

**ESTIMATIVA DE PRODUÇÃO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM  
INOCULADOS COM ISOLADOS DE *Bradyrhizobium***

**CIRO IGOR TORRES SIZENANDO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPINA GRANDE - PB  
FEVEREIRO DE 2015**

**ESTIMATIVA DE PRODUÇÃO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM  
INOCULADOS COM ISOLADOS DE *Bradyrhizobium***

**CIRO IGOR TORRES SIZENANDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias/ Área de Concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Roseane Cavalcanti dos Santos

**Coorientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Liziane Maria de Lima

**CAMPINA GRANDE – PB  
FEVEREIRO, 2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S625e Sizenando, Ciro Igor Torres.  
Estimativa de produção de genótipos de amendoim inoculados com isolados de Bradyrhizobium [manuscrito] / Ciro Igor Torres Sizenando. - 2015.  
52 p. : il. color.

Digitado.  
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, 2015.  
"Orientação: Profa. Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos, Embrapa Algodão".  
"Co-Orientação: Profa. Liziane Maria de Lima, Embrapa Algodão".  
1. Arachis hypogaea. 2. Fixação biológica de N. 3. Fertilização. 4. Inoculação. I. Título.

21. ed. CDD 633.368

# ESTIMATIVA DE PRODUÇÃO DE GENÓTIPOS DE AMENDOIM INOCULADOS COM ISOLADOS DE *Bradyrhizobium*

**CIRO IGOR TORRES SIZENANDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias/ Área de Concentração: Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

**Aprovada em 12 de fevereiro de 2015**

**Banca Examinadora:**



---

Prof. Dr. Lucas Nunes da Luz (Melhoramento Vegetal), UFCA



---

Prof. Dr. Paulo Ivan Fernandes Junior (Ciência do solo), Embrapa Semiárido  
Examinador



---

Profª. Dra. Liziane Maria de Lima (Biologia Molecular), Embrapa Algodão  
Coorientadora



---

Profª. Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos (Fitomelhoramento), Embrapa Algodão  
Orientadora

Aos meus pais Francisco Aires e Lúgia Miranda e minha sobrinha Eulália Fernanda,  
por serem a minha base e a razão da minha vida  
Pela confiança e amor.

## **OFEREÇO**

A Morganna Pollynne,  
Pela confiança dedicada, pela força e coragem para seguir em frente.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por me guiar dando-me sabedoria e discernimento para trilhar sempre o melhor caminho.

A Dra. Roseane Cavalcanti, pela oportunidade, orientação e todo conhecimento repassado.

A Dra. Liziane Lima pela disponibilidade e receptividade no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Algodão.

Ao Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior, da Embrapa Semiárido, pelo fornecimento dos isolados de *Bradyrhizobium* e suporte na condução dos ensaios.

Ao Prof. Péricles de Albuquerque, da UFRPE, pelo apoio e receptividade no Laboratório de Expressão Gênica.

Aos amigos Jean Pierre, Gerckson, Felipe Teles, Bel, Kaliny, Jaqueline, Yrlânea, Iasodara, Sr. Ivaldo pelo apoio e amizade.

Aos amigos Antônio, Karen, Alice, Geise, Beto, Aline, Anselmo, Allison, César, Vandrê, Milena, minha segunda família durante a estada em Campina Grande.

Aos colegas de Mestrado: Thiago, Isaias, Wellyson, Luanna, Adriana, Suzyane, Ana Lígia, Gean, Ingredy, pelos momentos de estudo e aprendizado.

Toda minha gratidão e carinho aos professores: Carlos Henrique, Germano, Alberto, Pedro Dantas e Josemir.

Aos funcionários da Embrapa AlgodãoA CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

A Embrapa pela estrutura física e materiais para o desenvolvimento dos estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	10
Objetivo geral	12
Objetivo específico	12
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
2.1. Aspectos gerais do amendoim	13
2.2. Importância econômica e mercado	14
2.3. Manejo do amendoim na região Sudeste	15
2.4. Manejo do amendoim no Nordeste Brasileiro	16
2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)	17
2.6. Produção nas lavouras via FBN	20
2.7. Seleção de novas estirpes para uso comercial	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	25
3.1. Obtenção dos isolados de <i>Bradyrhizobium</i>	26
3.2. Condução do experimento em campo	27
3.3. Preparo dos isolados	29

3.4. Análise estatística	29
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	30
<b>5. CONCLUSÕES</b>	36
<b>6. REFERÊNCIAS</b>	37

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Descrição dos solos analisados para o estudo de diversidade de bactérias isoladas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). 26

**Tabela 2.** Características dos isolados bacterianos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (CUNHA, 2014) 27

**Tabela 3.** Resultado da análise das amostras de solo coletadas na área experimental. 28

**Tabela 4.** Síntese da análise de variância para número de nódulos, altura das plantas, número de vagens, peso de vagens/planta e índice de colheita de genótipos de amendoim submetidos a duas fontes de nitrogênio. 31

**Tabela 5.** Médias para número de nódulos, número de vagens, peso de vagens e índice de colheita. 32

**Tabela 6.** Porcentagem de ganhos para as variáveis: número de nódulos, número de vagens/ planta, peso de vagens/planta e índice de colheita. 32

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Inoculação das sementes com os isolados de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (A), área experimental previamente fertilizada com superfosfato simples e cloreto de potássio (B), desenvolvimento dos genótipos de amendoim submetidos aos tratamentos: sulfato de amônio, isolados de *Bradyrhizobium* e controle (C). 28

**Figura 2.** Produção de nódulos e vagens por planta: BR1 controle (A); BR1 inoculada com o Isolado 1: 115-7 (B); produção de vagens da linhagem L7 Bege (C) e detalhe do número de vagens da L7 Bege (D) inoculada com 123-10A. 31

## RESUMO

SIZENANDO, CIRO IGOR TORRES. MSc.; Universidade Estadual da Paraíba/Embrapa Algodão, fevereiro/2015. Estimativa de produção de genótipos de amendoim inoculados com isolados de *Bradyrhizobium*. Roseane Cavalcanti dos Santos (Orientadora); Liziane Maria de Lima (Coorientadora).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo, considerada uma das mais importantes culturas entre as leguminosas. Em função da larga adaptabilidade às condições tropicais e por ser uma cultura de valor econômico, o amendoim tem um papel importante para a geração de renda de pequenos agricultores na região Nordeste, especialmente de base familiar. A adoção de práticas culturais de cunho agroecológico e de baixo custo devem ser estimuladas como forma de incentivar o cultivo de forma mais adaptada para as tendências da região, tais como, o uso de fertilizantes biológicos a base de *Bradyrhizobium*. A resposta à inoculação, contudo, é genótipo dependente. Desta forma torna-se necessário a identificação de genótipos de amendoim que sejam mais responsivos a FBN e que contribuam para promover o crescimento e desenvolvimento da cultura. Neste trabalho, dois genótipos de amendoim foram submetidos a um manejo envolvendo três isolados de *Bradyrhizobium* visando estimar a produtividade em função dos nódulos produzidos. O experimento foi instalado na área experimental da UFRPE, Recife, PE, utilizando-se dois genótipos eretos, de ciclo curto, BR 1 e L7 bege. A unidade experimental foi composta por cinco linhas de três metros de comprimento, onde as três centrais foram utilizadas como área útil. O solo foi previamente fertilizado

com cloreto de potássio e superfosfato simples. O plantio foi feito utilizando o espaçamento de 0,70 m entre fileiras e 0,20 m entre plantas. Os tratamentos utilizados foram: fertilização com três inoculantes distintos a base de *Bradyrhizobium* (isolado 1: 115-7, isolado 2: 123-10A e isolado 3: 1436 SEMIA 6144), fertilização nitrogenada (sulfato de amônio) e controle (cultivo sem fertilização nitrogenada). O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. As variáveis registradas foram: altura de planta, número de nódulos e de vagens/planta, peso de vagens e índice de colheita. Verificou-se que ambos os genótipos obtiveram resposta significativa para as duas fontes de N aplicadas, a linhagem L7 Bege obteve médias superiores a cultivar BR1 em todas as variáveis, com exceção da altura de plantas. Para a produção de vagens, os genótipos mostraram-se responsivos tanto a fonte química como para inoculação com *Bradyrhizobium*; os isolados 1 e 2 revelaram melhor afinidade com a cultivar BR1 proporcionando incremento de 56% e 43%, respectivamente. Por outro lado a linhagem L7 Bege mostrou-se responsiva apenas ao isolado 2 com incremento de 32%, mesmo resultado obtido com o tratamento químico. O isolado 3, recomendado para a cultura do amendoim, não apresentou efeito significativo.

**Palavras-chave:** *Arachis hypogaea*; Fixação biológica de N; Fertilização, inoculante.

## ABSTRACT

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is one of leading oilseeds grown worldwide and considered one of the most important oleaginous crops. Due to wide adaptability to tropical conditions and economic value, peanuts may have an important role in the generation of income to small farmers located at Northeast region. The adoption of new crop practices encompassing agroecological management should be encouraged among farmers in order to minimizing costs, such as biological fertilization by using *Bradyrhizobium* inoculants. The response inoculation, however, is genotype dependent thus it is necessary to identify peanut genotypes more responsive to BNF in order to promote better growth and development of plants. In this study, two peanut genotypes were submitted to management involving three *Bradyrhizobium* isolates aiming to estimate the pod and seed yield. The experiment was carried out in experimental field of UFRPE, Recife, PE, using two earliness genotypes, BR 1 and L7 bege. Seeds were planted in plots performed by five 3m-rows, using the spacing of 0.70 m x 0.20 m. The soil was previously fertilized with superphosphate and potassium chloride. The treatments were: fertilization with three different *Bradyrhizobium* isolates (1: 115-7, 2: 123-10 and 3: 1436 SEMIA 6144), fertilization with diammonium sulfate and absolut control (no nitrogen fertilization and inoculation). The experimental design adopted was randomized blocks with four replications. The variables evaluations were: plant height, number of nodules and pods per plant, pod weight and harvest index. It both genotypes had significant response to both *Bradyrhizobium* and diammonium sulfate fertilizations, mainly to pod pro. Cultivar BR 1 was better benefited with 1 and 2 isolates, revealing 56% and 43% increasing in pod productions, respectively, while L7 bege was

responsive only to 2 with increase of 32% and same result to diammonium sulfate fertilization. Based on condition on this research, SEMIA 6144 did not show effectiveness to both genotypes used in this work.

