

Universidade Federal do Piauí

**Diversidade de bactérias associadas a rizosfera de genótipos
de feijão-fava**

Regina Maria Silva Sousa

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, área de concentração em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Mestre”.

Teresina

2020

Regina Maria Silva Sousa
Licenciatura em Ciências Biológicas

Diversidade de bactérias associadas a rizosfera de genótipos de feijão-fava

Orientador:

Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, área de concentração em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Mestre”.

Teresina

2020

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

S725d Sousa, Regina Maria Silva
Diversidade de bactérias associadas a rizosfera de genótipos de
feijão-fava. / Regina Maria Silva Sousa – 2020.
58 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa
de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

1. *Phaseolus lunatus* 2. Abundância 3. Metagenômica 4. Riqueza
5. Rizomicrobiana I. Título

CDD 635.651

**Diversidade de bactérias associadas a rizosfera de genótipos de feijão-
fava**

Regina Maria Silva Sousa

Aprovada em 27/02/2020

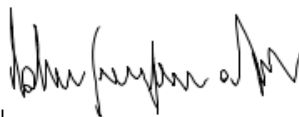
Comissão julgadora:



Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes – Universidade Federal do Piauí
Membro interno



Profa. Dra. Régia Maria Reis Gualter – Instituto Federal do Maranhão
Membro externo



Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo – Universidade Federal do Piauí
Orientador

A Deus,

Fonte inesgotável de misericórdia, amor e bondade, por proporcionar tantas bênçãos em minha vida.

Aos meus pais Maria de Deus e João Batista com imensurável amor, incentivo, apoio e compreensão me proporcionaram alcançar mais uma etapa dessa longa jornada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela formação e oportunidade em realizar este curso;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Piauí – FAPEPI pela concessão da bolsa de estudos;

Agradeço a Deus, a quem me concedeu com sua infinita bondade o dom da vida, força, coragem e perseverança para superar os momentos difíceis. Obrigada, senhor!

À minha família, meu alicerce, com todo afeto e paciência compreenderam meus momentos de ausência, mas nunca deixaram de colaborar e sempre acreditaram que tudo isto seria possível. Obrigada!

Ao meu orientador Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo e ao meu coorientador Prof. Dr. Jadson Emanuel Lopes Antunes pela confiança, ensinamentos e paciência durante o desenvolvimento e orientação deste trabalho;

A Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo da Universidade Federal de Ceará - Fortaleza pela parceria e permissão para execução das análises laboratoriais;

Ao pesquisador Dr. Lucas William Mendes do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pela disponibilidade e suas contribuições com a Estatística.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Análise de Solos (LASO) por todo o aprendizado, momentos de descontração e de boas risadas (que irei sentir muita falta) por todo apoio durante os dois últimos anos. E claro, a Dona Nilvânia pela companhia diária. Muito obrigada!

Aos meus amigos de longas datas e do mestrado pelas palavras de encorajamento, companhia, conversas de descontração e apoio durante o curso. Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Aspectos gerais de <i>Phaseolus lunatus</i>	14
2.2 Comunidade microbiana associada a rizosfera das plantas.....	16
2.3 Importância do microbioma rizosférico sob as espécies do gênero <i>Phaseolus</i>	18
REFERÊNCIAS.....	21
3 Comunidade bacteriana associada a rizosfera de genótipos de feijão-fava.....	28
Resumo.....	28
Abstract.....	29
3.1 Introdução.....	30
3.2 Material e Métodos.....	31
3.2.1 Experimento de campo.....	31
3.2.2 Amostragem de solo rizosférico e não rizosférico.....	32
3.2.3 Análises químicas e biológicas do solo.....	33
3.2.4 Extração de DNA e sequenciamento	34
3.2.5 Análise dos dados.....	35
4. Resultados	36
5. Discussão.....	42
6. Conclusão.....	46
Referências.....	48
ANEXOS.....	54

RESUMO

SOUSA, R. M. S. **Diversidade de bactérias associadas a rizosfera de genótipos de feijão-fava.** 2020, 58f. Dissertação (Mestrado/Genética e Melhoramento) - UFPI, Teresina, 2020.

