



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA.
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
CAMPUS II – LAGOA SECA/PB
CURSO DE GRADUAÇÃO BACHARELADO EM AGROECOLOGIA**

GABRIELLY KETLY VIDAL DE OLIVEIRA

**DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ASSOCIADAS AO FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus* L.) NO AGRESTE PARAIBANO**

**LAGOA SECA – PB
Dezembro, 2018**

GABRIELLY KETLY VIDAL DE OLIVEIRA

**DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ASSOCIADAS AO FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus* L.) NO AGRESTE PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação Bacharelado em Agroecologia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de **Bacharel em Agroecologia**.

Orientador: Dr. Suenildo Josémo Costa Oliveira

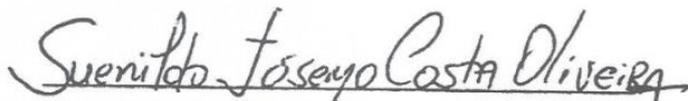
**LAGOA SECA – PB
Dezembro, 2018**

GABRIELLY KETLY VIDAL DE OLIVEIRA

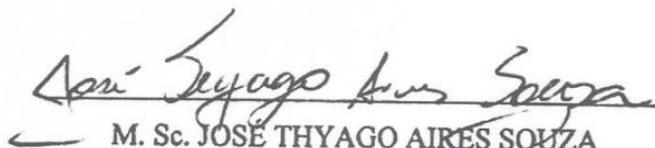
**DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
ASSOCIADAS AO FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus* L.) NO AGRESTE
PARAIBANO**

Aprovada em: 03 / 12 / 2018.

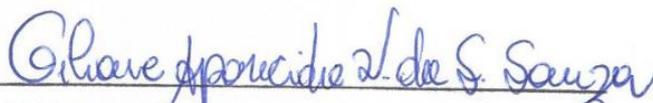
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. SUENILDO JOSÉMO COSTA OLIVEIRA (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



M. Sc. JOSÉ THYAGO AIRES SOUZA
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



M. Sc. GILIANE APARECIDA VICENTE DA SILVA SOUZA
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

DEDICATÓRIA

A minha mãe, a minha família e amigos por toda dedicação, companheirismo, amizade e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo o dom da vida e por toda força e paciência concedidos durante todo período da graduação.

À minha mãe M^a Cristiane S. Vidal, pelo incentivo, amor e pela compreensão em todos os momentos de difíceis. Ao meu tio Ivaldy José N. Barreto, pelo o incentivo e por acreditar que este momento seria possível. Ao meu padrasto Marcio Ricart e a minha irmã Emilly Cristiny por toda ajuda e por estarem sempre presentes na minha vida.

Aos meus avós M^a de Lourdes e Manoel, por me acolherem sempre em sua casa, com muito amor e carinho. Às minhas tias e a todos os meus familiares por todo apoio e compreensão.

Ao professor Suenildo Oliveira, pela orientação, incentivo, confiança, amizade; por acreditar que seria capaz de desenvolver esse trabalho.

Aos professores do Curso de Bacharelado em Agroecologia da UEPB, em especial, a professora Camila Azevedo, por acreditar em mim desde o início do curso e por ter me dado a oportunidade de participar dos seus projetos, ensinado a amar e proteger os animais. E ao professor José Felix, por acreditar e incentivar minha carreira acadêmica.

Aos funcionários do campus II da UEPB, pela presteza, atenção e atendimento quando foi necessário.

A Michelle Dantas Ribeiro, pela amizade, força e incentivo ao longo dos anos da graduação.

Aos meus amigos, em especial, Amadeu Pimentel, Ana Carolina Bezerra, Luana Barbosa, Ângelo Tulio, Ise Mayra e Kaline Ligia Nascimento, pela amizade e pelo apoio.

Aos colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio.

A UEPB e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, gratidão.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 A espécie <i>Phaseolus lunatus</i> L.....	03
2.2 - A Variedade Crioula: orelha de vó (Rajada de vermelho).....	04
2.3 - A Variedade Crioula: Eucalipto.....	05
2.4 - Adubo Nitrogenado.....	05
2.5 - Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN.....	07
3. METODOLOGIA	10
3.1- Área de estudo.....	10
3.2 - Coleta e caracterização das amostras de solo.....	10
3.3 - Cultivo de plantas-iscas e coleta de nódulos.....	10
3.4 - Variáveis analisadas.....	13
3.5 Análises Estatísticas.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5. CONCLUSÕES	18
6. REFERÊNCIAS	19

DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIADAS AO FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus* L.) NO AGRESTE PARAIBANO

Gabrielly Ketly Vidal de Oliveira

RESUMO

A baixa produtividade do feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) pode ser atribuída ao fato de parte da produção ser oriunda de produtores de base familiar sem adoção de tecnologia. Uma das tecnologias que pode ser utilizada por estes agricultores é o uso da fixação biológica do nitrogênio (FBN). Assim, a busca por fontes naturais de adubos, tais como a FBN no cultivo de feijão-fava, apresenta-se como forma de inovação e fortalecimento da economia da agricultura familiar. Neste contexto, esta pesquisa tem por objetivo estudar a diversidade e caracterização de bactérias diazotróficas adaptadas as condições edafoclimáticas do município de Lagoa Seca, PB, como fonte alternativa de adubação nitrogenada do feijão-fava cultivado no sistema de agricultura familiar no agreste paraibano. Para a obtenção dos isolados bacterianos foram utilizados dois acessos de feijão-fava como planta isca (a Orelha de vó e a Eucalipto), ambas cultivadas pelos agricultores da região onde está inserido o presente projeto. O cultivo das plantas foi realizado no campus II, localizado no município de Lagoa Seca, PB, sendo que as duas variedades de feijão-fava, foram plantadas por meio de semeadura direta, em vasos plásticos com capacidade para 11 litros. Durante o experimento em todas as áreas dos vasos foram retiradas as ervas espontâneas para que não houvesse outro tipo de raiz a não ser das plantas de feijão-fava. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, onde foram dispostos 8 tratamentos em 3 repetições. Os nódulos foram contados e colocados em recipientes contendo sílica-gel para retirar o excesso de água da lavagem, após 6 horas os nódulos foram pesados em balança de precisão de 0,001 g, determinando-se assim, a massa fresca, em gramas. Utilizando a massa fresca dos nódulos dividida pela quantidade de nódulos de cada planta foi calculada a biomassa específica dos nódulos, em miligramas. Os dados de massa fresca de nódulos, biomassa específica do nódulo foram transformadas pela raiz quadrada. Os solos utilizados no experimento obtiveram presença de bactérias fixadoras de nitrogênio; O solo proveniente da localidade Almeida apresentou o maior número de nódulo, massa fresca e biomassa específica de nódulos, seguido dos solos das localidades Conceição, Covão e Imbaúba.

Palavras-chave: FBN, microssimbiontes, *Rhizobium*.