**Keywords:** *Arachis hypogaea*; Biological fixation of N; Fertilization, inoculant.

## 1. INTRODUÇÃO

O amendoim é uma das principais oleaginosas produzidas em larga escala mundial, sendo a quarta oleaginosa mais cultivada, perdendo apenas para soja, algodão e canola. O cultivo é realizado em mais de 100 países, ocupando uma área de 23 milhões de hectares. Para a safra 2014/2015 a produção mundial está estimada em torno de 40 milhões de toneladas. Esta cultura possui grande relevância no mercado de grãos, sendo um importante produto da economia de países asiáticos e africanos, com produção liderada pela China, Índia, Nigéria e EUA, os quais detêm aproximadamente 80% da produção mundial (USDA, 2014).

Estima-se que, para o ano de 2015, o Brasil produza cerca de 320 mil toneladas em uma área de 104 mil ha, sendo São Paulo, Minas Gerais e Tocantins os principais produtores nacionais (CONAB, 2015). O estado de São Paulo é responsável por quase 90% da produção, adotando manejo altamente tecnificado, especialmente em áreas de reforma de canavial. Cerca de 80% do que é produzido no estado é destinado ao mercado externo. Nas regiões Centro-Oeste, Sul e Nordeste, o cultivo é realizado em áreas com menos de 50 ha, com manejo envolvendo práticas realizadas por produtores de base familiar (MELO FILHO e SANTOS, 2010).

Dentre os principais fatores que respondem pela produtividade nas lavouras de amendoim, a fertilização é essencial para obtenção de altas produções e de boa qualidade. Para suprir a demanda nutricional requerida pela cultura, os grandes produtores utilizam fontes químicas de fertilizantes, entretanto, o emprego desta prática por pequenos produtores é mínimo, devido ao seu alto custo.

O amendoim tem a habilidade de se beneficiar da simbiose estabelecida entre a planta e bactérias fixadoras de nitrogênio que ocorrem naturalmente no solo, capazes de reduzir o nitrogênio atmosférico a uma forma absorvível pelas plantas, dispensando ou reduzindo o uso de fertilizantes químicos.

O Nitrogênio (N) participa de vários processos biológicos, sua deficiência causa redução da área foliar, na assimilação fotossintética e do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas. Essa demanda pode ser suprida de forma agroecológica e com baixo custo por meio de adoção de inoculantes a base de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, utilizando-se isolados responsivos a produção de nódulos e também de vagens.

Segundo Thies et al. (1991) a prática de inoculação não é muito comum na cultura do amendoim uma vez que esta espécie é considerada capaz de nodular com uma ampla faixa de rizóbios tropicais do grupo “miscelânea caupi”. Entretanto, a inoculação com estirpes selecionadas, é capaz de aumentar a efetividade da simbiose e aumentar o rendimento do amendoim (HUANG et al., 1990).

A adoção da fixação biológica de nitrogênio (FBN) promove o aproveitamento total do nitrogênio fixado, diferentemente da utilização dos fertilizantes químicos, resultando em economia para o produtor, além de não contaminar o solo, podendo ser utilizado como adubo verde para a cultura subsequente.

A divulgação e incentivo na adoção de práticas culturais sustentáveis e agroecológicas é uma tendência mundial que tem sido praticada por várias instituições de pesquisa, assistência rural e universidades porque possibilita desenvolver uma agricultura menos agressiva ao homem e ao meio ambiente. No Brasil, vários trabalhos têm sido desenvolvidos em pequenas comunidades rurais, onde se tem demonstrado os resultados de pesquisas que levam a maior economicidade e produtividade por meio de adoção de práticas agroecológicas de defesa de plantas e fertilização biológica, especialmente em lavouras leguminosas.

Este trabalho versa sobre resultados de pesquisa obtidos com fertilização biológica, utilizando-se a cultura do amendoim, fertilizada com isolados de *Bradyrhizobium*, onde se demonstra a vantagem de uso devido à contribuição para o crescimento e desenvolvimento da planta. A pesquisa foi coordenada pela Embrapa Algodão, em parceria com a UFRPE, em Pernambuco.

### **1.1. Objetivo Geral**

Avaliar a produtividade de amendoim irrigado, cultivado em solo arenoso inoculado com novas estirpes de *Bradyrhizobium*.

### **1.2. Objetivos específicos**

Determinar a nodulação e a produção de vagens de dois genótipos de amendoim inoculados com dois novos isolados de *Bradyrhizobium* oriundos de solos do nordeste do Brasil.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos gerais do amendoim

O amendoim é uma oleaginosa pertencente ao gênero *Arachis* (família Fabaceae, subfamília Papilionidae) que engloba mais de 80 espécies já identificadas (KRAPOVICKAS e GREGORY, 1994). Trata-se de uma planta originária da América do Sul, distribuída naturalmente no Brasil, Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai (FÁVERO et al., 2006). Acredita-se que o centro de origem desta leguminosa seja o Brasil, mas também é bastante cultivada na Ásia, África e América do Norte (ALLEN e ALLEN, 1991). O Brasil é um dos grandes centros de diversidade desta oleaginosa; dentre as várias espécies do gênero, 64 ocorrem no país e 48 são endêmicas do território nacional (VALLS e SIMPSON, 2005).

A espécie *A. hypogaea* está subdividida em duas subespécies, *hypogaea* e *fastigiata* e, entre estas, há seis variedades botânicas conforme o hábito de crescimento (*hypogaea*, *hirsuta*, *fastigiata*, *vulgaris*, *aequatoriana* e *peruviana*) (NOGUEIRA et al., 2013). É uma planta anual, dicotiledônea, autógama, herbácea, com caule ereto central e ramificações que podem variar de rasteiras a eretas, com altura de 15 a 50 cm, conforme o hábito de crescimento (VIEIRA et al., 2001).

As subespécies são diferenciadas a partir de grupos botânicos, sendo os mais comerciais os tipos Virgínia, Valência e Spanish. O tipo Virgínia é representado por acessos da subespécie *hypogaea*, que tem em comum o hábito de crescimento rasteiro, semirrasteiro e arbustivo, ciclo longo (120 a 140 dias), sem flores na haste principal e vagens com duas sementes, já os tipos Valência e Spanish são representados pelas

subespécies *fastigiata* e *hypogaea*, respectivamente, ambas possuem hábito de crescimento ereto ou semi-ereto, ciclo curto (90 a 100 dias) e haste principal com flores. As vagens do grupo Spanish possuem duas sementes de tamanho pequeno a médio; já as do grupo Valência contêm entre duas e quatro sementes por vagem (GODOY et al., 2005).

O amendoim é cultivado em regiões tropicais na faixa de latitude entre 30° N e S, entretanto, países de clima temperado como os Estados Unidos executam o cultivo numa faixa de latitude maior (30° a 40°). Apesar desta ampla adaptabilidade, a produtividade é fortemente influenciada por fatores ambientais, especialmente temperatura, disponibilidade de água e radiação (NOGUEIRA et al., 2013). As condições climáticas variam em função da fase de desenvolvimento da cultura. As plantas apresentam hábito de crescimento indeterminado, ocorrendo simultaneamente o desenvolvimento vegetativo e o reprodutivo (NETO et al., 2012).

A formação dos frutos do amendoim é de natureza *hipógea*, necessitando de solos de textura arenosa ou franco-arenosa, de boa drenagem e aeração de modo a favorecer o desenvolvimento das raízes e frutos, como também o suprimento de nitrogênio para a fixação simbiótica (NETO et al., 2012).

## **2.2. Importância econômica e mercado**

Durante as décadas de 70 e 80, o cultivo de amendoim no Brasil, ocupou posição de destaque, dando ao país status de grande produtor mundial, com 700.000 hectares plantados e uma produção de 900.000 toneladas (FREITAS et al., 2005).

A partir daí, houve uma forte queda na produção do amendoim, causada pelo baixo retorno econômico da cultura, introdução da soja, e de fatores tecnológicos. Pela falta de normas de controle sanitário específico, houve uma redução da competitividade do amendoim em relação a soja, que acabou se estabelecendo como matéria-prima para produção de óleo e farelo, por outro lado, aconteceu um crescimento da demanda pelo grão de amendoim para consumo *in natura* (MARTINS e VICENTE, 2010). Com a implementação de novas cultivares, emprego de tecnologias e aumento da qualidade dos grãos, ocorreu o resgate da cultura do amendoim a datar dos anos 2000, readquirindo a confiança do produto brasileiro tanto no mercado nacional como internacional (MELO FILHO e SANTOS, 2010).

Surgindo então uma nova perspectiva de mercado para os produtores de

amendoim, a indústria confeitaria. Novas técnicas foram adotadas visando atender às exigências específicas para este mercado, o que também permitiu uma reorganização do segmento para o estabelecimento de novas regras de produção. A adoção de novas tecnologias permitiu a conquista do mercado externo, com ênfase para o exigente consumidor europeu, sendo o amendoim descascado o principal produto exportado (MARTINS, 2010; VICENTE, 2010).

O estado de São Paulo é responsável por quase 90% da produção nacional, fixada em torno de 300 mil toneladas. Segundo a CONAB (2015), há uma expectativa de crescimento em torno de 5% na área cultivada com amendoim no estado, especialmente com cultivares do tipo runner que já ocupa 80% da área cultivada.

A produção nacional visa atender principalmente os mercados de consumo *in natura* e de alimento. Para o mercado *in natura*, as exigências são grãos de película vermelha, com tamanho variando de médio a grande e teor de óleo entre 40% e 46%. Já para o mercado de alimentos, dar-se preferência aos grãos de coloração bege ou creme, de tamanho grande e extragrande e teor de óleo na faixa de 43% e 50% (SANTOS et al., 2013).

Com o crescimento de demandas por culturas oleaginosas para alimentar o mercado oleoquímico no segmento comestível ou combustível, na última década, houve também uma reabertura para o óleo de amendoim, que tem sido abastecido por cultivares do tipo runner que possuem maior teor de óleo (SANTOS et al., 2013)

### **2.3. Manejo do amendoim na região Sudeste**

Atualmente, a região sudeste responde por mais de 90% do amendoim produzido no Brasil, com destaque para o estado de São Paulo onde o cultivo é feito basicamente em duas regiões: na Alta Mogiana, na região de Ribeirão Preto e Jaboticabal, e Alta Paulista, região de Marília e Tupã. Nestas áreas, os produtores plantam a leguminosa com o objetivo de renovar canaviais e pastagens, em duas safras durante o ano (MARTINS, 2010). Segundo Ambrosano et al. (2011) a utilização do amendoim em reforma de canaviais proporciona aumentos significativos na produção da cana-de-açúcar, protege o solo contra erosão e reduz a incidência de plantas invasoras, além de ter um custo relativamente baixo.