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma leguminosa de grande importância para países da América do Sul, África e América Central como fonte de proteínas. No Brasil tem grande relevância, principalmente para a região Nordeste como alternativa de renda e alimento. Diversos estudos apontam que é na rizosfera o local onde as plantas assimilam mais nutrientes e em troca depositam no solo diferentes tipos de exsudatos radiculares que influenciam a biomassa microbiana, até mesmo entre genótipos da mesma espécie, contribuindo para a diversidade de microrganismos, bem como para a qualidade nutricional da planta. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a diversidade bacteriana presente na rizosfera e no solo não rizosférico de diferentes genótipos de feijão-fava. Assim, foram conduzidos ensaios de avaliação com quatro variedades crioulas de feijão-fava no município de Teresina-PI, na qual foram obtidas amostras de solo rizosférico e não rizosférico para extração de DNA e análises químicas e biológicas do solo, seguido do sequenciamento por meio da plataforma Illumina MiSeq. O sequenciamento gerou um total de três milhões de sequências que, após o processamento de qualidade foram obtidas, em média, 125.000 sequências por amostra, permanecendo, no total, apenas 74.270 sequências. A partir desta análise, verificam-se que, a rizosfera do feijão-fava foi enriquecida com a presença dos filos Proteobacteria e Actinobacteria, enquanto no solo não rizosférico o filo Firmicutes e sequências que não foram classificadas em nenhum filo bacteriano foram predominantes. Ainda, observa-se que na rizosfera de cada acesso foram encontradas bactérias das ordens *Gaiellales* e *Sphingomonadales*, sugerindo-se a formação de um grupo específico selecionado pelo *P. lunatus*, apesar de o índice que mede a riqueza de espécies não ter sido estatisticamente significativo neste estudo. Analisando a relação das variáveis ambientais do solo com os genótipos, observa-se que houve uma clara distinção entre os acessos, sendo os valores de carbono, nitrogênio e cálcio os principais fatores determinantes da estrutura das comunidades microbianas do feijão-fava. Desse modo, os resultados indicam que o feijão-fava selecionou uma comunidade bacteriana específica para colonizar as rizosferas com base nos diferentes exsudatos radiculares eliminados por cada genótipo, sendo os acessos UFPI-944 (Boca de Moça) e UFPI-1241 (Raio de Sol) os que mais contribuíram para a estrutura e diversidade de bactérias no solo rizosférico.

Palavras-chave: abundância, metagenômica, *Phaseolus lunatus*, riqueza, rizomicrobioma

ABSTRACT

SOUSA, R. M. S. **Diversity of bacteria associated with the rhizosphere of genotypes of lima beans.** 2020, 58f. Dissertation (Master /Genetics and Breeding) – UFPI, Teresina, 2020.

The lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is a legume of great importance for countries in South America, Africa and Central America as a source of proteins. In Brazil it has great relevance, mainly for the Northeast region as an alternative of income and food. Several studies indicate that the rhizosphere is the place where plants assimilate more nutrients and in turn deposit different types of root exudates in the soil that influence microbial biomass, even among genotypes of the same species, contributing to the diversity of microorganisms, as well as to the nutritional quality of the plant. Thus, the work aims to evaluate the bacterial diversity present in the rhizosphere and in the bulk soil of different genotypes of lima bean. Evaluation tests were carried out with four native varieties of lima beans in the city of Teresina-PI, in which samples of rhizosphere and bulk soil were obtained for DNA extraction and chemical and biological analysis of the soil, followed by sequencing using the platform Illumina MiSeq. The sequencing generated a total of three million sequences which, after quality processing, obtained an average of 125,000 sequences per sample, with a total of only 74,270 sequences remaining. From this analysis, it appears that the rhizosphere of the lima bean was enriched with the presence of the phylum Proteobacteria and Actinobacteria, while in the bulk soil the phylum Firmicutes and sequences that were not classified in any bacterial phylum were predominant, however, it is observed that in rhizosphere of each accession, bacteria of the orders Gaiellales and Sphingomonadales were found, suggesting the formation of a specific group selected by *P. lunatus*, although the index that measures the species richness was not statistically significant in this study. Analyzing the relationship of the environmental variables of the soil with the genotypes, it is observed that there was a clear distinction between the accessions, with the values of carbon, nitrogen and calcium being the main determining factors of the structure of the microbial communities of the lima bean. Thus, the results indicate that lima beans selected a specific bacterial community to colonize rhizospheres based on the different root exudates eliminated by each genotype, with accessions UFPI-944 (Boca de Moça) and UFPI-1241 (Raio de Sol) those that most contributed to the structure and diversity of bacteria in the rhizospheric soil.