DIVERSITY AND CHARACTERIZATION OF DIAZOTROPHIC BACTERIA ASSOCIATED WITH FAVA-BEAN (*Phaseolus lunatus* L.) NO AGRESTE PARAIBANO

Gabrielly Ketly Vidal de Oliveira

ABSTRACT

The low productivity of fava bean (*Phaseolus lunatus* L.) can be attributed to the fact that part of the production comes from family-based producers without technology adoption. One of the technologies that can be used by these farmers is the use of biological nitrogen fixation (BNF). Thus, the search for natural sources of fertilizers, such as FBN in bean cultivation, is presented as a way of innovation and strengthening of the family farming economy. In this context, this research aims to study the diversity and characterization of diazotrophic bacteria adapted to the edaphoclimatic conditions of the municipality of Lagoa Seca, PB, as an alternative source of nitrogen fertilization of the bean fava cultivated in the family farming system in the Paraíba agreste. In order to obtain the bacterial isolates (grandmother's ear and eucalyptus), two accessions of fava beans were used as bait plants, both cultivated by farmers in the region where the present project is inserted. The cultivation of the plants was carried out at Campus II, located in the municipality of Lagoa Seca, PB, and the two varieties of fava beans were planted by direct seeding in plastic pots with a capacity of 11 liters. During the experiment in all areas of the vases the spontaneous herbs were removed so that there was no other type of root except for the bean-fava plants. The experimental design was a randomized block design, where 8 treatments were arranged in 3 replicates. The nodules were counted and placed in silica gel containers to remove excess water from the wash, after 6 hours the nodules were weighed in a 0.001 gram precision scale, thereby determining the fresh mass in grams. Using the fresh mass of the nodules divided by the number of nodules of each plant, the biomass specific to the nodules was calculated in milligrams., and the fresh mass data of nodules, biomass, and nodule were transformed by the square root. Soils used in the experiment were found to contain nitrogen fixing bacteria; Soil from the Almeida locality presented the highest number of nodules, fresh mass and specific biomass of nodules, followed by the soil.

Keywords: FBN; Myrosymbionts, *Rhizobium*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores médios de Números de Nódulos de Planta (NNP), Massa Fresca de Nódulos (MFN) e Biomassa Específica de Nódulos (BEN), encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017	14
Tabela 2- Número de Nódulos por Planta (NNP), encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB.2017.	15
Tabela 3- Massa Fresca de Nódulos (MFN) encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.	15
Tabela 4- Biomassa Específica de Nódulos (BEM) encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização de Lagoa Seca, no Estado da Paraíba.....	10
Figura 2A –Feijão-fava Orelha de vó Vermelha.....	11
Figura 2B –Feijão-fava eucalipto.....	11
Figura 3: Localização das áreas de coleta de solo abrangendo as localidades: Almeida, Conceição, Covão e Imbaúba. Lagoa Seca, PB. 2017.....	11

1 - INTRODUÇÃO

No Brasil, o feijão-fava, de acordo com Maquet *et al.*, (1999) é utilizado no consumo na forma de grãos maduros e secos; sendo considerada a espécie mais importante do gênero depois do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), é uma leguminosa tropical caracterizada por elevada diversidade genética e elevado potencial de produção, que se adapta às mais diferentes condições ambientais, mas desenvolve-se melhor nos trópicos úmidos e quentes.

O Nordeste brasileiro no ano de 2014 se destacou como um dos maiores produtores (7.416 t. colhidas em 23.697 ha plantados), tendo-se como maiores produtores os estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Pernambuco. Sendo responsável por aproximadamente 96,56 % de toda produção nacional, (IBGE, 2016b).

A baixa produtividade de fava pode ser atribuída ao fato de parte da produção ser oriunda de produtores de base familiar, cultivo em consórcio sem adoção de tecnologia que vise seu incremento e a ocorrência de doenças tem dificultado o cultivo e afetado a qualidade dos grãos dessa cultura e comprometendo a produção (SANTOS, 2008). Apesar de rústica, perdas de produção consideráveis são relatadas para a cultura da fava, principalmente devido a estresses bióticos e abióticos (SANTOS *et al.*, 2002).

Uma das tecnologias que pode ser utilizada por agricultores de base familiar é o uso da fixação biológica do nitrogênio (FBN), que nada mais é do que a utilização de microrganismos na fixação biológica de nitrogênio, onde o mais utilizado são as bactérias diazotróficas, tendo como principal grupo as bactérias denominadas rizóbios (ANTUNES, 2010). Ou seja, é o processo pelo qual o nitrogênio atmosférico (N₂) é convertido em amônia (NH₃) e posteriormente é disponibilizado para as plantas. Vance, (1998) relata que em sistemas agrícolas, talvez 80% do nitrogênio fixado biologicamente venha da simbiose envolvendo leguminosas e bactérias da família Rhizobiaceae.

Soares *et al.*, (2006), relatam o feijão-fava como uma espécie que possibilita a interação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, também denominados rizóbios, permitindo o aumento de rendimento, bem como a facilidade de manejo e diminuição do custo de produção, além de economizar combustíveis fósseis utilizados para a produção industrial de fertilizantes nitrogenados.

O quantitativo de pesquisa sobre bactérias moduladoras de feijão-fava é bastante relativo, devido à falta de políticas públicas que visem a aquisição de conhecimento sobre o tema em tela, no entanto, pode-se obter algumas informações sobre pesquisas de SANTOS *et al.*, (2011),

o qual estudou solos (Argissolo) de dez áreas com histórico de cultivo de feijão-fava em duas regiões do Estado do Piauí, onde encontrou 50 estirpes de bactérias pertencentes a três gêneros de rizóbios: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*.

Poucos estudos de seleção de rizóbios para o feijão-fava foram realizados, Antunes *et al.*, (2011) avaliaram a eficiência de alguns isolados coletados e descritos por Santos (2008) em vasos com solução nutritiva utilizando como critério a massa seca da parte aérea, neste trabalho foram encontrados isolados duas vezes mais eficientes que a testemunha utilizada, embora o resultado positivo, para melhores conclusões seriam necessários ensaios em campo e comparações com testemunhas com adubação nitrogenada.

De acordo com Araújo *et al.*, (2014) por pertencer à família das leguminosas, o feijão-fava apresenta a capacidade de participar do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) através da simbiose com bactérias genericamente conhecidas por rizóbio. Entretanto, os estudos sobre a simbiose e a bactéria associada ao feijão-fava são escassos.

Assim, a busca de fontes naturais de adubos, tais como a fixação biológica do nitrogênio no cultivo de feijão-fava proporcionando boa resposta agrônômica (em termos de crescimento e desenvolvimento), apresenta-se como forma de inovação e fortalecimento da economia da agricultura familiar, tornando assim, esta pesquisa de suma importância. Neste contexto o feijão-fava mostra-se como a cultura que apresenta todos os aspectos para a adequação social, econômica, cultural, climática, ecológica, entre outras, na mesorregião do Agreste da Borborema.

Nesse contexto objetivou-se estudar a diversidade e caracterização de bactérias diazotróficas adaptadas as condições edafoclimáticas do município de Lagoa Seca, PB, como fonte alternativa de adubação nitrogenada no crescimento e desenvolvimento do feijão-fava (*phaseolus lunatus* L.) cultivado no sistema de agricultura familiar no agreste paraibano.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - A espécie *Phaseolus lunatus* L.

Leguminosa tropical caracterizada por elevada diversidade genética e elevado potencial de produção, o feijão-fava é considerada a espécie mais importante do gênero depois do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Entre os cereais o feijão-fava apresenta grande importância mundial, devido ao seu teor de proteína e demais características nutricionais, além de poder ser utilizado na alimentação humana em substituição ao feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (VIEIRA, 1992).

É uma hortaliça da família Fabaceae, é uma das quatro espécies do gênero *Phaseolus* explorada comercialmente no mundo. A família Fabaceae, é uma das maiores entre as dicotiledôneas, com 643 gêneros, reúne 18.000 espécies distribuídas em todo o mundo, estando concentrada nas regiões tropicais e subtropicais (BROUGHTON *et al.* 2003).