O plantio é realizado geralmente, entre outubro e novembro (primeira safra ou safra das águas), podendo ser plantado também entre fevereiro e março (segunda safra

ou safrinha) (GODOY et al., 2014). A depender do cultivo anterior, tipo de solo e período do ano, as operações de preparo do solo são realizadas com o auxílio de implementos como roçadeiras, grades de discos, no preparo primário do solo, subsolador, no caso de solos compactados e aração com arado de discos ou aivecas (BOLONHEZI et al., 2013).

A fertilização é feita baseada em análise de solo, entretanto, de maneira geral, a formulação adotada pelos produtores para cultivares de alto potencial produtivo é a que garante o fornecimento de 10 a 15 kg ha<sup>-1</sup> de N, 90 a 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 30 a 40 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, além dos micronutrientes já contidos nos fertilizantes. A colheita é efetuada utilizando implementos tipo arrancadoras/invertedoras para o arranquio e enleiramento, posteriormente, se procede a secagem em campo ou de forma artificial por meio de secadores tipo silo ou carretas com o fundo perfurado (GODOY et al., 2014).

#### **2.4. Manejo do amendoim no Nordeste Brasileiro**

Na região Nordeste, o estado da Bahia destaca-se como principal produtor, com 3,1 mil toneladas, que representa 46% da produção desta região, seguido de Sergipe com 2,1 mil toneladas (CONAB, 2015). A maior parte do amendoim cultivado no Nordeste é realizada em regime de sequeiro, em apenas uma safra, concentrando-se nas regiões da Zona da Mata, Agreste e Semiárido, onde o cultivo irrigado é pouco utilizado. As lavouras de amendoim estão basicamente distribuídas no Recôncavo Baiano, Tabuleiros costeiros de Sergipe, nas Zonas da Mata, Agreste e Sertão Pernambucano, no Agreste e Brejo Paraibano e na região do Cariri do Ceará (BOLONHEZI, 2013).

Nessas regiões, o cultivo é realizado por pequenos agricultores no período chuvoso, sendo a mão de obra familiar responsável pelo manejo da cultura, exercendo o monocultivo ou em forma de consórcio com o milho, algodão e gergelim, por exemplo (BOLONHEZI et al., 2013).

A colheita é efetuada de forma manual ou com auxílio de tração animal, devido ao predomínio de cultivares de porte ereto, em seguida as plantas são enleiradas para secagem. Após a secagem as vagens são despencadas e descascadas utilizando a mão de obra familiar (SANTOS et al., 2006).

Segundo Bolonhezi et al. (2013), a fertilização é fundamental para obtenção de

produtividade elevada e de qualidade, mesmo considerando o amendoim como uma cultura pouco exigente em adubação. A fertilidade dos solos nordestinos é frequentemente baixa, desta maneira recomenda-se entre 60 e 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, e 30 kg ha<sup>-1</sup> de KCl, baseando-se em análise de solo. Por ser uma prática de alto custo e fora da realidade financeira dos agricultores familiares, a utilização de fertilizantes químicos é substituída pela adubação orgânica com a aplicação de 2 Kg/m<sup>2</sup> de esterco de curral curtido ou pela fertilização biológica, baseada na FBN por bactérias diazotróficas, recomendando-se 200 g do inoculante para 10 Kg de sementes (SANTOS et al., 2006).

## 2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio

O nitrogênio é um nutriente essencial para as plantas por estar presente em vários processos biológicos tais como síntese de aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas e enzimas, além do metabolismo, crescimento e desenvolvimento de tecidos vegetais. Baseado nestes fatores, a deficiência de nitrogênio provoca redução da área foliar, da assimilação fotossintética, do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas (EPSTEIN e BLOOM, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013). É o elemento mais abundante na atmosfera, e sua disponibilidade limita a produção vegetal em vários ecossistemas naturais e agrícolas pelo fato de ser o nutriente exigido em maior quantidade pelas plantas, em relação aos demais nutrientes minerais (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

Além de inibir o crescimento das plantas, sua deficiência ocasiona clorose nas folhas mais velhas. Em casos mais severos de deficiência as folhas ficam completamente amarelas ou castanhas e caem. O caule pode ficar mais lenhoso devido ao acúmulo de carboidratos que não foram utilizados na síntese de aminoácidos e outros compostos nitrogenados. Estas substâncias podem ser utilizadas na síntese de antocianinas provocando um acúmulo deste pigmento e, conseqüentemente, dando uma coloração arroxeada as folhas, pecíolos e caules de algumas espécies (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Aproximadamente 78% da atmosfera é composta por N<sub>2</sub>, forma combinada que as plantas não são capazes de absorver graças a tripla ligação covalente que une estes dois átomos. Para a produção de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ou amônia (NH<sub>3</sub>), formas sintetizadas pelas plantas, esta tripla ligação deve ser quebrada por reações denominadas de fixação do nitrogênio, isto ocorre por processos industriais ou naturais (relâmpagos, reações

fotoquímicas e FBN) (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O Brasil ocupa a quarta posição no consumo mundial de fertilizantes (N, P, K), o que corresponde a 6% de 171 milhões de toneladas de nutrientes. Em relação ao nitrogênio, o país detém 3% da participação no mercado mundial de N-fertilizante de 104 milhões de toneladas comercializadas. Deste total o Brasil importa aproximadamente 78% do que é consumido, aumentando ainda mais os custos de produção (ANDA, 2010). Da safra de 2010 a 2013 houve um acréscimo no consumo de fertilizantes de quase 6%, o que evidencia a dependência do setor por estes produtos (ANDA, 2013).

Segundo Mortvedt et al. (1999), a eficiência da aplicação dos fertilizantes nitrogenados, especialmente em regiões tropicais, situa-se entre 50% e 70%, ou seja, parte do fertilizante é perdido por volatilização, lixiviação ou nitrificação. O prejuízo não se resume a danos econômicos, também ocorre contaminação do meio ambiente pelo excesso de  $\text{NO}_3$  nas fontes de água (SPIERTZ, 2010). O acúmulo de nitrato na água compromete sua qualidade inviabilizando o consumo em função do crescimento de bactérias que produzem substâncias maléficas ao homem (DAVIDSON et al., 2012).

A FBN é um processo que utiliza bactérias capazes de converter o nitrogênio da atmosfera em amônio, forma utilizável pelas plantas (EPSTEIN e BLOOM, 2006), sendo responsável pela fixação de 44 a 66 milhões de toneladas de N fixados ao ano por leguminosas de importância econômica, o que representa aproximadamente metade do N utilizado nos sistemas agrícolas (GRAHAM e VANCE, 2003).

Este processo é mediado por bactérias diazotróficas ou fixadoras de N, organismos que são caracterizados pela presença do complexo enzimático denominado de *nitrogenase*, capaz de efetuar a quebra da tripla ligação do  $\text{N}_2$ , podendo ocorrer de forma livre no solo ou em associações simbióticas com determinadas espécies vegetais, em especial as leguminosas (fabáceas) como amendoim, soja e feijão (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

A partir da simbiose estabelecida entre rizóbio e leguminosa formam-se os nódulos radiculares ou caulinares, que são habitados por organismos específicos como bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, dentre outros que fixam o nitrogênio atmosférico. Nessa relação, o micro-organismo utiliza as fontes de carbono fornecidas pelas plantas e libera o N fixado que posteriormente será convertido em N orgânico, assimilado pela planta (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Os nódulos são estruturas que possuem, entre outras atividades, a de proteger o

complexo enzimático da *nitrogenase* contra o oxigênio, pois as duas proteínas que a compõem (Fe proteína e Fe-Mo proteína) são desnaturadas na sua presença. Para que os bacteroides não tenham seu metabolismo aeróbio danificado, os nódulos contêm uma heme proteína, a leghemoglobina, que tem a função de controlar a entrada do oxigênio em níveis que não interfiram na ação da *nitrogenase* e assim ser utilizado no metabolismo aeróbio das bactérias (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006). O oxigênio fica adsorvido a leghemoglobina, que ocasiona uma coloração avermelhada no interior do nódulo, esta coloração é geralmente um indicativo de eficiência simbiótica (RIBEIRO JÚNIOR e RAMOS, 2006). Essa simbiose torna-se uma importante alternativa ecológica e econômica ao uso dos fertilizantes nitrogenados, podendo dispensar parcial ou totalmente o uso destes insumos, além de que todo N fixado por meio da FBN é assimilado pela planta (FRANCO e DOBEREINEIR, 1994; FRANCO e FARIA, 1997). Segundo Peoples et al. (1995), as leguminosas são responsáveis por acrescentar cerca de 200 a 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N ao ano nos solos agrícolas.

Os metabolismos do micro-organismo e da planta hospedeira se complementam, cada um é responsável por produzir substâncias específicas. Para que ocorra nodulação, o hospedeiro precisa ser suscetível e compatível com a espécie de rizóbio que, por sua vez deve ter a capacidade de se reproduzir e sobreviver nas raízes. Caso a liberação de exsudados pela planta hospedeira não seja satisfatória, a FBN pode ser comprometida (KERBAUY, 2004). Com isso, a identificação e caracterização de estirpes são pontos de partida nos trabalhos de seleção destes micro-organismos devido à vasta diversidade de espécies agrícolas cultivadas e que podem ser beneficiadas pelo processo da simbiose nos solos tropicais (CUNHA et al., 2013).

Taurian et al. (2006) estimaram a diversidade genética em 39 isolados bacterianos coletados em 14 diferentes locais na região de Córdoba, na Argentina, utilizando o amendoim como planta isca. Os autores constataram que existem outras espécies além de *Bradyrhizobium* que apresentam eficiência em nodular o amendoim, tais como: *Rhizobium giardinii* e *R. tropici*. De posse destes resultados, Ibañez et al. (2009), a fim de avaliar apenas os isolados de crescimento rápido, recuperados de nódulo estudados por Taurian et al. (2006), constataram a presença de outros gêneros entre eles: *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp., bactérias oportunistas, pertencentes ao Filo Proteobactéria, subclasse Gammaproteobactéria. Os autores explicam que estes micro-organismos possuem a capacidade de colonizar os nódulos radiculares após ou durante o seu processo de formação. A identificação de

bactérias da sub classe Gammaproteobactéria nos nódulos do amendoim não foi previamente relatada, ao passo que, estas informações podem ser importantes se for confirmado que a associação de leguminosas com estas bactérias cause efeito benéfico no crescimento das plantas (IBAÑEZ, 2009).