Key words: abundance, metagenomics, *Phaseolus lunatus*, richness, rhizomicrobiom

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Abundância relativa dos filios bacterianos do solo rizosférico (branco) e não rizosférico (cinza) de *Phaseolus lunatus* baseado no gene 16S rRNA para cada genótipo. Bulk: solo não rizosférico; rhizosphere: rizosfera. G1 (UFPI-1244); G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990); G4 (UFPI-1241) 37
- Figura 2:** Análise de redundância (RDA) para correlacionar as propriedades do solo com os genótipos. CBM: carbono microbiano da biomassa; NBM: nitrogênio microbiano da biomassa; COT: carbono orgânico total; NT: nitrogênio total; qMic: quociente microbiano; qResp: quociente metabólico; RESP: respiração basal do solo; H + Al: hidrogênio e alumínio; Na: sódio; K: potássio; P: fósforo; Ca: cálcio. G1 (UFPI-1244); G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990); G4 (UFPI-1241) 38
- Figura 3:** Diversidade mensurada com base na análise do gene 16S rRNA do solo rizosférico de *Phaseolus lunatus*. Riqueza com base no número de observações de UTOs (A) e diversidade (B) baseada no Índice de Shannon. As barras de erro representam o desvio padrão das três replicatas independentes. G1 (UFPI-1244), G2 (UFPI-944), G3 (UFPI-990), G4 (UFPI-1241) 39
- Figura 4:** Diagrama de Venn mostrando a porcentagem de UTOs exclusivas e compartilhadas de cada genótipo no solo rizosférico e não rizosférico (A) e a relação entre as rizosferas dos genótipos de *P. lunatus* (B). G1 (UFPI-1244), G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990), G4 (UFPI-1241). Bulk: solo não rizosférico; rhizosphere: rizosfera 40
- Figura 5:** Distribuição dos grupos bacterianos mais diferenciados baseados em dados do gene 16S rRNA em amostras de solo rizosférico e não rizosférico dos acessos G1 (UFPI-1244); G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990); G4 (UFPI-1241) de feijão-fava 55
- Figura 6:** Coeficiente de correlação Spearman's para correlacionar as variáveis ambientais com os filios bacterianos. TN: nitrogênio total do solo; H + Al: hidrogênio e alumínio; Na: sódio; Resp.: respiração basal do solo; K: potássio; P: potássio; Ca: cálcio..... 41
- Figura suplementar:** Abundância relativa dos táxons bacterianos encontrados no solo rizosférico e não rizosférico de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) baseados no gene 16S rRNA. Rhiz. = solo rizosférico; bulk = solo não rizosférico; G1- genótipo 1 (UFPI-1244); G2- genótipo 2 (UFPI-944); G3- genótipo 3 (UFPI-990); G4- genótipo 4 (UFPI-1241) 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variedades crioulas de feijão-fava do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí - BAG / UFPI utilizados para análises biológicas e químicas do solo rizosférico, Teresina-PI, 201832

Tabela 2: Teste de comparação de médias das propriedades químicas e biológicas do solo rizosférico e não rizosférico de feijão-fava 34

Tabela 3: Lista de UTO's significativamente abundantes em um genótipo específico da rizosfera em comparação com os demais genótipos. Os valores de *P* foram calculados com base no teste t de Welch's, corrigido usando Benjamini-Hochberg FDR 56

1. INTRODUÇÃO

Phaseolus lunatus L., conhecido popularmente como feijão-fava, apresenta importância para a agricultura familiar, pois serve como fonte de alimento em virtude do valor nutricional, tornando-a a segunda leguminosa de maior importância do gênero *Phaseolus* (SANTOS et al., 2009). A espécie também apresenta grande capacidade de adaptação em distintas condições climáticas (VAZ PATTO et al., 2015), sendo fonte de alimento para animais e podendo ser utilizada na forma de adubo verde (PEGADO et al., 2008).

Mesmo com grande potencial adaptativo, o cultivo desta leguminosa é limitado devido ao pouco conhecimento sobre suas características agrônômicas (SANTOS et al., 2002) e da ausência de cultivares recomendadas para regiões produtoras. Além disso, a comunidade microbiana associada a rizosfera do feijão-fava, onde se fosse conhecida, poderia contribuir na otimização do crescimento vegetal e aumentar a produtividade (PHILIPPOT et al., 2013; BAKKER et al., 2015; QIAO et al., 2017).

Dentre esses grupos de microrganismos, as bactérias exercem papel importante na nutrição e crescimento das leguminosas, pois conferem proteção contra patógenos e diferem de acordo com as diferentes espécies vegetais (EISENHAUER et al., 2017), tais como genótipos de plantas da mesma espécie (PÉREZ-JARAMILLO et al., 2016) e estágio de desenvolvimento (CHAPARRO et al., 2014).

