC: ácida, NE: neutro); PM- produção de muco (AD: abundante, MD: moderada; PC: pouco; EC: escassa), TM - consistência do muco (GM: gomosa; VC: viscosa (elástica); SC: seca), CC- cor (CR: creme, AM: amarelo).

Estes resultados indicam uma diversidade entre os rizóbios noduladores do feijão-fava nos três estados e sugere que as diferenças nas condições edafoclimáticas e localização geográfica exercem influência sobre os tipos e a distribuição de comunidades microbianas na rizosfera.

As características fisiológicas de acidificação do meio são indicativas de bactérias que podem apresentar adaptação a condições ácidas de solo. Esta característica é importante uma vez que o pH do solo é um fator limitante a FBN, influenciando na sobrevivência da bactéria e na nodulação (RUFINI *et al.*, 2011). Desta forma, a presença de isolados com adaptação a acidez pode ser uma vantagem para a seleção de estirpes. Em relação à produção de muco apresentada pela maioria dos isolados, os resultados indicam habilidades dos isolados na sobrevivência a condições ambientais adversas, tais como tolerância a seca e isto é importante, principalmente, para os solos do Nordeste que apresentam períodos de escassez de umidades e altas temperaturas (ALMEIDA *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2018). Estas características positivas podem ser associadas à habilidade de crescimento rápido apresentado pelo total de isolados. Segundo Santos *et al.* (2011), o crescimento rápido favorece uma maior sobrevivência no solo, pois os isolados podem estar mais adaptados as condições edafoclimáticas da região. Dentre os gêneros que apresentaram estas características fisiológicas neste estudo estão *Rhizobium* (HUNGRIA *et al.*, 2016), *Sinorhizobium* (MATSUBARA; ZÚÑIGA-DÁVILA, 2015), *Allorhizobium,* e *Mesorhizobium* (MARCHETTI *et al.*, 2017). Estes gêneros bacterianos são simbiontes de algumas importantes leguminosas, tais como feijão-comum e feijão-caupi (MELO; ZILLI, 2009; Silva *et al.*, 2009). Esses resultados contrastam com estudos anteriores que reportaram *Bradyrhizobium* como o principal gênero nodulador do feijão-fava (ORMEÑO-ORRILLO *et al.*, 2006; LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2013). Além disso, estas características fisiológicas apresentadas pelos isolados neste estudo corroboram com os resultados apresentados por Silva *et al.* (2007) na caracterização de rizóbios do solo da região semi-árida de Pernambuco.

Os dendrogramas de dissimilaridade das características morfológicas e fisiológicas mostraram diferentes níveis de agrupamento dos isolados. No solo do Ceará, utilizando-se uma linha de corte de 52% de dissimilaridade, houve a formação de seis grupos de diversidade (A, B, C, D, E e F). O grupo B reuniu o maior número de isolados, enquantoque os grupos C, E e F foram formados por único isolado (Figura 1).

Figura 2. Dendrograma obtido pelo agrupamento hierárquico UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade genética usando caracterização morfofisiológica e bioquímica de isolados rizobianos dos solos do Ceará.



O isolado CE43, pertencente ao grupo F, foi o isolado com o maior número de caracteres fenotípicos divergentes, tais como baixa produções de muco com consistência viscosa e incolor, e, desta forma, agrupou-se aos demais isolados somente a 100% de dissimilaridade.

No solo do Piauí, a partir de 48% de dissimilaridade, houve a formação de cinco grupos de diversidade (A, B, C, D e E; Figura 3). Os dados mostraram a formação de dois grupos únicos: D (isolado PI09) e E (isolado PI26). O isolado PI26 agrupou-se aos demais isolados apenas a 100% de dissimilaridade. Por outro lado, os isolados oriundos do solo do Maranhão formaram 13 grandes grupos de diversidade (A, B, C, D, E, F, G, H, I J, K, L e M) (Figura 4).

O grupo A exibiu maior complexidade com 23 isolados, enquanto os grupos B, C, D, E, H, I, K, L, M foram caracterizados por grupos únicos (Figura 4).

Figura 3. Dendrograma obtido pelo agrupamento hierárquico UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade genética usando caracterização morfofisiológica e bioquímica de isolados rizobianos dos solos do Piauí.