Serrano-Serrano *et al.* (2010) atribui sua origem como andina, possuindo três grupos genéticos distribuídos geograficamente, sendo um andino e dois mesoamericanos. Os Estados Unidos é um dos maiores produtores mundiais, sendo o consumo na forma de grãos verdes em conserva, enlatados ou congelados.

A importância econômica e social do feijão-fava, de acordo com Azevedo (2003) se deve principalmente à sua rusticidade em regiões semiáridas do Nordeste do país, o que possibilita prolongar a colheita em período seco.

O Nordeste tem maior destaque na produção, sendo o estado da Paraíba o maior produtor, onde o feijão fava é cultivado em quase todas as microrregiões, seguido de Rio Grande do Norte, Ceará e Pernambuco. É considerado como uma importante fonte de proteínas para os agricultores familiares desta região. Na Paraíba a fava é geralmente cultivada durante a estação chuvosa em consórcio com o milho (GUSMÃO, 2010).

Em contraste as baixas produções obtidas na região Nordeste, alguns trabalhos têm demonstrado produção superior a 1.000 kg ha⁻¹, atingindo resultados superiores a 2.500 kg ha⁻¹ quando utilizada a adubação fosfatada (OLIVEIRA *et al.* 2004) e irrigação (MELO *et al.* 2009). Acarretando assim a possibilidade de aumento da produtividade da região por meio de práticas de manejo da cultura, entre estas, o manejo da fertilidade do solo tem se mostrado promissora (OLIVEIRA *et al.* 2004; ALVES *et al.* 2008).

De acordo com os dados do IBGE (2016b), no ano de 2014, o estado da Paraíba produziu 28,39 % da produção nacional, com 2.181 t., em 9.127 ha, tendo-se como maior produtor o

município de Campina Grande (2.442 ha plantados e 679 t. colhidas). Como um dos estados mais pobres da federação, o estado da Paraíba tem no cultivo do feijão fava uma relativa importância sócio-econômica apresentando um grande potencial para fornecer proteína vegetal à população, funcionando como uma fonte alternativa de alimento e complementando a renda dos agricultores familiares, contribuindo economicamente em 2014 com aproximadamente R\$ 14 milhões (IBGE, 2016b).

De acordo com Maquetet *et al.* (1999) ela adapta-se às mais diferentes condições ambientais, mas desenvolve-se melhor nos trópicos úmidos e quentes. Vieira (1992) relata que esta leguminosa se adéqua melhor em solo areno-argiloso, fértil e bem drenado, tendo bom rendimento com pH entre 5,6 e 6,8, além de adaptar-se a condições climáticas adversas, tais como altas temperaturas e déficit hídrico.

Autores como GUIMARÃES *et al.* (2007); LEMOS *et al.* (2004) e SANTOS *et al.* (2002) apresentam como desvantagem ao cultivo desta importante leguminosa a maior tradição de consumo dos feijões comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e caupi (*Vigna unguiculata* L.), o paladar do feijão-fava e o tempo de cocção mais longo, além da falta de cultivares recomendadas para as condições climáticas das regiões produtoras.

Segundo Zimmermann e Teixeira (1996), o *P. lunatus* pode ser identificado como uma leguminosa de germinação epígena; onde as folhas geralmente apresentam coloração escura, mais persistente que em outras espécies do gênero, mesmo depois do amadurecimento das vagens; bractéolas pequenas e pontiagudas; vagens bastante compridas e de forma geralmente oblonga e recurvada, com duas alturas distintas (ventral e dorsal) e número de sementes por vagem variando de duas a quatro. Tais sementes exibem grande variação de tamanho e cor de tegumento (SANTOS *et al.* 2002).

2.2 - A Variedade Crioula: orelha de vó (Rajada de vermelho).

Possui semente grande, com o comprimento de 10,57 mm de largura; 5,72 mm de espessura e 62,840 g (peso médio para 100 sementes); formato elíptico-achatado; tegumento bicolor bege com rajadas pretas; estrofiolo de coloração bege-acastanhado. O hilo é opaco, formato estreito-elíptico, apresenta uma conspícua e fina fenda longitudinal, obscurecida por uma camada de tecido corticiforme branco, com 3,46 mm de comprimento e 1,36 mm de largura, em média (NOBRE e BRANDÃO JÚNIOR, s/d).

2.3 - A Variedade Crioula: Eucalipto.

Apresenta hábito de crescimento tipo moita, suas sementes apresentam coloração rajada de bege e preta e sua flor coloração branca. O tamanho da vagem é de 1 a 5 cm, apresentando um número de 6 a 10 sementes por vagem. Bastante produtiva apresenta um número de mais de 100 vagens por planta e seu ciclo é de 90 dias. Suas qualidades são: resistência a pragas e doenças, persistência aos períodos de seca, vigorosidade e pode ser cultivada em solos arenosos e de pouca fertilidade (DIAS *et al.*, 2016).

2.4 - Adubo Nitrogenado

Segundo Dias e Fernandes (2006), a amônia anidra é um gás obtido pela reação do gás de síntese, uma mistura na relação 1:3 de nitrogênio (N) proveniente do ar com o hidrogênio (H) de fontes diversas: gás natural, nafta, óleo combustível ou de outros derivados de petróleo. O gás natural é o mais usado e também a melhor fonte de hidrogênio para a produção de fertilizantes nitrogenados.

Pode-se transformar a amônia em nitrato e fazer fertilizantes, como o nitrato de cálcio, o nitrato de amônia, o nitrato de potássio, o nitrofosfato; pode-se juntar a amônia com o ácido fosfórico e produzir dois fertilizantes, o monoamônio fosfato (MAP) e diamônio fosfato (DAP); e se juntar-se o amônio com CO₂, forma-se a ureia. A ureia foi o primeiro fertilizante nitrogenado produzido em larga escala. Hoje, a síntese da amônia e a síntese da ureia são responsáveis por 40% da alimentação humana mundial. A síntese da amônia permitiu que todo o nitrogênio fornecido para as plantas fosse veiculado através de fertilizantes (POLIDORO, 2011).

Estudos realizados por Malavolta (2006) comprovaram que dentro do manejo da fertilidade, o nitrogênio é um dos nutrientes mais limitantes para a produção agrícola, deste modo, a sua utilização pode possibilitar um incremento na produção de fitomassa e de grãos nos cultivos agrícolas, isto devido a participação deste elemento nas proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e pigmentos.

Marschner (1997) relata que a disponibilidade de N no solo depende do balanço entre os processos de mineralização e os de imobilização. Em pastagens tropicais extensivamente manejadas, sem adubação nitrogenada, a disponibilidade de N depende, em grande parte, da mineralização do N dos resíduos vegetais. O balanço entre esses processos pode variar com o tempo e, principalmente, com a natureza do resíduo orgânico em decomposição, além de depender da atividade microbiana do solo (AITA & GIACOMINI, 2007).

No Brasil entre 2003 e 2015, o consumo de fertilizantes passou de 22,8 milhões de toneladas para 29,6 milhões, o que configurou crescimento de 30% no período. De acordo com a previsão da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), entre 2010 e 2020, somente no Brasil, a produção de alimentos crescerá 40% (PETROBRAS (2014)).