Neste sentido, torna-se importante estudar a dinâmica da comunidade bacteriana sob a influência de genótipos de plantas da mesma espécie, tendo em vista que, o emprego de métodos moleculares independentes de cultivo na identificação desses grupos microbianos tem sido bastante empregados (RAJEMDHAN; GUNASEKARAN, 2011; MENDES et al., 2018a). Os estudos realizados até o momento têm revelado o comportamento da biota na rizosfera de diferentes genótipos de milho (BAKKER et al., 2015), feijão-caupi (SOUZA et al., 2018), feijão comum (MENDES et al., 2018a-b; PÉREZ-JARAMILLO et al., 2017) e algodão (QIAO et al., 2017). Por outro lado, não existe informação sobre a biocenose bacteriana sob a influência de diferentes genótipos de feijão-fava.

Dessa forma, as hipóteses deste estudo são: (i) a diversidade da comunidade bacteriana da rizosfera é influenciada pelo genótipo de feijão-fava e (ii) as propriedades químicas e biológicas do solo influenciam a dinâmica

dessas comunidades na rizosfera. Assim, o presente estudo tem como objetivo geral avaliar a estrutura e a diversidade de comunidades bacterianas do solo rizosférico e não rizosférico em diferentes genótipos de feijão-fava, assim como, analisar a abundância, distribuição da comunidade de bactérias do solo rizosférico e não rizosférico, relacionando com as propriedades do solo e os genótipos de feijão fava.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos gerais de *Phaseolus lunatus*

O *Phaseolus lunatus* é a segunda espécie mais cultivada e de grande relevância socioeconômica do gênero a nível mundial (ORMEÑO-ORRILLO et al., 2015; CAMACHO-PÉREZ et al., 2017), sendo constituída por duas variedades botânicas, o *P. lunatus* var. *silvestre* Baudet e *P. lunatus* var. *lunatus* (BAUDET, 1977).

Estudos revelam que o feijão-fava é originário do Peru (MOTTA-ALDANA et al., 2010) tendo surgido há aproximadamente um milhão de anos (DELGADO-SALINAS et al., 2006) e que foi domesticado na Mesoamérica e nos Andes há cerca de 10.000 mil anos (GUTIÉRREZ-SALGADO, GEPTS, DEBOUCK, 1995; KAPLAN, LYNCH, 1999), sendo o México o centro de domesticação (MOTTA-ALDANA et al., 2010; LOPEZ-LOPEZ et al., 2013; MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2014) e a região Maia o centro de diversidade mais importante da espécie (ANDUEZA-NOH et al., 2013).

Através de dados morfológicos, bioquímicos e moleculares das sementes (GUTIÉRREZ-SALGADO, GEPTS, DEBOUCK, 1995) foram identificadas a formação de dois grupos de domesticação para o feijão-fava: um grupo composto por sementes pequenas arredondadas e outro por sementes grandes de formato lunar, provenientes dos conjuntos genéticos Mesoamericano e Andino, respectivamente (SERRANO-SERRANO et al., 2010).

Por ser uma cultura de alta diversidade genética, pode apresentar um elevado potencial de produção e adaptação em distintas condições edafoclimáticas, fazendo com que seja considerada uma espécie tolerante à seca, ao excesso de umidade, calor e a altas temperaturas, incluindo climas úmidos, subúmidos de altitudes baixas e de zonas temperadas quentes (VIEIRA, 1992; BITOCHI et al., 2017; FOFANA et al., 2017), o que justifica a capacidade desta leguminosa de desenvolver-se em ambientes onde predomina o período de seca (NETO et al., 2015).

Além disso, caracteriza-se por apresentar ciclo de vida anual curto ou perene, podendo ter hábito de crescimento determinado (anão) ou indeterminado trepador, sendo predominantemente uma planta autógama do tipo herbácea (SANTOS et al., 2002; BEYRA, ARTILES, 2004; PENHA et al., 2017) podendo apresentar uma taxa de cruzamento natural próxima de 38%

(PENHA et al., 2017), e ainda ser favorecida pelo ótimo desenvolvimento em solos areno-argilosos com pH entre 5,6 a 6,8 (VIEIRA, 1992). Tais aspectos justificam a exploração comercial desta leguminosa, principalmente no Nordeste do Brasil, região propícia para o cultivo da espécie.

Apesar disso, o cultivo em regime de sequeiro e a pouca utilização de recursos tecnológicos para incrementar a produção em grande escala, torna o feijão-fava uma cultura de baixa produtividade (OLIVEIRA et al., 2014), já que a maior parcela desta produção é proveniente de pequenos produtores como cultivo de subsistência (SANTOS, 2002) e das oscilações nos padrões pluviométricos que podem comprometer o seu desenvolvimento, em razão do déficit hídrico, resultando no aumento do número de abortamentos florais e de vagens (OLIVEIRA et al., 2014).