Atualmente, grande parte dos gêneros identificados como nodulíferos pertencem a subclasse Alphaproteobactérias, onde cita-se: *Rhizobium* (FRANK, 1889), *Bradyrhizobium* (JORDAN, 1984), *Azorhizobium* (DREYFUS, 1988), *Sinorhizobium* (Ensifer) (CHEN et al., 1988), *Mesorhizobium* (JARVIS et al., 1997), *Allorhizobium* (LAJUDIE et al., 1998), *Methylobacterium* (SY et al., 2001), *Devosia* (RIVAS et al., 2002), *Phyllobacterium* (VALVERDE et al., 2005), *Ochrobactrum* (TRUJILLO et al., 2005), *Shinella* (LIN et al., 2008), *Aminobacter* (MAYNAUD et al., 2012), *Microvirga* (ARDLEY et al., 2012) e *Achromobacter* (GUIMARÃES et al., 2012). Entretanto, a evolução nos estudos taxonômicos de bactérias fixadoras de N detectou que algumas espécies pertencentes à subclasse Betaproteobactéria, classificadas como *Burkholderia* sp. (MOULIN et al., 2001) e *Cupriavidus* sp. (CHEN et al., 2001), também realizam simbiose com leguminosas. Cunha et al. (2013) estimaram a diversidade de bactérias isoladas de nódulos de amendoim cultivado em solos do semiárido brasileiro e concluíram que há grande diversidade entre as estirpes presentes nos nódulos, em função do crescimento rápido da colônia, capacidade de acidificar o meio e presença de muito muco, características inerentes a estirpes do gênero *Rhizobium*. Segundo os autores, o amendoim é considerado uma planta promíscua capaz de nodular com uma ampla diversidade de rizóbios.

## 2.6. Produção nas lavouras via FBN

A inoculação com estirpes selecionadas de rizóbios pode proporcionar muitos benefícios para os sistemas agrícolas, entre eles aumento da fertilidade do solo e da produção vegetal, além de gerar economia na utilização de fertilizantes nitrogenados, substituindo total ou parcialmente o uso destes insumos em algumas leguminosas. A soja, a exemplo disto, dispensa totalmente a utilização de adubos químicos nitrogenados, reduzindo custos e impactos ambientais decorrentes do manejo impróprio (MOREIRA, 2010).

Segundo estimativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011), mais de 95% dos inoculantes produzidos a partir de bactérias

diazotróficas comercializados no Brasil são destinados à cultura da soja. Estudos desenvolvidos por Nogueira e Hungria (2013) reportaram que a inoculação pode suprir a demanda de N requerida pela soja, com aproveitamento que pode chegar a 100%, o que não acontece com os fertilizantes químicos, gerando uma economia de US\$ 7 bilhões anuais para o Brasil.

Atualmente, o MAPA recomenda quatro estirpes para a formulação de inoculantes destinados ao cultivo da soja: SEMIA 5079, SEMIA 5080, SEMIA 5019 e SEMIA 587, sendo utilizadas individualmente ou de forma combinada, a depender do fabricante. Resultados obtidos nas diversas regiões onde a soja é cultivada no Brasil mostram que a aplicação de fertilizantes nitrogenados, em fundação ou cobertura, independentemente do estágio de desenvolvimento da planta, não aumenta a produtividade da cultura e tende a inibir a nodulação (HUNGRIA et al., 2005).

O MAPA recomenda o uso de estirpes de bactérias fixadoras de N para mais de 100 espécies vegetais, o que representa uma oportunidade para testar e posteriormente recomendar estirpes potencialmente responsivas para várias culturas de importância econômica (MAPA, 2011).

O feijão de corda ou caupi (*Vigna unguiculata*) é considerado uma espécie promíscua, ou seja, capaz de nodular com diversos gêneros de rizóbios, entre eles *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Burkholderia*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* (ZILLI et al., 2006; MOREIRA, 2006b; GUIMARÃES et al., 2012), no entanto, os inoculantes recomendados para a cultura atualmente são elaborados a partir de *Bradyrhizobium* sp., a saber: INPA 3-11B, UFLA 3-84, BR 3267 e BR 3262.

A inoculação de feijão caupi, cv BRS Amapá com a estirpe BR 3262, em ensaios no estado de Roraima, proporcionou rendimento de grãos semelhante à fertilização com 50 kg/ha de N em fundação ou 80 kg/ha de N, dividido em duas aplicações (ZILLI et al., 2009). Sousa e Moreira (2011) constataram um incremento de 41% no rendimento de grãos de feijão caupi, cv. Gurguéia, quando inoculado com a estirpe INPA 3-11B, no município de Confresa, MT.

A adoção de inoculação com estirpes superiores também tem sido reportada em gramíneas, como milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum* spp.). Ensaios conduzidos por Hungria et al. (2010) resultaram nas primeiras cepas de *Azospirillum* sp. recomendadas para a produção de inoculantes no Brasil, proporcionando incremento no rendimento de grãos de cerca de 30% e 18%, respectivamente.

Em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), Shultz et al. (2012), realizaram

avaliações em áreas de cultivo comercial e observaram que a cultivar RB 867515 obteve produtividade semelhante a fertilização com  $120 \text{ kg.ha}^{-1}$  quando utilizou-se inoculante produzido a partir de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbican*, *Azospirillum amazonense* e *Bulkholderia tropica*.

Mesmo para espécies como o feijão (*Phaseolus vulgaris*) e o amendoim (*A. hypogaea*), que tem habilidade de nodular com estirpes nativas no solo, a inoculação com estirpes selecionadas pode garantir maior produtividade devido ao melhor aporte de N, podendo até dispensar o uso de fontes suplementares de fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al., 2013).

De acordo com Thies et al. (1991), a prática de inoculação na cultura do amendoim não é muito comum devido a sua elevada capacidade de nodular com uma extensa faixa de rizóbios tropicais, pertencentes ao grupo miscelânea caupi. Em estudos conduzidos nos EUA, Lanier et al. (2005) constatou que o amendoim responde melhor a inoculação com *Bradyrhizobium* em área sem histórico de cultivo com essa leguminosa, diferentemente das áreas em que o amendoim já tenha sido cultivado, ocorrendo nodulação natural com bactérias nativas. Entretanto a introdução de estirpes selecionadas pode aumentar a produção em solos onde a competitividade da população simbiótica é baixa (BORGES, 2006). Neste caso, o sucesso da inoculação de estirpes selecionadas irá depender do seu potencial de competição e estabelecimento no solo em relação às populações de rizóbios nativos (BORGES et al., 2007).

A nodulação de diversas espécies leguminosas nos solos tropicais é mais influenciada pela planta hospedeira do que pelos rizóbios nativos (RUMJANEK et al., 2005). Em relação ao amendoim esta especificidade pode ser observada entre diferentes cultivares (SANTOS et al., 2005; MARCONDES et al., 2010; MELO, 2013).

Na região Nordeste certos fatores determinam a necessidade da inoculação do amendoim em solos tropicais, tais como, população reduzida de rizóbios nativos, baixa umidade do solo e áreas sem histórico de cultivos com leguminosas (SANTOS et al., 2005).

Para a cultura do amendoim, o MAPA recomenda apenas um isolado, SEMIA 6144, de *Bradyrhizobium* sp., isolada e avaliada pelo Instituto Agrônomo de Campinas - IAC (MAPA, 2011).

Alguns autores reportam a eficiência desta estirpe para alguns genótipos específicos. Ao estudar a eficiência de duas fontes de N sob a produção de três genótipos de amendoim, Melo (2013) comprovou efeito benéfico da simbiose entre

genótipo e isolado de *Bradyrhizobium*. O ensaio foi conduzido em Campina Grande, PB, utilizando solo de textura arenosa. Três genótipos precoces foram avaliados, BR1, BRS Havana e L7 Bege, todos inoculados com a estirpe SEMIA 6144. O autor verificou que entre os genótipos estudados, apenas a BRS Havana foi beneficiada pela inoculação, com aumento no número de nódulos e peso de vagens.

Em ensaios conduzidos por Delfini et al. (2010), em solos de textura arenosa, em Córdoba (Argentina), os autores testaram duas cultivares de amendoim cultivadas com inoculante a base de SEMIA 6144 e verificaram aumento no número de nódulos, massa seca e o teor de N nas plantas em apenas uma cultivar, demonstrando especificidade de resposta, tal como tem sido verificado por outros autores.

Além dos isolados de *Bradyrhizobium*, há relatos de outras estirpes do gênero *Rhizobium*, caracterizadas por serem de crescimento rápido, com eficiência simbiótica para outras culturas como feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), que também tem sido capazes de nodular em amendoim (TAURIAN et al., 2006).

Segundo Marcondes et al. (2010), algumas cultivares de amendoim também podem se beneficiar da simbiose com isolados de bactérias do gênero *Rhizobium* sp. Os autores testaram as cultivares paulistas IAC 886 Runner e IAC Tatu ST submetidas a 15 diferentes isolados bacterianos, isoladamente ou associados à SEMIA 6144 e verificaram que todas as estirpes foram eficientes para nodular as plantas, aumentando o N total e a matéria seca da parte aérea. Os isolado JAB 2 e JAB 15/6144 apresentaram melhores médias para nodulação, matéria seca e efetividade de fixação de N em ambas as cultivares.

Santos et al. (2005) avaliaram a FBN em cinco genótipos mediante a inoculação com 12 isolados de rizóbios nativos da região Nordeste. Os autores verificaram que os tratamentos com os isolados proporcionaram boa nodulação e acúmulo de N-total, além de rendimento de biomassa seca na parte aérea. A cultivar precoce da Embrapa, BR 1, revelou maior especificidade, sendo mais responsiva ao isolado A105, enquanto que a *land race* Sertão mostrou-se mais responsiva a inoculação quando em associação com rizóbios nativos.

El-Akhal et al. (2013) testaram dois isolados de rizóbio em amendoim cultivado em meio salino, variando entre 3,80 dS.m<sup>-1</sup> e 9,25 dS.m<sup>-1</sup>. Os autores verificaram que, no geral, sob estresse salino, as plantas inoculadas comportaram-se como as fertilizadas com N<sub>2</sub>, levando a concluir que a inoculação pode representar uma alternativa econômica e competitiva em comparação a adubação mineral para o amendoim, quando

cultivado em condições de salinidade moderada.

Ogega et al. (2012) em estudo realizado em dois locais diferentes, Koyonzo e Ligala, Quênia, objetivando avaliar a nodulação de amendoim em solos salinos da região observaram que a estirpe de *Bradyrhizobium* A6w promoveu aumentos na produção de 56% e 69 %, respectivamente.