De acordo com a ANDA (2016) as entregas de fertilizantes ao consumidor final encerraram o mês de março de 2016 com 1.727 mil toneladas, registrando queda de 1,9% em relação ao mesmo período de 2015, quando foram entregues 1.760 mil toneladas.

Os adubos nitrogenados mais comercializados e utilizados no Brasil são a uréia (44 a 46 % de N) e o sulfato de amônio (20 a 21 % de N). O uso dessas fontes apresenta vantagens e desvantagens. A uréia tem como vantagens menor custo por quilograma, apresenta alta concentração de N, é de fácil manipulação e causa menor acidificação no solo, o que a torna potencialmente superior a outras fontes do ponto de vista econômico, mas comumente apresenta maior perda de N por volatilização (PRIMAVESI *et al.*, 2004; MARTHA JÚNIOR *et al.*, 2004).

Os maiores produtores mundiais de adubo nitrogenado são: China, com cerca de 27% da produção mundial, Índia (9%), Rússia (8%) e Estados Unidos (8%). No Brasil, apenas a Fafen, em Laranjeiras (SE) e Camaçari (BA), e a Ultrafertil, em Cubatão (SP) e Araucária (PR), fabricam matérias-primas para adubos nitrogenados. A Ultrafertil tem déficit e a Fafen superávit na produção de amônia anidra, cujo excedente é vendido para o mercado interno. As importações, da ordem de 55%, para cobrir o déficit nacional procedem, principalmente, da Rússia (nitrogenados e potássicos) e do Canadá (fosfatados e potássicos) e da Ucrânia (ANDA, 2016).

Sirimarco (2015) relata que o nível de dependência do Brasil quanto à importação de insumos agrícolas, inclusive de fertilizantes continua a crescer. Segundo o mesmo, dados recentes da INTL FCStone apontam que o aumento do consumo de fertilizantes está relacionado, em primeira instância, às importações. Já a produção doméstica apresenta fraco crescimento.

Este fato é corroborado por dados estatísticos da ANDA - Associação Nacional para a Difusão de Adubos (2015), que mostram que no período de janeiro a maio de 2015, a produção nacional de fertilizantes foi de 3.621 mil toneladas, contra 3.432 mil toneladas do mesmo período do ano anterior, representando aumento de 5,5%.

2.5 - Fixação Biológica de Nitrogênio - FBN

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo pelo qual o nitrogênio atmosférico (N₂) é convertido em amônia (NH₃) e posteriormente é disponibilizado para as plantas. VANCE, (1998) relata que em sistemas agrícolas, talvez 80% do nitrogênio fixado biologicamente venha da simbiose envolvendo leguminosas e bactérias da família Rhizobiaceae.

Na fixação biológica, o nitrogênio molecular ou dinitrogênio (N₂) é transformado em NH₃ (amônia) a custas de energia da planta (BURRIS, 1999; TAÍZ e ZIEGER, 2004). O complexo enzima nitrogenase, formado por duas unidades proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), é responsável pela fixação de nitrogênio no nódulo (MYLONA *et al.*, 1995; BURRIS, 1999; TAÍZ e ZIEGER, 2004).

Figueiredo *et al.*, (2008) relatam que após a formação dos nódulos, as bactérias param de se multiplicar e parte sofre modificações até se tornarem bacteróides, forma capaz de fixar o N₂ por meio da enzima nitrogenase.

De acordo com Stralio e Teixeira (2000) as bactérias denominadas coletivamente de rizóbios, possuem genes de nodulação que possibilitam a infecção dos pêlos radiculares de espécies de leguminosas, que por sua vez, as abrigam em estruturas especiais chamadas nódulos. Esta associação planta/bactéria é tida como simbiótica, onde o rizóbio fornece à planta o nitrogênio proveniente da fixação biológica; a planta fornece à bactéria carboidratos provenientes da fotossíntese.

Devido à variabilidade de características químicas e físicas, condições climáticas e cobertura vegetal, os solos da região Nordeste, bem como os encontrados nos estados da Paraíba e Pernambuco, apresentam uma excelente diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio que necessitam ser estudadas quanto ao seu potencial de fixação, possibilitando assim sua utilização para a produção de inoculantes (NASCIMENTO, 2014).

No entanto, Thies *et al.* (1991) demonstraram que a eficiência da inoculação no feijão-fava varia entre solos, tendo encontrado maiores respostas a inoculação em solos com uma baixa população de bactérias capazes de nodular a cultura, assim evidenciado a baixa competitividade das estirpes testadas. A resposta de estirpes em solos do Nordeste também diferiu, sendo obtido melhor resposta em solos de pH mais neutro e boa disponibilidade de cálcio, magnésio e fósforo (Aguiar *et al.*, 2012).

O quantitativo de pesquisa sobre bactérias moduladoras de feijão-fava é bastante relativo, devido à falta de políticas públicas que visem a aquisição de conhecimento sobre o tema em tela, no entanto, pode-se obter algumas informações sobre pesquisas de SANTOS *et al.* (2011),

o qual estudou solos (Argissolo) de dez áreas com histórico de cultivo de feijão-fava em duas regiões do Estado do Piauí, onde encontrou 50 estirpes de bactérias pertencentes a três gêneros de rizóbios: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*.

Poucos estudos de seleção de rizóbios para o feijão-fava foram realizados, Antunes *et al.* (2011) avaliaram a eficiência de alguns isolados coletados e descritos por Santos (2008) em vasos com solução nutritiva utilizando como critério a massa seca da parte aérea, neste trabalho foram encontrados isolados duas vezes mais eficientes que a testemunha utilizada, embora o resultado positivo, para melhores conclusões seriam necessários ensaios em campo e comparações com testemunhas com adubação nitrogenada.

Outros estudos foram realizados no Peru, onde foram observadas bactérias do gênero *Rhizobium*, *Sinorhizobium* (ORMEÑO *et al.*, 2007), e *Bradyrhizobium* (ORMEÑO-ORRILLO *et al.*, 2006) e nos Estados Unidos onde foram relatadas a simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* (TRIPLETT *et al.*, 1981) e *Bradyrhizobium* (THIES *et al.*, 1991). Estes dados demonstram que *P. lunatus* apresenta baixa especificidade de hospedeiro, já sendo reportada simbiose com estirpes de quatro gêneros de rizóbios.

De acordo com Caballero (s/d) a fixação biológica do nitrogênio promove vários benefícios para os cultivos agrícolas, dentre os quais se destacam: o menor uso de adubos nitrogenados, que resulta em economia para o produtor; a característica de contribuir para o auto-fornecimento do nitrogênio utilizado para a formação da planta minimiza os impactos do nitrogênio sobre o meio ambiente; o uso de leguminosas como adubos verdes eficientes para FBN fornece nitrogênio para o solo e melhora suas propriedades físicas, químicas e biológicas; e o aumento de produtividade, especialmente em solos deficientes em nitrogênio disponível.

Verifica-se que várias são as possibilidades do uso de insumos biológicos, entre as quais se destaca a utilização de bactérias benéficas para a agricultura, como as diazotróficas, as promotoras de crescimento e os xenobiontes. Esses organismos propiciam às culturas comerciais benefícios referentes à redução do uso de fertilizantes químicos, redução dos danos causados por doenças, estímulo ao desenvolvimento vegetal e decomposição de pesticidas depositados no solo (PRADELLA *et al.*, 2001).