Segundo o IBGE (2018), em 2017, foram produzidos no Brasil 21.004,272 toneladas de grãos secos do feijão-fava, sendo os maiores produtores, em ordem decrescente, Ceará, Pernambuco, Paraíba, Maranhão, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe, Alagoas e Bahia, que em conjunto, tornam a região Nordeste a maior produtora do país, com 89% de toneladas de grãos.

O feijão-fava tem mostrado ser uma cultura importante para pequenos produtores da agricultura familiar, que cultivam, principalmente, variedades crioulas de crescimento indeterminado associado ao milho que atua como tutor (DO CARMO et al., 2015). Apesar do pouco conhecimento agrônomo sobre a espécie, essas populações cultivam uma leguminosa que realiza simbiose com microrganismos denominados de rizóbios, responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio, que contribuem diretamente na produção que auxilia o sustento familiar.

Apesar da importância socioeconômica, o cultivo desta leguminosa ainda é limitado devido à ausência de cultivares recomendadas para regiões produtoras, bem como do grande consumo do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (GUIMARÃES et al., 2007) e do feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Waup) que, associado à falta de conhecimento a respeito de suas características agrônomicas, resultado da pouca atenção por parte dos órgãos governamentais (SANTOS et al., 2002).

Assim, uma das maneiras de maximizar a produtividade do feijão-fava seria por meio do entendimento das relações com a microbiota edáfica, visto que, estudos revelam que as associações com as comunidades microbianas do solo refletem diretamente na produtividade e na qualidade das plantas (TKACZ et al., 2015; GUO et al., 2018) economicamente importantes como o feijão-fava.

2.2. Comunidade microbiana associada a rizosfera das plantas

O solo é considerado um ecossistema dinâmico e complexo. Para compreendê-lo é necessário buscar alternativas que visem sua sustentabilidade, desse modo, os microrganismos devem ser levados em consideração. Estima-se que, a cada 1 g de solo existam 1 trilhão de microrganismos com mais de 10 mil genomas diferentes (TORSVIK, OVREAS, 2002), o que representa a maior biodiversidade do planeta.

Com toda essa biomassa microbiana fica fácil reconhecer as inúmeras funções no solo, tais como a degradação de compostos orgânicos, fixação de nitrogênio, absorção de nutrientes, ciclagem de nutrientes, solubilização de fósforo (PHILLIPORT et al., 2013; CIADAMIDARO et al., 2014; MASCIANDARO et al., 2014; LIU et al., 2018).

Esses processos estão intensamente relacionados e reforçam a especificidade planta-microrganismo através da liberação de exsudatos radiculares, capazes de atrair microrganismos para a rizosfera e conseqüentemente, modular esse microbioma (HAICHAH et al., 2016; THIJSS et al., 2016). A rizosfera é um dos quatro *hotspots* mais importantes do solo (KUZZYAKOV, BLAGODATSKAYA, 2015), pois caracteriza-se pela intensa atividade microbiana, trocas genéticas e diversidade de microrganismos (BULGARELLI et al., 2012; TURNER et al., 2013), tais como bactérias, fungos, protozoários, arqueas, dentre outros (SOHRABI et al., 2017).

A comunidade microbiana rizosférica é influenciada pela quantidade e a qualidade de rizodepósitos que podem ser diferentes de acordo com a espécie, genótipo e estágio fenológico das plantas (JONES, 1998; CHAPARRO et al., 2014; CHENG et al., 2014; LEBEIS et al., 2015). Isso foi comprovado em um estudo com microbioma rizosférico de *Arabidopsis thaliana*, onde foi observada durante as fases iniciais de desenvolvimento a maior produção de açúcares, mas nas fases finais, as plantas produziram mais aminoácidos e compostos fenólicos,

com o intuito de atrair o máximo de microrganismos e depois selecionar microrganismos específicos para compor a rizosfera (CHAPARRO et al., 2014)

Da mesma forma, já foi observado que o genótipo de cultivares de potencial alimentício e econômico determinaram de forma significativa a estrutura e a atividade dos microrganismos, direcionando-os para o solo rizosférico (AIRA et al., 2010; MENDES et al., 2018a) e que diferentes espécies de plantas (SOUSA et al., 2019) e diferentes genótipos de uma mesma espécie podem afetar a constituição da comunidade microbiana (PÉREZ-JARAMILLO et al., 2016) em virtude da dependência destes microrganismos a planta hospedeira (BERG, SMALLA, 2009).