## **2.7. Seleção de novas estirpes para uso comercial**

De maneira geral, a seleção de novas estirpes para uma determinada espécie segue basicamente quatro etapas: a primeira destina-se à avaliação e fixação de N de um elevado número de estirpes separadamente testadas, em condições controladas e estéreis, em recipientes com solução nutritiva, com a ausência de N mineral. Em seguida, as estirpes serão testadas em casa de vegetação, em vasos contendo substrato estéril, permitindo-se comprovar se o isolado de fato tem a capacidade de nodular a planta. Nesta fase também é possível obter uma avaliação prévia da capacidade de fixação de N das bactérias. Os isolados que apresentaram melhores resultados serão testados agora em vasos contendo solo para avaliar a eficiência simbiótica e o potencial de competição com as bactérias autóctones. Por último, os isolados selecionados são testados em campo, sob diferentes condições de solo e clima (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006a).

Tais estudos são necessários, pois podem ocorrer, durante o desenvolvimento de um processo de cultivo, situações em que um isolado com elevada eficiência em um determinado manejo, responda diferentemente em outra situação em que a textura e a fertilidade do solo sejam diferentes. Isso ocorre porque geralmente há forte interação entre o isolado, o genótipo e o ambiente.

Em ensaios conduzidos no campo experimental da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, Almeida et al. (2010) avaliaram a inoculação de uma nova estirpe isolada de feijão caupi, a BR 3299 (*Microvirga vignae*), além das estirpes já recomendadas pelo MAPA. Os autores concluíram que a cepa testada obteve resposta satisfatória para as variáveis analisadas, considerando-a como de alto potencial para ser recomendada como inoculante para feijão caupi, nesta região. Resultado semelhante foi alcançado por Marinho et al. (2014) em ensaios realizados em Petrolina-PE e Juazeiro-BA, com as cultivares BRS Pujante, BRS Tapaihum, BRS Carijó e BRS Acauã. As plantas

mostraram produtividade similar ao tratamento com 80 kg há<sup>-1</sup> de N quando inoculadas com as estirpes recomendadas e a BR 3299.

Ferreira et al. (2013) avaliou a eficiência simbiótica de estirpes isoladas de feijão caupi cultivado em solos de várzea do Piauí (UFPI B3-4, UFPI B3-5, UFPI B3-7, UFPI B4-3 UFPI B4-5, UFPI B4-6, UFPI B5-7A e UFPI B7-6), duas estirpe da Universidade Federal de Lavras (UFLA 3-164 e UFLA 3-154) além das estirpes recomendadas pelo MAPA para a cultura. Segundo os autores os isolados UFPI B3-4 e UFPI B5-7A se destacaram dentre os demais, sendo recomendadas para novos estudos.

Para feijão guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.], o MAPA recomenda duas estirpes para inoculação, BR 2003 (SEMIA 6156) e BR 2801 (SEMIA 6157). Dada a importância da cultura, Rufini et al. (2014) testaram sete estirpes de *Bradyrhizobium* pertencentes a UFLA, uma estirpe recomendada para soja (SEMIA 5019) e três estirpes recomendadas para feijão caupi (SEMIA 6461, SEMIA 6462 e SEMIA 6463). Foi constatado que a estirpe UFLA 03-320 foi mais eficiente, proporcionando crescimento do guandu, cv. 'Iapar 43' (Aratã), conseqüentemente, tem potencial para ser utilizada como inoculante.

Objetivando avaliar o cultivo de soja em solo ácido da zona da mata Pernambucana, Silva et al. (2002), testaram a inoculação de duas estirpes, NFB 175, de crescimento rápido e SEMIA 542, de crescimento lento, ambas selecionadas para resistência a acidez, em comparação com a inoculação comercial. As estirpes testadas mostraram eficiência em condições de pH baixo, sendo este resultado considerado promissor, visto que a inoculação pode gerar economia no uso de corretivos.

O emprego da inoculação com micro-organismos fixadores de N no Brasil ainda é muito limitada, a exceção da soja, mesmo com a existência de estirpes recomendadas para mais de 90 espécies vegetais (MAPA, 2011). Dessa forma, é crucial que o emprego dessa biotecnologia de custo baixo e não poluente seja expandida para outras leguminosas de importância na agricultura, sobretudo o amendoim. Além de difundir o uso de inoculantes em culturas que já possuem recomendação específica devem-se concentrar esforços no âmbito de selecionar novas estirpes adaptadas as diversas regiões do país, que sejam capazes de elevar a produção das culturas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Obtenção dos isolados de *Bradyrhizobium*

Os novos isolados utilizados neste estudo são do gênero *Bradyrhizobium*, cedidos pela Embrapa Semiárido, isolados a partir de plantas de amendoim: cultivar BR1 e a *Top line* LViPE-06, além de 10 linhagens oriundas de cruzamento desses dois genótipos (L. 408 - 2SV, L. 108 - 3SV, PL 46 - 2SB, PL 108 - 2SV, BR - AN - 2SV, P 59 - 2SV, P 59 - 2SB, 81 - 2SB, RUNNER 20 20 - 2SB, L 20 - 3SV), cultivados em solos coletados nos municípios de Barbalha-CE e Petrolina-PE (Tabela 1), (CUNHA et al., 20013).

**Tabela 1.** Descrição dos solos analisados para o estudo de diversidade de bactérias isoladas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.).

	<b>Solo</b>	<b>Local</b>	<b>Uso anterior</b>
1	Argissolo Vermelho-Amarelo	Petrolina, PE	Pousio após cultivo de amendoim
2	Argissolo Vermelho	Barbalha, CE	Plantio de Amendoim
3	Vertissolo	Barbalha, CE	Plantio de Amendoim
4	Argissolo Vermelho-Amarelo	Petrolina, PE	Pastagem de capim- buffel

As amostras de solo foram homogeneizadas e colocadas em vasos para o plantio dos genótipos de amendoim, em casa de vegetação. Após o plantio houve desbaste deixando apenas uma planta por vaso. As plantas foram coletadas após 40 dias de emergência para a coleta dos nódulos e posterior isolamento das bactérias. Dentre os isolados caracterizados, dois foram escolhidos para testes no presente estudo, 115-7 e 123-10 A, além da cepa de referência recomendada pelo MAPA para a cultura do amendoim, SEMIA 6144 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Características dos isolados de rizóbio isolados de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (CUNHA, 2013).

Isolado	Gênero	Crescimento	pH do meio	Origem	Instituição
115-7	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	Lento	Alcalino	Brasil	Embrapa
123-10A	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	Lento	Alcalino	Brasil	Embrapa
SEMIA 6144	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	Lento	Alcalino	Zimbabue	IAC

### 3.2. Condução do experimento em campo

O experimento foi conduzido na área experimental da UFRPE, em Recife, PE (08° 01'S; 34° 56'W), com o plantio realizado no dia 31 de outubro, em seguida a colheita, entre os dia 25 e 30 de janeiro de 2014. Dois genótipos de porte ereto foram selecionados, a cv. BR 1, desenvolvida pela Embrapa e recomendada para o semiárido nordestino (SANTOS et al., 2013) e a *top line* L7 Bege, precoce e de ciclo curto.

O solo, classificado como Vertissolo de textura franco arenosa foi destorroado, peneirado e homogeneizado, as amostras foram submetidas à análise conforme Embrapa (1997). Em seguida corrigido e adubado em função das necessidades de análise de solo (Tabela 3). A área foi corrigida com 1,5 Kg/ha de calcário dolomítico aos 30 dias antes do plantio e fertilizada com 60 kg/ha de superfosfato simples e 30 Kg/ha de cloreto de potássio no plantio.

**Tabela 3.** Resultado da análise da amostra de solo coletado da área experimental

pH	g.kg <sup>-1</sup>	Complexo Sortivo e Nutrientes				
		cmol.c.kg <sup>-1</sup>				
1:2,5	M.O	Al <sup>+3</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	P
6,6	13,8	0,0	27,4	12	1,8	52,6

Ca<sup>+2</sup>- Cálcio; Mg<sup>+2</sup>- Magnésio; K<sup>+</sup>- Potássio; Al<sup>+3</sup>- Alumínio trocável, P – Fósforo; M.O- Matéria Orgânica.

A unidade experimental foi composta por cinco linhas de três metros tomando-se as três centrais como área útil. O espaçamento foi de 0,70 x 0,20 m deixando-se duas plantas/cova. Cinco tratamentos foram estabelecidos: C- Cultivo sem fertilização nitrogenada (controle), SA- fertilização com sulfato de amônio (20 Kg de N/ha), B1- inoculação com o isolado de *Bradyrhizobium* 1 (115-7), B2- inoculação com o isolado 2 (123-10A) e B3- inoculação com SEMIA 6144 (Tabela 2).

O delineamento adotado foi em blocos ao acaso, com esquema fatorial 2 x 5, e quatro repetições. As variáveis registradas foram: início de floração (IF), maturação completa das vagens (MCV), altura das plantas (AP), número de nódulos (NN), número (NV) e peso das vagens (PV) e índice de colheita (IC). As variáveis IC, NV e AP foram tomadas, ao acaso, em 15 plantas dentro da área útil. Um detalhe da experimentação é mostrado na Figura 1.



**Figura 1.** Inoculação das sementes com os isolados de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (A), área experimental previamente fertilizada com superfosfato simples e cloreto de potássio (B), desenvolvimento dos genótipos de amendoim submetidos aos tratamentos: sulfato de amônio, isolados de *Bradyrhizobium* e controle (C).

### 3.3. Preparo dos isolados

Os isolados de *Bradyrhizobium* foram cultivados em meio líquido “*Yeast Extract Malt Agar*”, YMA (glicose 1%, ágar 2%, peptona 0,5%, malte 0,3% e extrato de levedura 0,3%) à 28 °C, sob agitação, por 7 dias até o final da fase exponencial de crescimento das bactérias (VINCENT, 1970). A seguir, o caldo bacteriano foi misturado à turfa esterilizada na concentração 1:4 (v:v), para obtenção de um inoculante com  $10^9 \text{ufc.g}^{-1}$ , para posterior inoculação das sementes.

As sementes dos genótipos foram inoculadas no dia da semeadura, na proporção de 200 g do inoculante para 10 kg de sementes, utilizando-se água com açúcar para uma melhor aderência às sementes.

### 3.4. Análise estatística

Após tabulação dos dados, foram realizadas as análises de variância utilizando-se o programa SISVAR versão 5.3 (FERRREIRA, 2009). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos utilizados a base de nitrogênio surtiram diferenças nos componentes de produção dos genótipos de amendoim. A fenologia da BR 1 e da L7 Bege não foi alterada em função dos tratamentos submetidos. O caráter de precocidade foi mantido em ambos os genótipos durante todo ciclo; o início da floração ocorreu entre 20 e 22 dias após a emergência (DAE) e a maturação completa da vagem foi verificada entre 85 e 89 DAE, em todos os tratamentos, estando esses dados em conformidade com o descrito nas cultivares do tipo Valencia, desenvolvidas pela Embrapa (SANTOS et al., 2013).