Entretanto, segundo SANTOS *et al.*, (2002) no Brasil, apesar de ser cultivada em todos os estados e de apresentar capacidade de adaptação mais ampla que o feijão-comum, o feijão-fava ainda tem pouca relevância, não recebendo a devida atenção por parte dos órgãos de pesquisa e extensão, o que tem resultado em limitado conhecimento das suas características agrônomicas. Fato este corroborado por Santos (2008) e Araújo *et al.*, (2014), o qual relatam

que pesquisas sobre a FBN em feijão-fava tem sido raramente realizadas, enquanto que as pesquisas com gênero *Phaseolus* têm focado exclusivamente o *P. vulgaris*, com estirpes de rizóbio recomendadas para uso comercial.

3 - METODOLOGIA

3.1- Área de estudo

Localização geográfica do município.

O presente estudo foi realizado no município de Lagoa Seca, PB, área territorial de 109.342 km², com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude 07° 10' 15" S e Longitude 35° 51' 13" W e Altitude: 634m. Figura 1.



Figura 1: Localização de Lagoa Seca, no Estado da Paraíba.

3.2 - Coleta e caracterização das amostras de solo.

Foram coletadas 20 amostras compostas de solo na camada de 0-20 cm de profundidade, nas localidades: Almeida, Conceição, Covão e Imbaúba, todas localizadas no município de Lagoa Seca, visando assim, uma maior diversidade de bactérias capazes de nodular a cultura de feijão-fava. As amostras foram compostas por três sub-amostras.

3.3 - Cultivo de plantas-iscas e coleta de nódulos.

Para a obtenção dos isolados bacterianos foram utilizados dois acessos de feijão-fava como planta isca, sendo uma de crescimento indeterminado (denominada popularmente de “Orelha de vó”, de coloração do tegumento bege e com rajas vermelhas – Figura 2A) e outra de crescimento determinado (“Eucalipto”, de coloração de tegumento bege e hilo branco – Figura 2B), ambas cultivadas pelos agricultores da região onde está inserido o presente projeto.



Figura 2A –Feijão-fava Orelha de vó Vermelha



Figura 2B –Feijão-fava eucalipto.

As áreas de coleta foram selecionadas de acordo com o trabalho realizado por Barbosa *et al.*, (2009) que em seus estudos consideraram estas quatro localidades inseridas em uma região agroecológica da agricultura de subsistência, sendo áreas de cultivo de feijão-comum (*P. vulgaris* L.) e os agricultores foram selecionados após visita ao Sindicato dos Trabalhadores Rurais de Lagoa Seca, para saber quem e onde se plantava feijão-fava no município. Figura 3.

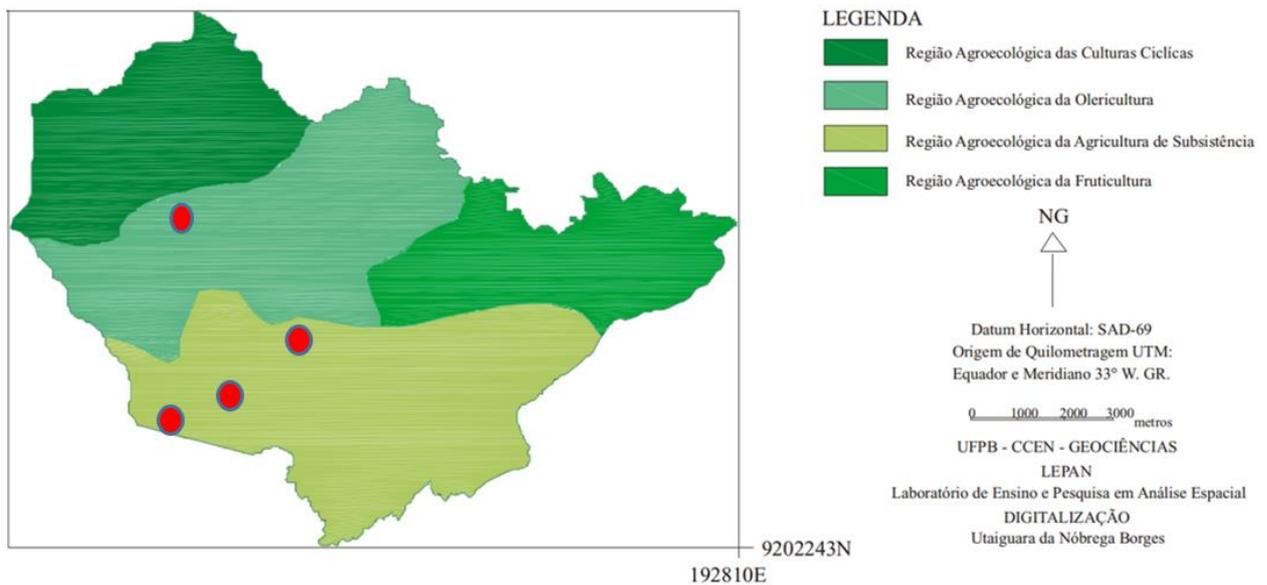


Figura 3: Localização das áreas de coleta de solo abrangendo as localidades: Almeida, Conceição, Covão e Imbaúba. Lagoa Seca, PB. 2017.

O cultivo das plantas foi realizado no campus II, localizado no município de Lagoa Seca, PB, sendo que as duas variedades de feijão-fava, foram plantadas por meio de sementeira direta, em vasos plásticos com capacidade para 11 litros, tendo-se de 3 a 4 sementes por vaso e profundidade de sementeira de 2,5 a 5,0 centímetros.

Para que não ocorresse a contaminação com as sementes a serem plantadas, seguir-se a recomendação de Hungria e Araújo (1994) que recomenda que as mesmas sejam previamente

desinfestadas por 60 segundos em álcool etílico a 70%, 3 minutos em uma solução com hipoclorito de sódio a 1% e em seguida realizada 10 lavagens em água estéril.

Aos 15 dias após germinação foram efetuados os desbastes, deixando-se a planta mais vigorosa. Não foi efetuada adubação orgânica e química, para que não ocorresse interferência na provável nodulação.

Os tratos culturais foram efetuados de forma manual com auxílio de uma pazinha de jardim e condução em sistema de sequeiro, sendo que, quando houve condições de déficit hídrico, foram realizadas as irrigações com auxílio de um regador para manter a cultura em condições hídricas satisfatórias.

Durante o experimento em todas as áreas dos vasos foram retiradas as ervas espontâneas para que não houvesse outro tipo de raiz a não ser das plantas de feijão-fava.

O experimento foi conduzido em um esquema fatorial de 2 X 4, onde o primeiro fator corresponde as variedades crioulas de feijão-fava e o segundo fator corresponde as quatro localidades onde foram coletados os solos, disposto em um delineamento em blocos casualizados com três repetições, tendo-se os seguintes tratamentos: T1=variedades de feijão-fava orelha de vó + localidade Almeida; T2=variedades de feijão-fava orelha de vó + localidade Conceição; T3=variedades de feijão-fava orelha de vó + localidade Covão; T4=variedades de feijão-fava orelha de vó + localidade Imbaúba; T5=variedades de feijão-fava eucalipto + localidade Almeida; T6=variedades de feijão-fava eucalipto + localidade Conceição; T7=variedades de feijão-fava eucalipto + localidade Covão e T8=variedades de feijão-fava eucalipto + localidade Imbaúba.

Foram feitas coletas dos dados aos 90 dias após germinação. As plantas foram coletadas, “lavadas” e acondicionadas em sacos de papel e seguiram para o laboratório de microbiologia/fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da UEPB em Lagoa Seca, PB.