Como as plantas e os microrganismos vivem uma relação mutualística, estes passam, a secretar substâncias que estimulam o crescimento do vegetal (CHENG et al., 2014) como o AIA (ácido indol acético), que é produzido por microrganismos promotores de crescimento de plantas da rizosfera (TSAVKELOVA et al., 2007) e a fixação biológica de nitrogênio realizada por microrganismos conhecidos como rizóbios que são atraídos pelos flavonoides (HAICHAR et al. 2016).

Além do nitrogênio (N), o carbono (C) também está fortemente relacionado com o rizomicrobioma (ZANG et al., 2015; JACOBY et al., 2017; GARCIA-GONZALO et al., 2017), pois é um produto da fotossíntese liberado no solo que chega na rizosfera através da exsudação radicular para ser assimilado pela comunidade microbiana (DAM, BOUWMEESTER, 2016; MARSCHNER et al., 2017) e juntamente com os demais rizodépósitos moldar a estrutura dessas comunidades devido às variações genéticas existentes (HANEY et al., 2015).

Essas variações também recebem contribuição significativa da influência das propriedades químicas e biológicas do solo sensíveis a sazonalidade (LAUBER et al., 2013), existindo uma relação da composição destas comunidades com o pH, carbono orgânico, relação entre N/P e C/N (QU et al., 2016), impulsionando mudanças na diversidade microbiana.

A diversidade bacteriana está sendo cada vez mais estudada, sendo as Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Plantomycetes (QIAO et al., 2017; MENDES et al., 2018a; ARAÚJO et al., 2019) os filos mais encontrados na rizosfera. Apesar de essa diversidade ser, em sua maioria, constituída por microrganismos benéficos, a rizosfera pode abrigar

patógenos e afetar o desenvolvimento das plantas (RAAIJMAKERS et al., 2009) e em resposta, o próprio mecanismo de defesa da planta sinaliza para a liberação de metabólitos que inibe a ação dos fitopatógenos (MENDES et al., 2013).

Sendo o microbioma um dos principais determinantes da produtividade e qualidade das plantas, ainda são incipientes os estudos para compreender o mecanismo de seleção e a montagem dos microbiomas rizosféricos na maioria das culturas com potencial econômico e alimentício. Desse modo, as leguminosas dispõem de excelentes sistemas experimentais para investigações das relações sobre o microbioma da rizosfera (ZGADZAJ et al., 2016), apresentando metabólitos secundários essenciais nessas interações (HAICHAR et al., 2016) para obter informações valiosas a serem utilizadas futuramente na agricultura (ANDREOTE, SILVA, 2017).

O crescimento populacional tem exigido uma alta produção agrícola para atender as necessidades alimentares. E como as plantas são fontes primárias de produção, aquelas com grande potencial alimentício tornaram-se alvo de programas de melhoramento genético para tornarem-se mais resistentes a pragas, doenças, diferentes condições edafoclimáticas, dentre outros.

Ao longo dos anos, os programas de melhoramento de plantas preocuparam-se efetivamente com o crescimento e a qualidade nutricional das espécies exigidas por sistemas agrícolas altamente produtivos para atender o atual crescimento populacional, no qual até o presente momento, esses estudos não consideraram os benefícios decorrentes do microbioma vegetal (MENDES et al., 2018a), principalmente em culturas importantes para a alimentação humana.

2.3 Importância do microbioma rizosférico sob as espécies do gênero *Phaseolus*

O território brasileiro é atualmente o maior produtor e consumidor de feijão do gênero *Phaseolus* a nível mundial, com 3,2 milhões de toneladas (em grãos) e área plantada de 2.767.609 ha, somente em janeiro de 2020, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), uma leguminosa importante na alimentação básica e de grande potencial econômico.

O gênero *Phaseolus* é originário das Américas com 76 espécies que podem ser encontradas em regiões tropicais, subtropicais e de zona temperada (GAITAN-SÓLIS et al., 2002; SMÝKAL et al., 2015), mas apenas cinco foram domesticadas: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus lunatus* L., *Phaseolus coccineus* L., *Phaseolus acutifolius* A. Gray, *Phaseolus polyanthus* Greenman (SANTOS et al., 2009).

As plantas desse gênero são conhecidas como excelentes modelos experimentais por apresentarem diferenças genotípicas importantes para a utilização em programas de melhoramento genético, contribuindo com o aumento da produção desta leguminosa para atender a demanda da população.