Para as demais variáveis analisadas, houve diferença estatística significativa em função do genótipo e tratamentos em que foram submetidos, com exceção da altura das plantas que não foi influenciada pelos tratamentos nitrogenados (Tabela 4).

Na Tabela 5, encontram-se as médias obtidas para altura de plantas, números de nódulos, número de vagens, peso de vagens e índice de colheita para dois genótipos de amendoim submetida a dois tipos de fertilização nitrogenada. Verificou-se que a inoculação do amendoim com os diferentes isolados de *Bradyrhizobium* promoveu benefícios na produção de nódulos e de vagens em ambas cultivares, contudo, houve resposta de seletividade (Figura 2). De forma generalizada, a linhagem L7 Bege se mostrou mais produtiva em qualquer tratamento utilizado, quer seja para produção de nódulos ou de vagens (Tabela 5).

**Tabela 4.** Síntese da análise de variância para número de nódulos, altura das plantas, número de vagens, peso de vagens/planta e índice de colheita de genótipos de amendoim submetidos a duas fontes de nitrogênio.

FV	GL	QM				
		NN	ALT	NV	PV	IC
<b>Genótipo</b>	1	127683,22*	477,48 *	318,10 *	989,03 *	262,25 *
<b>Tratamento</b>	4	5967,99 *	70,88 ns	105,45 *	154,32 *	61,83 *
<b>G x T</b>	4	5867,34 ns	46,58 ns	20,13 ns	44,48 *	14,78 ns
<b>G x T1</b>	1	60355,5ns	290,40ns	46,08*	288ns	57,13*
<b>G x T2</b>	1	21649,7ns	44,65*	129,6ns	305ns	10,65*
<b>G x T3</b>	1	1806*	292,82ns	1,71*	9,90*	58,05ns
<b>G x T4</b>	1	42588,2ns	28,88*	162,9ns	404,7ns	20,67*
<b>G x T5</b>	1	24753,1ns	7,03*	58,32*	159,3ns	174,85ns
<b>Blocos</b>	3	38307,14	160,87	24,06	58,94	43,29
<b>Resíduo</b>	27					
<b>Total</b>	39					
<b>Média</b>		289,49	60,19	22,49	26,16	30,70
<b>CV (%)</b>		16,55	9,34	19,43	14,39	10,74

\*Significativo e NS- Não Significativo a 5% de significância pelo teste F. QM- Quadrado médio, FV- Fonte de variação, GL- Graus de liberdade, AP-Altura de plantas, NN- Número de nódulos, ALT- Altura das plantas, NV- Número e vagens por planta, PV- Peso de vagens, IC-Índice de colheita, CV- coeficiente de variação, G x T - Interação Genótipo x Tratamento.



**Figura 2.** Produção de nódulos e vagens por planta: BR1 controle (A); BR1 inoculada com o Isolado 1: 115-7 (B); produção de vagens da linhagem L7 Bege (C) e detalhe do número de vagens da L7 Bege (D) inoculada com 123-10A.

**Tabela 5.** Médias para as características de altura de plantas, número de nódulos, número de vagens, peso de vagens e índice de colheita para duas cultivares de amendoim submetida a dois tipos de fertilização nitrogenada.

	AP		NN		NV		PV		IC	
	BR1	L7	BR1	L7	BR1	L7	BR1	L7	BR1	L7
<b>C</b>	67Aa	55Ba	160Bc	323Ab	17Bb	22Ab	16Bc	28Ab	24Bc	29Ab
<b>N</b>	67Aa	62Ba	254Bb	358Ab	23Ba	31Aa	25Ba	37Aa	29Bb	31Ab
<b>B1</b>	66Aa	54Ba	293Ba	333Ab	22Ba	23Ab	25Ba	27Ab	30Bb	35Aa
<b>B2</b>	62Aa	58Ba	237Bb	382Aa	21Ba	30Ab	23Ba	37Aa	32Ba	36Aa
<b>B3</b>	57Aa	55Ba	222Bb	334Ab	16Bb	21Ac	17Bc	26Ab	25Bc	35Aa
<b>M</b>	64	57	233	346	20	25	21	31	28	33

Médias seguidas na mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Letras maiúsculas comparam entre genótipos e minúsculas entre tratamentos. NN- Número de nódulos, NV- Número de vagens, PV- Peso de vagens/planta, IC- Índice de colheita, C- Controle (sem nitrogênio), N- fertilização Nitrogenada, B1- Isolado 115-7, B2- Isolado 123-10A, B3- Isolado 1436 (SEMIA 6144).

Verifica-se na tabela 6, um ganho dos genótipos de amendoim submetidos à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. Comparando-se com o tratamento controle (C), verifica-se que a associação da cultivar BR1 com o inoculante B1 e L7 Bege com B2 promoveram melhorias expressivas na produção de nódulos em ambos os genótipos, com incremento na ordem de 83% e 18%, respectivamente. Para o peso de vagens, observou-se incremento com o uso dos inoculantes. Em termos relativos, a BR 1 foi mais beneficiada pelo efeito da inoculação.

**Tabela 6.** Porcentagem de ganhos para as variáveis: número de nódulos, número de vagens/ planta, peso de vagens/planta e índice de colheita.

	BR1 (%)				L7 Bege (%)			
	N	B1	B2	B3	N	B1	B2	B3
<b>NN</b>	58,75	83,12	48,13	38,75	10,83	3,10	18,26	3,40
<b>NV</b>	35,29	29,41	23,52	-	40,90	4,54	36,36	-
<b>PV</b>	56,25	56,25	43,75	6,25	32,14	-	32,14	-
<b>IC</b>	20,83	25	33,33	4,16	6,89	20,69	24,14	20,69

NN- Número de nódulos, NV- Número de vagens, PV- Peso de vagens/planta, IC- Índice de colheita, C- Controle (sem nitrogênio), N- fertilização Nitrogenada, B1- Isolado 115-7, B2- Isolado 123-10A, B3- Isolado 1436 (SEMIA 6144).

Para o número de vagens verificou-se que a BR 1 associada ao isolado 1 e a L7 Bege com o isolado 2 apresentaram as mesmas médias do tratamento com nitrogênio. As demais associações apresentaram resultados inferiores para número de vagens (Tabela 5).

Contudo, quando se considera esses resultados, junto com o índice de colheita, que estima a habilidade da planta em particionar a produção econômica em função da matéria seca total, percebe-se que os isolados 1 (115-7) e 2 (123-10A) poderiam ser indicados para a cultivar BR1. Analisando-se, porém, o comportamento produtivo da L7 bege, percebe-se uma maior tendência de resposta para o isolado 2 (123-10A), de onde se pode inferir, baseando-se nos resultados desse trabalho, que esse isolado poderia ser adotado para ambos genótipos. A estirpe SEMIA 6144, recomendado para a cultura do amendoim não apresentou efeito significativo (Tabela 5).

O amendoim tem a habilidade de nodular com uma ampla faixa de rizóbios nativos, razão pela qual a prática da inoculação é pouco utilizada pelos agricultores (BORGES et al., 2007). Desta forma, a busca por bactérias eficientes, capazes de estabelecer simbiose com as plantas, em condições de campo torna-se fundamental para aumentar a procura dos produtores pelas técnicas de inoculação.

Estudos demonstram a variabilidade existente em bactérias nativas dos solos da região Nordeste. Lyra et al. (2013) estudaram a diversidade de rizóbios em cultivares de amendoim cultivados em solos da região da Zona da Mata Pernambucana. Foram obtidos 22 isolados oriundos de nódulos de sete cultivares de amendoim (L7 Bege, BR 1, Caipó, Jumbo, Tatu, IAC 8112 e Nativa), estes foram avaliados e classificados quanto ao tempo de crescimento, alteração do pH do meio de cultura e morfologia da colônia, comparando-os com cepas de referência. Os 22 isolados apresentaram rápido crescimento (82% de crescimento em 24 h e 18% em 48 h), com capacidade de acidificar o meio de cultura. Foram identificados os gêneros *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Mesorhizobium* sp., *Sinorhizobium* sp. e *Azorhizobium* sp. A maior diversidade de gêneros foi encontrada na cultivar BR1. Essa diversidade contradiz o estudo de Thies et al. (1991) que afirma que existe uma predominância da colonização dos nódulos de amendoim pelo gênero *Bradyrhizobium* sp., caracterizado pelo crescimento lento e capacidade de alcalinizar o meio de cultura.

Além destes gêneros, Ibañez et al. (2009) observou a presença de *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp. em amendoim, sendo considerados micro-organismos oportunistas capazes de colonizar os nódulos durante ou após o processo de

formação dos nódulos.

Os nódulos de amendoim são ocupados por estirpes altamente competitivas, não existindo predominância de um gênero específico, portanto, o grande obstáculo para a eficiência do uso de inoculantes é a incapacidade das estirpes inoculadas competirem com bactérias autóctones. Considera-se que a inoculação é bem sucedida quando a estirpe, além de proporcionar eficiência na fixação de N, tenha a capacidade de competir com rizóbios nativos e colonizar o maior número de nódulos (ANGELINI, 2011).

Segundo Bogino et al. (2008), a elevada diversidade populacional de rizóbios nativos, que competem pela infecção das raízes das plantas hospedeiras, pode causar a redução no aproveitamento da fixação e no suprimento de N para a planta, dado que os nódulos serão colonizados por isolados de eficiência variável.

Torres Júnior et al. (2013) analisaram a diversidade e eficiência simbiótica em duas cultivares de amendoim, em solos da região Sudeste. As bactérias foram isoladas de nódulos das cultivares BR1 e BRS Havana. A maior parte dos isolados obtidos mostraram hábito de crescimento rápido e capacidade de acidificar o meio de cultura. A partir de ensaios preliminares para avaliar a nodulação e eficiência, utilizando substrato estéril, dois isolados (AM 01 e AM 07) foram selecionados para testes em vasos contendo solos da região. O primeiro isolado mostrou 99,85% de similaridade com a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144, entretanto, o segundo apresentou similaridade de 99,62% com *Rhizobium tropici*. Os autores concluíram que os dois isolados selecionados aumentaram a nodulação e o teor de N na parte aérea, resultado semelhante ao obtido com a estirpe SEMIA 6144 e superior ao tratamento com fertilizante nitrogenado, para a cultivar BR1. Em relação à BRS Havana, nenhum dos isolados mostrou desempenho igual à estirpe SEMIA 6144. Por outro lado a inoculação de BRS Havana com a estirpe recomendada mostrou maior eficácia.