Os nódulos foram contados e colocados em recipientes contendo sílica-gel para retirar o excesso de água da lavagem, após 6 horas os nódulos foram pesados em balança de precisão de 0,001 g, determinando-se assim, a massa fresca, em miligramas. Utilizando a massa fresca dos nódulos dividida pela quantidade de nódulos de cada planta foi calculada a biomassa específica dos nódulos, em miligramas.

3.4 - Variáveis analisadas

Para o estudo da influência das variedades e solos de diferentes localidades na nodulação de bactérias fixadoras de nitrogênio, optou-se por estudar o número de nódulos por planta (NNP), massa fresca de nódulos (MFN) e biomassa específica de nódulos (BEN).

3.5 Análises Estatísticas

A variável número de nódulos foi transformada pela equação $y=\log(x+1)$, e os dados de massa fresca de nódulos e biomassa específica dos nódulos foram transformadas pela raiz quadrada para ajustamento aos pré-requisitos da análise de variância (ANOVA). Os dados transformados foram submetidos à ANOVA utilizando o software estatístico ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA E AZEVEDO, 2009). Para comparação de médias foi utilizando o teste de Tuckey ($p < 0,05$).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 90 dias de cultivo das variedades de feijão-fava, a orelha de vó vermelha e a Eucalipto, foram feitas as análises destrutivas, onde foram coletados os nódulos dos rizóbios presentes em cada solo das localidades selecionadas. Os dados coletados em relação as variáveis estudadas, foram submetidos a análise de variância e plotados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios de número de nódulos por planta (NNP), massa fresca de nódulos (MFN) e biomassa específica de nódulos (BEM), encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.

Fonte de Variação	Quadrado Médio		
	NNP	MFN	BEM
	Número planta ⁻¹	----- mg planta ⁻¹ -----	
Variedades (V)	1890,38 *	13200,01 *	2196,89 *
Locais (L)	810,38 *	12458,70 *	712,27 *
Interação V x L	18854,38 *	518336,43 *	20589,94 *
(Tratamentos)	(8697,80) *	229369,34 *	9443,36 *
Resíduo	94,88	1022,30	44,01
CV%	9,93	9,71	9,79

*Significativo 5% de probabilidade; ns- não significativo, DMS = diferença mínima significativa, CV = coeficiente de variação.

Percebe-se na Tabela 1, que o número de nódulos por planta (NNP), massa fresca de nódulos (MFN) e biomassa específica de nódulos (BEM), apresentaram diferença significativa, tanto para variedades, quanto para os locais (solos). Quando do estudo do efeito da interação, houve significância para o mesmo, indicando que os efeitos das variedades interferem nos solos dos locais utilizados no experimento, apontando para uma variedade beneficiar estas variáveis dentro dos solos das localidades; como também, os solos interferem de forma benéfica nas variedades, influenciando os resultados das variáveis em estudo.

De acordo com Banzato & Kronka (1989), quando a interação apresentar significância, deve-se proceder o desdobramento da mesma, para o estudo de cada fator de forma isolada.

No efeito da interação entre variedades e locais, em relação a número de nódulos por planta, observa-se a Tabela 2, que os solos provenientes dos locais Almeida e Covão influenciaram a variedade Eucalipto, proporcionando diferença significativa quando comparada com a variedade Orelha de vó. No entanto, os solos provenientes das localidades Conceição e Imbaúba, proporcionaram maior número de nódulos para a variedade Orelha de vó em relação a variedade Eucalipto, sendo a mesma uma diferença estatisticamente significativa.

Para o estudo de cada variedade em relação aos solos, percebe-se na Tabela 2 que para a variedade Orelha de vó, o solo proveniente da localidade Conceição, superou os demais solos,

e o solo proveniente da localidade Imbaúba superou os solos das localidades Almeida e Covão. Para a variedade Eucalipto, os solos provenientes das localidades Almeida e Covão diferenciaram-se dos solos das localidades Conceição e Imbaúba.

Tabela 2 - Número de Nódulos por Planta (NNP), encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.

Variedades/Locais	Almeida	Conceição	Covão	Imbaúba
Orelha de Vó	52 b C	152 a A	36 b C	117 a B
Eucalipto	163 a A	62 b B	154 a A	49 b B

Nas colunas, letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

Nas linhas, letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

Na Tabela 3, encontra-se as médias para massa fresca de nódulos, quando do estudo da interação entre variedade e locais. Observa-se que os solos provenientes dos locais Almeida e Covão influenciaram a variedade Eucalipto, proporcionando diferença significativa quando comparada com a variedade Orelha de vó. No entanto, os solos provenientes das localidades Conceição e Imbaúba, proporcionaram maior massa fresca de nódulos para a variedade Orelha de vó em relação a variedade Eucalipto, sendo a mesma uma diferença estatisticamente significativa.

A variedade Orelha de vó apresentou maior massa fresca de nódulos, quando cultivado em solo proveniente da localidade Conceição, diferenciando-se estatisticamente das demais. O solo proveniente da localidade Imbaúba proporcionou diferença significativa em relação aos solos das localidades Almeida e Covão. A performance da variedade Eucalipto foi influenciada quando do seu cultivo em solos provenientes das localidades Almeida e Covão, tendo-se uma superação significativa quando comparados com os solos das localidades Conceição e Imbaúba.

Tabela 3 - Massa Fresca de Nódulos (MFN) encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.

Variedades/Locais	Almeida	Conceição	Covão	Imbaúba
Orelha de Vó	83,52 b C	591,00 a A	51,23 b C	498,14 a B
Eucalipto	693,58 a A	91,63 b B	548,48 a A	77,82 b B

Nas colunas, letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

Nas linhas, letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

Os valores médios em relação a biomassa específica de nódulos, encontra-se na Tabela 4. Analisando-se a mesma, verifica-se que os solos provenientes das localidades Almeida e Covão influenciaram a variedade Eucalipto, proporcionando diferença significativa quando comparados com a variedade Orelha de vó. Já os solos provenientes das localidades Conceição

e Imbaúba, exerceram influência significativa para a Orelha de vó, superando a variedade Eucalipto nesta variável analisada.

Em relação ao estudo de cada variedade dentro dos solos provenientes das localidades em estudo, percebe-se que a variedade Orelha de vó apresentou maior biomassa específica de nódulos, quando cultivado nos solos provenientes das localidades Conceição e Imbaúba, diferenciando-se estatisticamente das demais. A variedade Eucalipto obteve a maior biomassa específica de nódulos, quando cultivado no solo proveniente da localidade Almeida, o que proporcionou uma diferença significativa quando comparado aos demais solos. Quando se cultivou, a mesma, no solo proveniente da localidade Covão, houve-se uma diferença estatística, quando se compara com os solos das localidades Conceição e Imbaúba.

Tabela 4 - Biomassa Específica de nódulos (BEN) encontrados em duas variedades de feijão-fava cultivados em quatro tipos de localidades. Lagoa Seca, PB. 2017.

Variedades/Locais	Almeida	Conceição	Covão	Imbaúba
Orelha de Vó	17,01 b B	104,57 a A	12,44 b B	98,74 a A
Eucalipto	148,96 a A	23,45 b C	121,01 a B	15,88 b C

Nas colunas, letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

Nas linhas, letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05\%$).