Vários estudos com espécies do gênero *Phaseolus* vêm sendo realizados, onde a concentração de tais estudos dá-se na espécie *Phaseolus vulgaris* (feijão-comum), embora sejam limitadas as informações acerca das contribuições que as comunidades microbianas exercem sobre o desenvolvimento das plantas, principalmente informações sobre o microbioma rizosférico desse gênero.

As plantas criam um ambiente rizosférico altamente funcional através da rizodeposição que podem atuar reprimindo ou estimulando a abundância de microrganismos específicos que anteriormente habitavam o solo não rizosférico (JONES et al., 2009; MENDES et al., 2013; BULGARELLI et al., 2015; QIAO et al., 2017). Em contrapartida, os microrganismos rizosféricos contribuem para a realização de várias atividades para a planta, tais como absorção de nutrientes, maior tolerância ao estresse abiótico e proteção contra patógenos (MENDES et al., 2014; MEENA et al., 2017).

Tendo em vista que, a comunidade microbiana rizosférica é afetada pelas plantas, estas também são influenciadas pelo metabolismo microbiano, por exemplo, a utilização de hormônios vegetais como ácido indol acético (AIA), etileno e giberelinas (LYNCH, 1995) fornecidos por bactérias que também colonizam a rizosfera, contribuindo para a qualidade das plantas, o que fortalece a relação mutualística das plantas-microrganismos, de acordo com a necessidade de ambos (CHENG et al., 2014).

A interação clássica das plantas do gênero *Phaseolus* com microrganismos do solo é através da simbiose com bactérias conhecidas como rizóbios, uma vez que, as plantas tendem a requerer mais nitrogênio durante o

crescimento e como essa interação acontece em condições restritivas deste nutriente, a planta elimina na rizosfera compostos fenólicos (flavonas e flavonoides) que sinalizam para esses microrganismos realizarem a fixação de nitrogênio, formando estruturas denominadas de nódulos ao final do processo. Nesta área onde são estudadas a eficiência da fixação biológica e o processo de nodulação, o *Phaseolus lunatus* é a espécie do gênero com maior enfoque (ARAÚJO et al., 2017a; COSTA NETO et al., 2017; ROCHA et al., 2019; AMORIM et al., 2019)

Em outras situações tais como a utilização do melhoramento genético de plantas como base para a resistência do *Phaseolus vulgaris* (feijão comum) ao *Fusarium oxysporum* (Fox), verifica-se a influência que o melhoramento para resistência exerce sob a composição do rizomicrobioma da espécie (MENDES et al., 2018b) que, apesar da resistência ser uma característica genética da planta, essa abordagem pode ter modificado inesperadamente a constituição do rizomicrobioma (MENDES et al., 2018a), selecionando microrganismos específicos e benéficos que podem ter incrementado a proteção de resistência a doença (MENDES et al., 2018b).

Em um estudo comparando o microbioma rizosférico de acessos silvestres e domesticados foi observada uma distinção na composição da comunidade bacteriana de *P. vulgaris* (PERÉZ-JARAMILLO et al., 2017), onde foi encontrada abundância dos filos Bacteroidetes e Verrucomicrobia no solo rizosférico nas plantas de feijão comum selvagem, ao mesmo tempo que, na rizosfera dos genótipos domesticados predominaram os filos Actinobacteria e Proteobacteria, sugerindo que, a base genética dessas plantas é importante para a composição do rizomicrobioma.

A moldagem do microbioma da rizosfera é um fator importante para o melhor desenvolvimento da planta e quanto mais abordagens são realizadas, mais informações acerca da rizosfera serão obtidas e o tipo de solo é mais uma delas. Verificando-se a mudança do ambiente nativo para o agrícola em solos de feijão comum, observou-se um aumento na diversidade de espécies que habitam a rizosfera (PÉREZ-JARAMILLO et al., 2019).