Vários trabalhos na literatura reportam sobre a relação de especificidade de isolados de *Bradyrhizobium* com cultivares de amendoim. Melo (2013) avaliou a eficiência da estirpe recomendada SEMIA 6144 sob as cultivares BR1, BRS Havana e a linhagem L7 Bege e constatou que dentre os genótipos avaliados, a BRS Havana foi beneficiada no número de nódulos e produção de vagens, por outro lado, foi observada uma nodulação superior para os genótipos BR1 e L7 Bege quando cultivados na ausência de N-fertilizante e inoculação (controle) indicando que as estirpes nativas do solo foram capazes de suprir a demanda de N requerida pelas plantas. Assim, estudos de prospecção de novas estirpes devem ser realizados com vistas a inoculação da cultivar

BR1 e a linhagem L7 Bege, já que BRS Havana, comprovadamente, estabelece uma associação mais eficiente com a estirpe recomendada atualmente.

Zapata et al. (2014) testaram os efeitos da inoculação de três isolados de *Bradyrhizobium* na produção do amendoim do tipo Valencia, cultivado em solos de textura média. Foram utilizadas as cepas: C-145 (INTA-Castelar, Argentina), SEMIA 6144 e um inoculante comercial a base de *Bradyrhizobium* sp., denominado de Adhere. Os autores observaram aumentos significativos no crescimento das plantas, acúmulo de massa seca e no rendimento de vagens do genótipo com os três isolados, sobretudo com o comercial que promoveu produção superior ao fertilizante químico.

O amendoim, por ser considerada uma cultura de importância socioeconômica para a região Nordeste brasileira, requer estudos de seleção de novas estirpes de rizóbios, capazes de fixar nitrogênio, com eficiência em competir com bactérias nativas, em virtude da diversidade das condições edafoclimáticas, com vistas à redução dos custos de produção e aumento da produtividade, já que atualmente apenas uma estirpe é recomendada para esta leguminosa. Estirpes com estas características representam um recurso genético considerável para elevar a contribuição da FBN para as lavouras agrícolas.

## 5. CONCLUSÕES

A resposta dos isolados estudados sobre a nodulação e produção de vagens no amendoim foi genótipo dependente, contudo, considerando-se os benefícios promovidos na produtividade de vagens, o isolado 123-10A é o mais indicado para os genótipos avaliados nesse estudo.

## REFERÊNCIAS

AMBROSANO, E.J.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G.M.B.; SCHAMMAS, E. A.; DIAS, F. L. F.; ROSSI, F.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T.; SACHS, R. C. C.; AZCÓN, R. Produtividade da cana-de-açúcar após o cultivo de leguminosas. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 810-818, 2011.

ALLEN, O.N.; ALLEN, E.K. **The leguminosae; a source book of characteristics, uses, and nodulation**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1991.

ALMEIDA, A. L. G.; ALCÂNTARA, R. M. C. M.; NÓBREGA, R. S. A.; NÓBREGA, J. C. A.; LEITE, L. F. C.; SILVA, J. A. L. Produtividade do feijão-caupi cv BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 364-369, 2010.

ANDA (Associação Nacional para difusão de Adubos) **Anuário estatístico do setor de fertilizantes**, 2010.

ANGELINI, J.; IBÁÑEZ, F.; TAURIAN, T.; TONELLI, M.L.; VALETTI, L.; FABRA, A. A study on the prevalence of bacteria that occupy nodules within single peanut plants. **Current Microbiology**, v. 62, n. 6, p. 1752-1759, 2011.

ARDLEY, J.K.; PARKER, M.A.; DE MEYER, S.E.; TRENGOVE, R.D.; O'HARA, G.W.; REEVE, W.G.; YATES, R.J.; DILWORTH, M.J.; WILLEMS, A.; HOWIESON,

J.G.; *Microvirga lupine* sp. nov. *Microvirga lotononidis* sp. nov. and *Microvirga zambiensis* sp. nov. are alphaproteobacteria root-nodule bacteria that specifically nodulate and fix nitrogen with geographically and taxonomically separate legume hosts. **International Journal of Systematic and Evolutionary and Microbiology**, v. 62, n. 11 p. 2579-2588, 2012.

BOGINO, P.; BANCHIO, E.; BONFIGLIO, C.; GIORDANO, W. Competitiveness of a Bradyrhizobium sp. strain in soils containing indigenous rhizobia. **Systematic & Applied Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 66-72, 2008.

BOLONHEZI, D.; GODOY, I. J.; SANTOS, R.C. Manejo cultural do amendoim. In: SANTOS, R. C.; FREIRE, R.M.M.; LIMA, L.M. **O Agronegócio do Amendoim no Brasil**. Embrapa Algodão, 2013, p. 81-113.

BORGES, W. L.; SILVA, C. E. de R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de acessos de amendoim com estirpes nativas de rizóbios. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 2, n. 1, p. 32-37, 2007.

BORGES, W. L. **Análise da variabilidade genética e avaliação da fixação biológica de nitrogênio entre acessos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. 2006. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.

CHEN, W.X.; YAN, G.H.; LI, J.L. Numerical taxonomic study of fastgrowing soybean rhizobian and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 38, n. 4, p. 392-397, 1988.

CLAESSEN, M. E. C.; BARRETO, W. O.; DE PAULA, J. L.; DUARTE, M. N. Manual de métodos de análise de solo, Embrapa Solos, 1997.

Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 14/15**, Sexto Levantamento – Março/2015. Brasília: Conab 2015. Disponível em < [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_02\\_13\\_10\\_34\\_06\\_boletimgraos\\_fe](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_02_13_10_34_06_boletimgraos_fe)

vereiro\_2015.pdf > . Acesso em: 05 Jan. 2015.

CUNHA, J. B. de A.; NUNES, I. A.; GAVA, C. A. T.; SANTOS, R.C.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JUNIOR, P. I.; Diversidade cultural de bactérias isoladas de nódulos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cultivados em solos do Nordeste do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, Florianópolis – SC. **Anais: ISBN 978-85-85014-71-1**. SBCS, 2013.

DAVIDSON, E. A.; DAVID, M. B.; GALLOWAY, J. N.; GOODALE, C. L.; HAEUBER, R.; HARRISON, J. A.; HOWARTH, R. W.; JAYNES, D. B.; LOWRANCE, R. R.; NOLAN, B. T.; PEEL, J. L.; PINDER, R. W.; PORTER, E.; SNYDER, C. S.; TOWNSEND, A. R.; WARD, M. H. Excess nitrogen in the U. S. environment: Trends, risks and solutions. **Issues in Ecology**, v. 9, n. 15, p. 1-16, 2012.

DELFINI, R.; BELGOFF, C.; FERNANDEZ, E.; FABRA, A.; CASTRO, S. Symbiotic nitrogen fixation and nitrate reduction in two peanut cultivars with different growth habit and branching pattern structures. **Plant Growth Regulators**, v.61, n. 2, p. 153–159, 2010.

DREYFUS, B.L.; ELMERICH, C.; DOMMERGUES, Y.R. Free-living rizobium strain able to grow on N<sub>2</sub> as the sole nitrogen source. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 711-713, 1983.

EL-AKHAL, M.R.; RINCÓN, A.; COBA DE LA PEÑA, T.; LUCAS, M.M.; EL MOURABIT, N.; BARRIJAL, S.; PUEYO, J.J. Effects of salt stress and rhizobial inoculation on growth and nitrogen fixation of three peanut cultivars. **Plant Biology**, v. 15, n. 8 , p 415-421, 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição Mineral das plantas**. Londrina: Editora Planta, 2006.

FÁVERO, A.R. ; SIMPSON, C.E; VALLS, J.F.M. ; VELLO, N.A. Study of the evolution of cultivated peanut through crossability studies among *Arachis ipaensis*, *A. duraanensis* and *A. hypogaea*. **Crop Science**, v. 46, n. 11, p. 1546-1555, 2006.

FERREIRA, L. V. M.; NÓBREGA, R. S. A.; SANTIAGO, F. E. M.; SILVA, G. C.; AGUIAR, F. L.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. Eficiência de novas bactérias nodulantes em feijão-caupi isoladas de solos do Piauí. In: Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, Florianópolis – SC. **Anais: ISBN 978-85-85014-71-1**. SBCS, 2013.

FERREIRA, D.F. SisVar<sup>®</sup> (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.3, Lavras: DEX/UFLA, 2009.

FRANCO, A. A.; DOBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Suma Phytopathologica**, v. 20, n. 1, p. 68-74, 1994.

FRANCO, A.A.; FARIA, S.M. The contribution of N<sub>2</sub> – fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 897-903, 1997.

FRANK, B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 7, n. 8, p. 332-346, 1889.

FREITAS, S.M.; MARTINS, S.S.; NOMI, A.K.; CAMPOS, A.F. Evolução do mercado brasileiro de amendoim. In: SANTOS, R.C. In: **O agronegócio do amendoim no Brasil**, Embrapa Informação Tecnológica, 2005, p. 15-28.

GODOY, I.J.; BOLONHEZI, D.; MICHELOTTO, M. D.; FINOTO, E. L.; KASAI, F. S.; FREITAS, R. S. **Instruções Agrícolas para as principais Culturas Econômicas**, IAC, 7<sup>a</sup> Edição, 2014, 452 p. (Boletim n° 200).

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; ZANOTTO, M.D.; SANTOS, R.C. Melhoramento do amendoim. In: **Melhoramento de espécies cultivadas**, UFV, 2005 p. 54-95.

GUIMARÃES, A. A.; JARAMILLO, P. M. D.; NÓBREGA, R. S. A.; FLORENTINO, L. A.; SILVA, K. B.; MOREIRA, F. M. S. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea

as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, 2012.

GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant Physiology**, v.131, n.3, p. 872-877, 2003.

HUANG, H.Q.; HE, F.R.; CHEN, Z. H. Study on the Biological Characteristic of fast-growing peanut rhizobial strains. **Journal Sichuan Agricultural University**, v. 85, n. 8, p. 188–193, 1990.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C.; MERCANTE, F.M. **A fixação biológica de nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e da soja**. Embrapa Soja, 2013, 24p. (Folheto 337).

HUNGRIA, M.; MEGÍAS, M. Uma década de ouro se aproxima para a microbiologia do solo: expectativas da pesquisa, da indústria, dos agricultores e da sociedade. In: Iberoamerican conference on beneficial plant - microorganism - environment interactions. **Anais CNPSO**, 2013, p. 510-517, CD-ROM.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasiliense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat. **Plant Soil**, v. 331, n. 4, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In.: **Nitrogen Fixation in agriculture, forestry, ecology and the environment**. Springer Netherlands v. 4, 2005, p. 25-42.