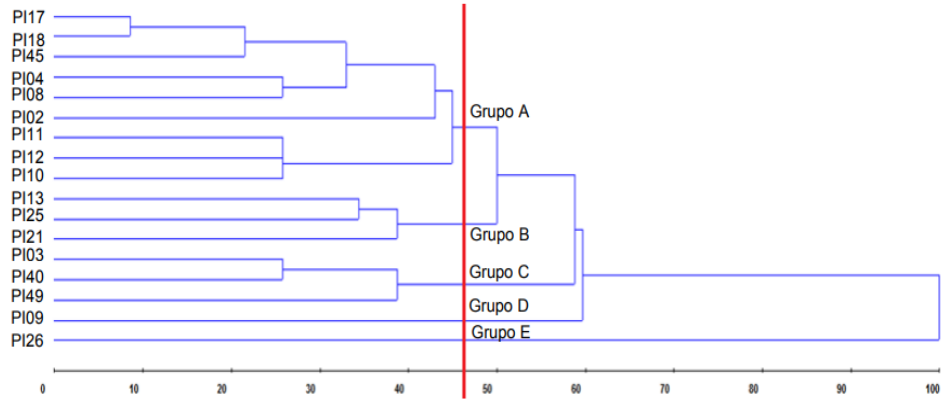
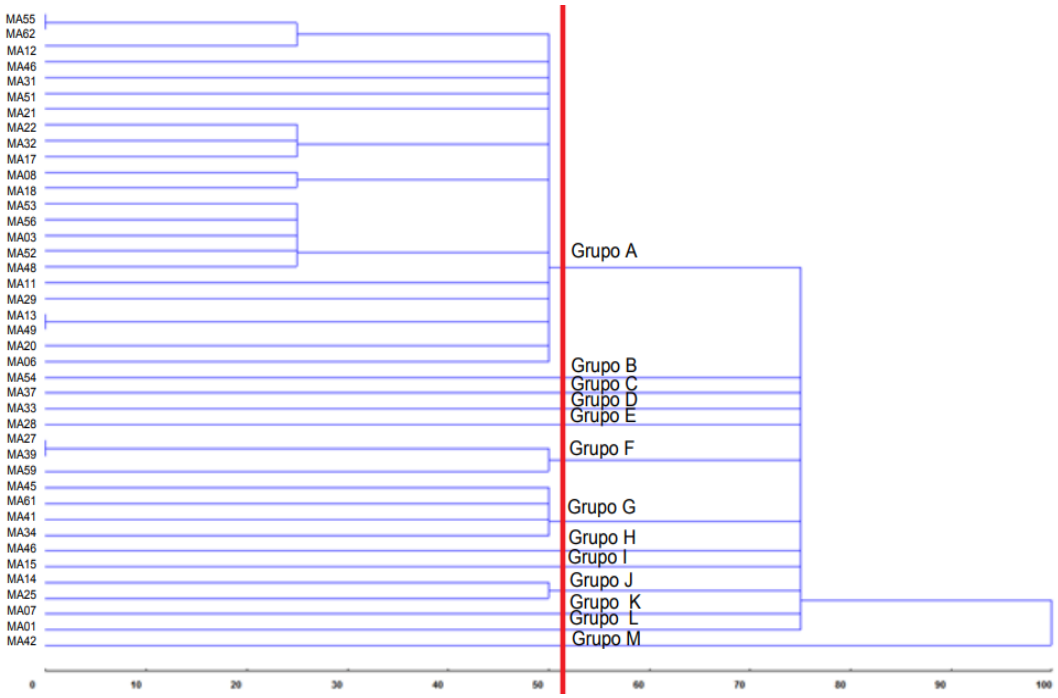


Figura 4. Dendrograma obtido pelo agrupamento hierárquico UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade genética usando caracterização morfofisiológica e bioquímica de isolados rizobianos dos solos do Maranhão.



Estes resultados mostram que há uma grande diversidade de rizóbios nativos noduladores de feijão-fava no estado do Nordeste e confirmam os resultados observados em estudos anteriores (SILVA *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2011). Por um lado, o comportamento apresentado pelo feijão-fava em relação às bactérias noduladores sugere que a espécie apresenta baixa especificidade hospedeira conforme reportado por Andrews e Andrews (2017) que observaram o feijão-fava sendo nodulado por *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*. Por outro lado, esta baixa especificidade hospedeira pode indicar a espécie como uma opção entre planta-isca de rizóbios.