O solo como habitat natural das bactérias, exerce grande influência em qualidade (diversidade) e quantidade de colônias de bactérias fixadoras de nitrogênio. Assim, as propriedades químicas, físicas e biológicas, atuam diretamente nas populações de bactérias em diferentes tipos de solo.

Ranjard & Richaume (2001), relatam que as populações de bactérias variam de acordo com a estrutura do solo, pois segundo estes, esta propriedade física do solo tem papel fundamental na organização das comunidades microbianas, pois observaram que mais de 80% das bactérias se localizam em microporos de microagregados estáveis do solo, medindo 2-20 μm . Fato este corroborado por Mummey & Stahl (2001), os quais afirmam que as comunidades microbianas no solo variam até mesmo em função da posição no microagregado.

Estudos conduzidos por Lambais *et al.* (2005) relacionam que a fração granulométrica do solo atuam diretamente na estrutura das comunidade microbianas à qual os microrganismos estão associados, pois a maior parte da diversidade bacteriana está associada às frações silte e argila, quando comparado à fração areia, sugerindo que as estruturas das comunidades bacterianas são partícula-específicas.

Gelsomino *et al.* (1999), estudaram comunidades bacterianas de 16 tipos de solo, provenientes de áreas geográficas diferentes e concluíram que solos mais similares tendem a

selecionar comunidades bacterianas mais similares, sugerindo que o tipo de solo é o fator preponderante na organização das comunidades microbianas.

Comparando a influência do tipo de solo, cultivar e estágio de desenvolvimento de plantas de milho na estrutura das comunidades de bactérias da rizosfera, Chiarini *et al.* (1998), concluíram que o maior efeito sobre a organização dessas comunidades era exercido pelo tipo de solo e que o genótipo da planta não tinha efeito significativo.

Outro fator que poderá ter contribuído para influenciar os resultados encontrados na presente pesquisa é o estado nutricional do solo, que segundo Lambais *et al.*, (2005), o mesmo pode afetar a diversidade e estrutura das comunidades microbianas, fato este corroborado por estudos conduzidos por Kim *et al.* (2002); Girvan *et al.* (2003); Banu *et al.* (2004) e Leckie *et al.* (2004), os quais relatam que tanto a quantidade quanto a qualidade da matéria orgânica do solo podem afetar significativamente a diversidade microbiana e a estrutura de suas comunidades.

Estes estudos corroboram com a presente pesquisa, pois ao se comparar o quantitativo de nódulos encontrados nos quatro diferentes tipos de solo utilizados no experimento, os solos da localidade Almeida e Covão, possuem características de solo argilo-arenoso, provavelmente este fato tenha influenciado nos resultados obtidos.

5 - CONCLUSÕES

- A variedade Eucalipto foi a melhor planta isca para nodulação;
- A variedade Orelha de vó, apresentou melhor presença de bactérias fixadoras de nitrogênio, quando cultivada em solos provenientes das localidades Conceição e Imbaúba;
- O solo proveniente da localidade Almeida propicia o maior número de nódulo, massa fresca e biomassa específica de nódulos, seguido dos solos das localidades Conceição, Covão e Imbaúba.

6 - REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. L.; SIMÃO, L. P. L.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; MARTINS, L. V.; TORRES, E. B.; SANTIAGO, F. E. M.; MOREIRA, F. M. S. Crescimento inicial de *Phaseolus Lunatus* L. inoculado com INPA 03-11B e UFLA 03-84 em solos representativos do Sudoeste Piauiense. **In: FertBio 2012**, 2012. Anais. Maceió-Al, SBCS, 2012. CD-ROM.
- AITA, C. & GIACOMINI, S. J. Matéria orgânica do solo, nitrogênio e enxofre nos diversos sistemas de exploração agrícola. **In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA**, Piracicaba, 2007. Anais. Piracicaba, IPNI Brasil, 2007. 722p.
- ALVES, U. A.; OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; ALVES, E. U.; CARDOSO, E. A.; OLIVEIRA, A. N. P.; CRUZ, I. S. Lima beans production and economic revenue as function of organic and mineral fertilization. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 251-254, 2008.
- ANDA - Associação Nacional para a Difusão de Adubos. Mercado de fertilizantes. 2016. Disponível em <<http://anda.org.br/estatistica/comentarios.pdf>>. Acesso em 7 de mai. de 2018.
- ANTUNES, J. E. L. **Diversidade genética e eficiência simbiótica de isolados de rizóbios nativos em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Piauí, 2010.
- ANTUNES, J. E. L.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; ARAÚJO, A. S. F.; LYRA, M. C. C. P.; FIGUEIREDO, M. V. B. Eficiência Simbiótica de Isolados de Rizóbio Noduladores de Feijão-Fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n.35, p. 751-757, 2011.
- ARAÚJO, A. S. F. de; ROCHA, S. M. B.; MONTE, D. L. da C.; FIGUEIREDO, M. do V. B. Perspectivas para inoculação do feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) no nordeste brasileiro. **In: FertBio 2014**. 13º Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo. Araxá, MG. 2014.
- AZEVEDO, J. DE N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Teresina, 2003. 4p. (Embrapa Meio-Norte: Comunicado Técnico, 152).
- BANU, N. A.; SINGH, B. & COPELAND, L. Soil microbial biomass and microbial biodiversity in some soils from New South Wales, Australia. **Aust. J. Soil Res.**, 42:777-782, 2004.

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247 p.
- BARBOSA, I. do S.; ANDRADE, L. A. de; ALMEIDA, J. A. P. de. Zoneamento agroecológico do município de Lagoa Seca, PB. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.5, p.623–632, 2009.
- BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M. W.; BEEBE, S. E.; GEPTS, P. L.; VANDERLEYDEN, Jos. Beans (*Phaseolus* spp.)- model food legumes. **Plant and Soil** (Netherlands) 252(1):55-128. 2003.
- BURRIS, R. H. Advances in biological nitrogen fixation. **Journal of Industrial of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, p.381-393, 1999.
- CABALLERO, S. S. U. Fixação Biológica do Nitrogênio. s/d. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html>. Acesso em 3 de mai. de 2018.
- CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; DALMASTRI, C.; NACAMULLI, C. & TABACCHIONI, S. Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize roots. **Appl. Soil Ecol.**, 226:11-18, 1998.
- DIAS V. P., FERNANDES E. **Fertilizantes: uma visão sintética**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, set. 2006.
- DIAS, E.; PORFÍLIO, A.; FREIRE, A. G. **Sementes da Paixão: Catálogo de sementes crioulas da Borborema**. AS-PTA Agricultura Familiar e Agroecologia. Esperança. 2016. 65p.
- FIGUEIREDO, B. V. M.; BURITY, A. H.; STAMFORD, P. N.; SILVA, S. R. E. C. **Microrganismos e Agobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008.
- GELSOMINO, A.; KEIJZER-WOLTERS, A. C.; CACCO, G. & van ELSAS, J. D. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal Microbiologic Methods**, 38:1-15, 1999.
- GIRVAN, M. S.; BULLIMORE, J.; PRETTY, J. N.; OSBORN, A. M. & BALL, A. S. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. **Appl. Environ. Microbiol.**, 69:1800-1809, 2003.
- GUIMARAES, W. N.; MARTINS, L. S.; SILVA, E.F.; FERRAZ, G. M. G.; OLIVEIRA, F. J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.1, p.37-45, 2007.

GUSMÃO L. O. **Avaliação da Resistência de Genótipos de Fava (*Phaseolus lunatus* L.) ao Cowpea aphid-borne mosaic virus (CaBMV)**. 2010. 24 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia). Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, AL, 2010.

HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Centro Nacional de Soja. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 542p. (EMBRAPA-CNPAF, Documentos, 46).

IBGE - Produção Agrícola Municipal (PAM). 2016b. **Lavoura temporária - Fava (em grão)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1612&z=t&o=11&i=P>>. Acesso em 8 de mai. 2018.

KIM, J. S.; JOO, J. B.; WEON, H. Y.; KANG, C. S.; LEE, S. K. & YAHNG, C. S. FAME analysis to monitor impact of organic matter on soil bacterial populations. **J. Microbiol. Biotec.**, 12:382-388, 2002.

LAMBAIS, M. R.; CURY, J. de C.; MALUCHE-BARETTA, C. R.; BULL, R. de C. Diversidade Microbiana nos Solos: Definindo novos paradigmas. **Tópicos em Ciências Solo**, V. 4, pg.43-84, 2005.

LECKIE, S. E.; PRESCOTT, C. E.; GRAYSTON, S. J.; NEUFELD, J. D. & MOHN, W. W. Characterization of humus microbial communities in adjacent forest types that differ in nitrogen availability. **Microbiol. Ecol.**, 48:29-40, 2004.

LEMONS, L. B.; OLIVEIRA, R. S. DE; PALOMINO, E. C.; SILVA, T. R. B. DA. Características agronômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.4, p.319-326, 2004.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.

MAQUET, A.; VEKEMANS, X.Z.; BAUDOIN, J.P. Phylogenetic study on wild allies of lima bean, *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), and implications on its origin. **Plant Systematics and Evolution**, v.218, n.1-2, p.43-54, 1999.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press, 1997. 889p.

MARTHA JÚNIOR, G. B.; CORSI, M.; TRIVELIN, P. C. O.; VILELA, L.; PINTO, T. L. F.; TEIXEIRA, G. M.; MANZONI, C. S. & BARIONI, L. G. Perdas de amônia por volatilização em pastagem de capim-tanzânia adubada com uréia no verão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33:2240-2247, 2004.

MELO, L. J. V.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. H.; BARREIRO NETO, M.; FRANCO, C. F. O. Crescimento e produção de fava em função de lâminas de irrigação e densidade de plantio. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa - PB, v.3, n.2, p.37-41, 2009.

MUMMEY, D. L. & STAHL, P. D. Analysis of soil whole- and inner-microaggregate bacterial communities. **Microbiol Ecol.**, 48:41-50, 2004.

MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K. & BISSELING, T. Symbiotic nitrogen fixation. **The Plant Cell**, v.7, p.869-885, 1995.

NASCIMENTO, A. R. L. do. **Diversidade e caracterização de rizóbios associados ao feijão-fava no Semiárido**. 2014. 53 f.: il. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra Talhada, 2014.

NOBRE, D. A. C.; BRANDÃO JÚNIOR, D. da S. **Feijão-Fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. s/d. Disponível em < <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/feijao-fava-phaseolus-lunatus-1>>. Acesso em 03 de mai. de 2018.

OLIVEIRA, A. P.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U.; DORNELAS, C. S. M.; SILVA, J. A.; PÔRTO, M. L.; ALVES, A. V. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um Neossolo Regolítico. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 543-546, 2004.

ORMEÑO, E.; TORRES, R.; MAYO, J.; RIVAS, R.; PEIX, A.; VELÁZQUEZ, E.; ZÚNIGA, D. *Phaseolus lunatus* nodulated by a phosphate solubilizing strain of *Sinorhizobium meliloti* in a Peruvian soil. **In**: VELÁZQUEZ, E.; RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. (Eds) *Developments in Plant and Soil Sciences*, Springer-Verlag, The Netherlands, p. 243-247, 2007.

ORMEÑO-ORRILLO, E.; VINUESA, P.; ZUNIGA-DAVILA, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Molecular diversity of native bradyrhizobia isolated from (*Phaseolus lunatus* L.) in Peru. **Systematics and Applied Microbiology**, n.29, p. 253-262, 2006.

PETROBRAS - **Entenda por que investimos em fertilizantes**, 2014. Disponível em <http://www.petrobras.com.br/fatos-e-dados/entenda-por-que-investimos-em-fertilizantes.htm>. Acesso em 2 de mai. de 2018.

POLIDORO, J. C. **Síntese da amônia possibilitou o aumento da produtividade agrícola**. 2011. Disponível em <<http://redeglobo.globo.com/globociencia/noticia/2011/07/sintese-da-amonha-possibilitou-o-aumento-da-produtividade-agricola.html>>. Acesso em 2 de mai. de 2018.

PRADELLA, J. G. C.; OLIVEIRA, M. S.; URENHA, L. C. Produção de inoculantes Agrícolas. **In:** LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Coord.). Biotecnologia industrial. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. v. 3. p. 279-305.

PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L.A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A.G.; FREITAS, A.R. & VIVALDI, L.J. Adubação nitrogenada em capim coastcross: efeitos na extração de nutrientes e recuperação aparente do nitrogênio. **R. Bras. Zootecnia**, 33:68-78, 2004.

RANJARD, L. & RICHAUME, A. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. **Res. Microbiol.**, 152:707-716, 2001.

SANTOS, D.; CORLETT, F. M. F.; MENDES, J. E. M. F.; WANDERLEY JUNIOR, J. S. A. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.10, p.1407-1412, 2002.

SANTOS, J. O. **Divergência genética em feijão-fava** (*Phaseolus lunatus* L.). 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal – Produção Vegetal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.

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.

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.

SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNÁNDEZ-TORRES, J.; CASTILLO-VILLAMIZAR, G.; DEBOUCK, D. G.; SÁNCHEZ, M. I. C. Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: Evidences for an Andean origin and past migrations. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n.54, p.76-87, 2010.

SILVA, F. de A. S. e. & AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. **In:** WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SIRIMARCO, H. **Brasil está mais dependente da importação de fertilizantes**. 2015. Disponível em <<http://sna.agr.br/brasil-esta-mais-dependente-da-importacao-de-fertilizantes/>>. Acesso em 7 de mai. de 2018.

- SOARES, A. L. L.; PEREIRA, J. P. A. R.; FERREIRA, P. A. A.; VALE, H. M. M.; LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em perdões (MG). I – caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 5, p. 795-802, 2006.
- STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M. G. **Variabilidade Genética do Feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.): aplicações nos estudos das interações simbióticas e patogênicas. Seropédica, 2000, 59p. (Embrapa Agrobiologia: Documento 126).
- TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R. *et al.*, 3ª ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.
- THIES, J. E.; SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Influence of the size of indigenous rhizobial population on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. **Applied and Environmental Microbiology**, n.57, p.19-28, 1991.
- TRIPLETT, E. W.; HEITHOLT, J. J.; EVENSEN, K. B.; BLEVINS, D. G. Increase in internode length of *Phaseolus lunatus* caused by inoculation with a nitrate reductase- deficient strain of *Rhizobium* sp. **Plant Physiology**, n.67, p.1-4, 1981.
- VANCE, C. P. **Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects**. In: Spaink HP (Ed) The Rhizobiaceae. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, p. 509-530, 1998.
- VIEIRA, R. F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.174, p.30-37, 1992.
- ZIMMERMANN, M. J. de O.; TEIXEIRA, M. G. **Origem e evolução**. *In*: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coord.). Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 57-70.