IBÁÑEZ, F.; ANGELINI, J.; TAURIAN T.; TONELLI, M.L.; FABRA, A. Endophytic occupation of peanut root nodules by opportunistic Gammaproteobacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 49-55, 2009.

JARVIS, B.D.W.; VAN BERKUM, P.; CHEN, W. X.; NOUR, S. M.; FERNANDEZ, M. P.; CLEYET-MAREL, J. C.; GILLIS, M. Transfer of *Rhizobium lotti*, *Rhizobium*

*huakuii*, *Rhizobium cicer*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshansense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 47, n. 3, p. 895-898, 1997.

JORDAN, D.C. Rhizobiacea Conn. In: **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: Williams and Wilkins, 1984, p. 234-244.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W.C. Taxonomia del genero *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, v.8, n.1/4, p. 1-186, 1994.

LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; NICK, G.; MOREIRA, F.; MOLOUBA, F.; HOSTE, B.; TORCK, U.; NEYRA, M.; COLLINS, M. D.; LINDSTRÖM, K.; DREYFUS, B. GILLIS, M. Characterization of tropical the rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. Nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, n. 2, p. 369-382, 1998.

LANIER, J.E.; JORDAN, D.L.; SPEARS, J.F., WELLS,R.; JONHNSON,D. Peanut response to inoculation and Nitrogen Fertilizer. **Agronomy Journal**, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2005.

LIN, D.X.; WANG, E.T.; TANG, H.; HAN, T.X.; HE, Y.R.; GUAN, S.H.; CHEN, W. X. *Shinella kummerowiae* sp. nov. a symbiotic bacterium isolated from root nodule of the herbal legume *Kummerowia stipulacea*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 1409-1413, 2008.

LYRA, M. C. C. P.; FREITAS, A. D. S.; SILVA, T.A.; SANTOS, C.E.R.S. Phenotypic and molecular characteristics of rhizobia isolated from nodules of peanut (*Arachis hypogaea* L.) grown in Brazilian Spodosols. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 17, p. 2147-2156, 2013.

MARCONDES, J.; FERRAUDO, A. S.; SCAQUITTO, D. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E. G. M. Efetividade na fixação biológica de nitrogênio de bactérias nativas

isoladas de plantas de amendoim. **Revista Ciência & Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 21-32, 2010.

MARINHO, R. C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; ZILLI, J. E.; XAVIER, G. R.; SANTOS, C. A. F.; AIDAR, S. T.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 9, n. 5, p. 395-402, 2014.

MARTINS, R.; VICENTE, J. R. Demandas por inovação no amendoim paulista. **Informações econômicas**, v. 40, n. 5, p. 43-51, 2010.

MARTINS, R. Amendoim: perspectivas para a safra paulista 2010/11. **Análises e Indicadores dos Agronegócios**, v. 5, n. 11, p. 1-4, 2010.

MAYNAUD, G.; WILLEMS, A.; SOUSSOU, S.; VIDAL, C.; MAURÉ, L.; MOULIN, L.; CLEYET-MAREL, J.C.; BRUNEL, B. Molecular and Phenotypic characterization of strains nodulating *Anthyllis vulneraria* in mine tailings, ad proposal *Aminobacter anthullidis* sp. nov. the first definition of *Aminobacter* as legume-nodulating bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 35, n. 2, p. 65-72, 2012.

MELO, E.B.S. **Parâmetros fisiológicos em genótipos de amendoim inoculados com *Bradyrhizobium***. Campina Grande, 2013. 42f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba/ Embrapa Algodão.

MELO FILHO, P.A.; SANTOS, R.C. A cultura do amendoim no Nordeste: Situação atual e perspectivas. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 192-208, 2010.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), **Normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura**, 2011, 19 p. (Instrução Normativa n° 13).

MOREIRA, F.M.S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosae. In: MOREIRA, F.M.S.; HUISING, E.J.; BIGNELL, D.E. (Ed.). **Manual de biologia dos solos tropicais: Amostragem e caracterização da biodiversidade**, UFLA, 2010, p. 279-312.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006 A, 729p.

MOREIRA, F. M. S.; CRUZ, L.; FARIA, M. S.; MARSH, T.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; PEDROSA, F. O.; PITARD, R. M.; YOUNG, P. W. J. *Azorhizobium doebereinae* sp. nov. Microsymbiont of *Sesbania virgata* (Caz.) Pers. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 29, n. 3, p. 197-2006, 2006 b.

MORTVEDT, J.J.; MURPHY, L.S.; FOLLETT, R.H. **Fertilizer technology and application**, 1999.

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the subclass of proteobacteria. **Nature**, v. 411, n. 6850, p. 948-950, 2001.

NETO, J. F.; COSTA, C. H. M.; CASTRO, G. S. A. Ecofisiologia do amendoim. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 1-13, 2012.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; TÁVORA, F.J.A.F.; ALBUQUERQUE, M.B.; NASCIMENTO, H.H.C.; SANTOS, R. C. Ecofisiologia do Amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: SANTOS, R. C.; FREIRE, R.M.M.; LIMA, L.M. **O Agronegócio do Amendoim no Brasil**. Embrapa Algodão, 2013, p.81-113.

NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Oportunidades e ameaças à contribuição da fixação biológica de nitrogênio em leguminosas no Brasil. In: Iberoamerican Conference on Beneficial plant - microorganism - environment interactions, 2013, Sevilla. Microorganisms for future agriculture. **Anais CNPSO**, 2013, p. 510-517, CD-ROM.

OGEGA, J.K.; OKALEBO, J.R.1; WERE, B.A.; OTINGA, A.N; ONYANGO, D. A.; OTHIENO, C. Effectiveness of Bradyrhizobia and lime on yield of groundnuts and maize under intercrop system in acids soils of western Kenya. **Anais of the RUFORUM Biennial Meeting**, 2012, p. 1807-1809.

PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F.; LADHA, J.K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production?. **Plant and Soil**, v.174, n. 1/2, p. 3-28, 1995.

RIBEIRO JÚNIOR, W.Q.; RAMOS, M.L.G. Fixação biológica de nitrogênio em espécies para adubação verde. In: CARVALHO, A.M.; AMABILE, R.F. **Cerrado: adubação verde**, Embrapa Cerrados, 369p, 2006.

RIVAS, R.; VELÁZQUEZ, E.; WILLEMS, A.; VIZCAÍNO, N.; SUBBA-RAO, N. S.; MATEOS, P. F.; GILLIS, M.; DAZZO, F. B.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans* (L.F.) Druce. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 11, p. 5217-5222, 2002.

RUFINI, M.; OLIVEIRA, D.P. TROCHMANN, A.; SOARES, B. L.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F.M.S. Estirpes de *Bradyrhizobium* em simbiose com guandu-anão em casa de vegetação e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 197-206, 2014.

RUMJANEK, N.G. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.A.; RIBEIRO, V.Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**, Embrapa, 2005, p.279-335.

SANTOS, R.C.; GODOY, J.I.; FÁVERO, A.P. Melhoramento do amendoim e cultivares comerciais. In: SANTOS, R. C. **O agronegócio do amendoim no Brasil**, Embrapa Algodão, 2013, p.115-178.

SANTOS, R. C.; REGO, G. M.; SANTOS, C. A. F.; MELO FILHO, P. A.; SILVA, A. P. G.; GONDIM, T. M. S.; SUASSUNA, T. F. **Recomendações Técnicas para o**

**Cultivo do Amendoim em Pequenas Propriedades Agrícolas do Nordeste Brasileiro**, 2006, 7 p. (Circular Técnica 102).

SANTOS, C.E.R.E.S.; STAMFORD, N.P.; FREITAS, A.D.S.F.; VIEIRA, BASTOS I. M. M. B.; SOUTO, S.M.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Efetividade de rizóbios isolados de solos da região Nordeste do Brasil na fixação do N<sub>2</sub> em amendoim (*Arachis hypogaea L.*). **Acta Science Agronomy**, v. 27, n. 2, p. 301-307, 2005.

SILVA, A. F.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P. Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1327-1333, 2002.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de variedades de cana-de-acucar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 2, p. 261-268, 2012.

SOUSA, P.M.; MOREIRA, F.M.S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. **Revista Em Extensão**, v. 10, n. 2, p. 37-54 2011.

SPIERTZ, J.H.J. Nitrogen, sustainable agriculture and food security. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 1, p. 43-55, 2010.

SY, A. Methyolotrophic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 1, p. 214-220, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TAURIAN, T., IBAÑEZ, F., FABRA, A., AGUILAR, O. Genetic diversity of rhizobia nodulating *Arachis hypogaea L.* in central argentinean soils. **Plant and Soil**, v. 282, n. 2 p. 41–52, 2006.

THIES, J.E., BOHLOOL, B.B., SINGLETON, P.W. Genetic diversity of rhizobia nodulating *Arachis hypogaea* L. in central argentinean soils. **Applied and Environmental Microbiology Microbiol**, v. 57, n. 4, p. 1540-1545, 1991.

TRUJILLO, M.E.; WILLEMS, A.; ABRIL, A.; PLANCHUELO, A. M.; RIVAS, R.; LUDEÑA, D. MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, E. Nodulation of *Lupinus albus* by strains of *Ochrobactrum lupine* sp. Nov. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 3, p. 1318-1327, 2005.

United States Departament of Agriculture (USDA). Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx> Acesso em: 24 de Maio de 2014.

VALLS, J. F. M.; SIMPSON, C. E. New Species of *Arachis* from Brazil. **Bonplandia**, v. 14, n. 2, p. 35-64, 2005.

VALVERDE, A.; VELÁZQUEZ, E.; FERNÁNDEZ-SANTOS, F.; VIZCAÍNO, N.; RIVAS, R.; MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; IGUAL, J. M.; WILLEMS, A. *Phylobacterium trifoli* sp. nodulating *Trifolium* and *Lupinus* sp. In Spanish soils. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 55, n. 5, p. 1985-1989, 2005.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R. F. **Leguminosas graníferas**, UFV, 2001.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Science Publication, 1970.

VICENTE, J. R. **Inovação: demandas na cadeia de produção do amendoim paulista**. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração E Sociologia Rural, 48, **Anais** Brasília: SOBER, 2010.

ZAPATA, N.; VARGAS, M.; GERDING, M.; CHANDÍA, M. Inoculación de maní (*Arachis hypogaea* L.) com diferentes cepas del género *Bradyrhizobium* y su efecto sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo. **Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences**, v. 30, n. 1, p. 57-64, 2014.

ZILLI, J.E. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solos do Cerrado em Caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 811-818, 2006.

ZILLI, J.E.; MARSON, L. C.; B. F. MARSON; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazônica**, v. 39, n. 4, p. 749-758, 2009.