Conclusões

Os solos dos estados do Ceará, Piauí e Maranhão apresentam uma grande diversidade de rizóbios noduladores de feijão-fava. Os isolados encontrados nestes solos apresentaram características morfológicas e fisiológicas similares àquelas encontradas nos gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium, Allorhizobium* e *Mesorhizobium.* Estudos futuros sobre caracterização molecular e a eficiência destes isolados na FBN em feijão-fava serão importantes para a busca de estirpes para inoculação na cultura.

Referências

ALMEIDA, A. M. M.; MENDES FILHO, P. F.; GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; ALMEIDA, C. L. Densidade, caracterização e eficiência de bactérias fixadoras de Nitrogênio em áreas de caatinga degradada. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 1, p. 16-21, 2018. https://doi.org/10.18378/rvads.v13i1.5282

ANDREWS, M.; ANDREWS, M. E. Specificity in legume-rhizobia symbioses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 705, 2017. https://doi.org/10.3390/ijms18040705

ARAÚJO, A. S. F.; LOPES, Â. C. A.; TERAN, J. C. B. Y.; PALKOVIC, A.; GEPTS, P. Nodulation ability in different genotypes of Phaseolus lunatus by rhizobia from California agricultural soils. **Symbiosis,** v. 73, n. 1 p. 7-14, 2017. https://doi.org/10.1007/s13199-016-0465-0

BARAÚNA, A. C., SILVA, K., PEREIRA, G. M. D., KAMINSKI, P. E., PERIN, L., ZILLI, J. E. Diversity and nitrogen fixation efficiency of rhizobia isolated from nodules of *Centrolobium paraense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 4, p. 296-305, 2014.

https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000400008

BEZERRA, B. R.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, J. A.; CARNEIRO, R. F. V. Fertilidade do solo e adubação. *In*: ARAÚJO, A. S. F.; LOPES, Â. C. A.; GOMES, R. L. F. (Org.). **A cultura do feijão-fava na região Meio-Norte do Brasil**. 1. ed. Teresina: EDUFPI, 2010. p. 129-138. v. 1.

CARDOSO, A. A., ANDRAUS, M. P., BORBA, T. C. O., MARTIN-DIDONET, C. C. G., FERREIRA, E. P. B. Characterization of rhizobia isolates obtained from nodules of wild genotypes of common bean. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 43-50, 2017. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.002

CHAGAS JÚNIOR, A. F.; OLIVEIRA, L. A.; CASTRO, H. G.; CORNÉLIO, G. L.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B.; COSTA, J. L. Isolation and phenotypic characterization of rhizobia that nodulate cowpea in the Cerrado in Tocantins State, Brazil. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 3, p. 249-259, 2013. Disponível em: https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/123/4787/1/isolation.pdf. Acesso em: 21 mar. 2019. https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v4n3.chagasjunior

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 2004. 480 p. Disponível em: http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=agrono.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=005438. Acesso em: 21 mar. 2019.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013**.** https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251

DABESSA, A.; ABEBE, Z.; BEKELE, S. Limitations and strategies to enhance biological nitrogen fixation in sub-humid tropics of Western Ethiopia. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, v. 10, n. 7, p. 122-131, 2018. https://doi.org/10.5897/JABSD2018.0318

DURÁN, D., REY, L., MAYO, J., ZÚÑIGA-DÁVILA, D., IMPERIAL, J., RUIZ-ARGÜESO, T., MARTI´NEZ-ROMERO, E., ORMEÑO-ORRILLO, E. *Bradyrhizobium paxllaeri* sp. nov. and *Bradyrhizobium icense* sp. nov., nitrogen-fixing rhizobial symbionts of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Peru. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 64, n. 6, p. 2072-2078, 2014. https://doi.org/10.1099/ijs.0.060426-0

HUNGRIA, M. Coleta de nódulos e isolamento de rizóbio. *In*: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudo de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-spi, 1994. p. 45-61.

HUNGRIA, M.; O'HARA, G.; ZILLI, J., ARAUJO, R.; DEAKER, R.; HOWIESON, J. Isolation and growth of rhizobia. *In:* HOWIESON, J. G.; DILWORTH, M. J. (Eds.). **Working with rhizobia**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 2016. p. 39–60. Disponível em: http://researchrepository.murdoch.edu.au/id/eprint/34579. Acesso em: 21 mar. 2019.

LÓPEZ-LÓPEZ, A.; NEGRETE-YANKELEVICH, S.; ROGEL, M. A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Native bradyrhizobia from Los Tuxtlas in Mexico are symbionts of *Phaseolus lunatus* (Lima bean). **Systematic and applied microbiology**, v. 36, n. 1, p. 33-38, 2013. https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.10.006

MARCHETTI, M. M.; SANTOS, J. C. P.; BARATTO, C. M. Caracterização de bactérias em nódulos de leguminosas arbóreas de fragmentos da floresta ombrófila mista. **Scientia agraria**, v. 18, n. 4, p. 50-62, 2017. Disponível em: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6294990. Acesso em: 21 mar. 2019. https://doi.org/10.5380/rsa.v18i4.51383

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G**. Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de "Rizóbio"**. Seropédica: Embrapa CNPAB, 1997. 14 p. (Série Embrapa CNPAB. Comunicado técnico, 19). Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/623573/1/cot019.pdf. Acesso em: 21 mar. 2019.

MATSUBARA, M.; ZÚÑIGA-DÁVILA, D. Phenotypic and molecular differences among rhizobia that nodulate *Phaseolus lunatus* in the Supe valley in Peru. **Annals of microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1803-1808, 2015. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1054-9

MELO, S. R.; ZILLI, J. E. Fixação biológico de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1177-1183, 2009. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000900016

MELLONI, R.; MOREIRA, F. M. D. S.; NÓBREGA, R. S. M.; SIQUEIRA, J. O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.2, p. 235-246, 2006. Disponível em: https://www.redalyc.org/html/1802/180214051005/. Acesso em: 21 mar. 2019. https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000200005

MOTTA-ALDANA, J. R., SERRANO-SERRANO, M. L., HERNÁNDEZ-TORRES, J., CASTILLO-VILLAMIZAR, G., DEBOUCK, D. G. Multiple origins of Lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. **Crop Science**, v. 50, n. 5, p. 1773-1787, 2010. https://doi.org/10.2135/cropsci2009.12.0706

ORMEÑO, E.; TORRES, R.; MAYO, J.; RIVAS, R.; PEIX, A.; VELÁZQUEZ, E.; ZÚNIGA, D. *Phaseolus lunatus* is nodulated by a phosphate solubilizing strain of *Sinorhizobium meliloti* in a Peruvian soil. VALÁZQUEZ, E.; RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. *In*: **First international meeting on microbial phosphate solubilization**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 143-147. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-5765-6_21. Acesso em: 21 mar. 2019. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5765-6_21

ORMEÑO-ORRILLO, E.; VINUESA, P.; ZUNIGA-DAVILA, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Molecular diversity of native bradyrhizobia isolated from Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Peru. **Systematic and applied microbiology**, v. 29, n. 3, p. 253-262, 2006. ttps://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.09.002

RODRIGUES, D. R.; SILVA, A. F.; CAVALCANTI, M. I. P.; ESCOBAR, I. E. C.; FRAIZ, A. C. R.; RIBEIRO, P. R. A.; FERREIRA NETO, R. A.; FREITAS, A. D. S.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I. Phenotypic, genetic and symbiotic characterization of *Erythrina velutina* rhizobia from Caatinga dry forest. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 503-512, 2018. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.09.007

RUFINI, M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; OLIVEIRA, D. P.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro-comum em diferentes valores de pH. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 46, n.1, p.81-88, 2011. Disponível em: http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/9429/6186. Acesso em: 21 mar. 2019. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000100011

SANTOS, J. O.; ANTUNES, J. E. L.; ARAÚJO, A. S. F.; LYRA, M. C. C. P.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Genetic diversity among native isolates of rhizobia from *Phaseolus lunatus*. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 3, p. 437-444, 2011. https://doi.org/10.1007/s13213-010-0156-7

SILVA, V. N.; SILVA, L. E. D. S. F.; FIGUEIREDO, M. D. V. B.; CARVALHO, F. G.; SILVA, M. L. R. B.; SILVA, A. J. N. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semi-árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical,** v.37, n.1, p.16-21, 2007. Disponível em: https://www.redalyc.org/html/2530/253020279004/. Acesso em: 21 mar. 2019.

SILVA, E. F.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F.; MERCANTE, F. M.; RODRIGUES, E. T.; VITORINO, A. C. T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio**. Bragantia,** v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009. https://doi.org/10.1590/S0006-87052009000200019

VINCENT, J. M. **A manual for the pratical study of root-nodule-bacteria**. Oxford: Blackwells Scientific Publications, 1970. 164 p.