REFERÊNCIAS

- AIRA, M. *et al.* Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 2276-2281, 2010.
- ANDREOTE, F. D.; SILVA, M. C. P. Microbial communities associated with plants: learning from nature to apply it in agriculture. **Current Opinion in Microbiology**, v. 37, p. 29-34, 2017.
- ANDRUEZA-NOH, R. H. *et al.* Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.60, p.1069-1086, 2013.
- AMORIM, M. R. *et al.* Caracterização de rizóbios noduladores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em solos de três estados do nordeste brasileiro. **Colloquim Agrariae**, v. 15, n. 6, p. 11-20, 2019.
- ARAÚJO, A. S. F. *et al.* Nodulation ability in different genotypes of *Phaseolus lunatus* by rhizobia from California agricultural soils. **Symbiosis**, v. 73, p. 7-14, 2017a.
- ARAÚJO, A.S.F. *et al.* Distinct bacterial communities across a gradient of vegetation from a preserved Brazilian Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.110, p. 457-469, 2017b.
- ARAÚJO, A. S. F. *et al.* Bacterial community associated with rhizosphere of maize and cowpea in a subsequent cultivation. **Applied Soil Ecology**, v.143, p. 24-34, 2019.
- BAKKER, M. G. *et al.* Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays*. **Plant Soil**, v. 392, p. 115-126, 2015.
- BAUDET, J. C. The taxonomic status of the cultivated types of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Tropical Grain Legume Bulletin**, v. 7, p. 29-30, 1977.
- BERG, G.; SMALLA, K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, p. 1-13, 2009.
- BEYRA, A.; ARTILES, G. R. Revisión taxonômica de los gêneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae – Papilionoideae) en Cuba. **Anales Del Jardín Botánico de Madrid**, v.61, n.2, p.135-154, 2004.
- BISHT S. *et al.* Bioremediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) using rhizosphere technology. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 7-21, 2015.

BITOCCHI, E. *et al.* Beans (*Phaseolus* spp.) as a model for understanding crop evolution. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 722, p. 1-21, 2017.

BULGARELLI, D. *et al.* Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root inhabiting bacterial microbiota. **Nature**, v. 488, p. 91-95, 2012.

BULGARELLI, D. *et al.* Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. **Cell Host Microbe**, v. 17, p. 392-403, 2015.

CAMACHO-PÉREZ, L. *et al.* Genetic structure of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces grown in the Mayan area. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 65, p. 229-241, 2017.

CHAPARRO, J. M. *et al.* Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. **The ISME Journal**, v. 8, p. 790-803, 2014.

CHENG, W. *et al.* Synthesis and modeling perspectives of rhizosphere priming. **New Phytologist**, v. 201, p. 31-44, 2014.

CIADAMIDARO L. *et al.* Soil chemical and biochemical properties under *Populus alba* growing: three years study in trace element contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 73, p. 26-33, 2014.

COSTA NETO, V. P. C. *et al.* Symbiotic performance, nitrogen flux and growth of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) varieties inoculated with different indigenous strains of rhizobia. **Symbiosis**, v. 73, p. 117-124, 2017.

DAM, N. M. V.; BOUWMEESTER, H. J. Metabolomics in the rhizosphere: Tapping into belowground chemical communication. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 256-265, 2016.

DELGADO-SALINAS, A.; R. BIBLER, Y M. LAVIN. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. **Systematic Botany**, v. 31, p. 779-791. 2006.

DO CARMO, M. D. S. *et al.* Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathology**, v. 41, n. 4, p. 292-297, 2015.

EISENHAUER, N. *et al.* Root biomass and exudates link plant diversity with soil bacterial and fungal biomass. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-8, 2017.

FOFANA, B. *et al.* Genetic diversity in lima (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. *In*: ARAÚJO, A. S. F. *et al.* Nodulation ability in different genotypes of *Phaseolus lunatus* by rhizobia from California agricultural soils. **Symbiosis**, v. 73, p. 7-14, 2017.

GAITÁN-SOLÍS, E. *et al.* Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* spp. **Crop Science**, v. 42, n. 6, p. 2128-2136, 2002.

GARCIA-GONZALO, P. *et al.* Different genotypes of *Silene vulgaris* (Moench) Garcke grown on chromium-contaminated soils influence root organic acid composition and rhizosphere bacterial communities. **Environmental Science Pollut Research**, v. 24, p. 25713-25724, 2017.

GUIMARÃES, W. N. R. *et al.* 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.

GUO, Q. *et al.* Plant-plant interactions and N fertilization shape soil bacterial and fungal communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 128, p. 127-138, 2018.

GUTIÉRREZ-SALGADO, A.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. "Evidence for two gene pools of the Lima beans, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas". **Genetic Resources Crop Evolution**, v. 42, p. 15-28, 1995.

HAICHAR, F. E. *et al.* Stable isotope probing of carbon flow in the plant holobiont. **Current Opinion Biotechnology**, v. 41, p. 9-13, 2016.

HANEY, C. H. *et al.* Associations with rhizosphere bacteria can confer an adaptive advantage to plants. **Nature Plants**, v. 1, p. 1-9, 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de dados agregados**: pesquisa: produção agrícola. Piau, 2018. Disponível em: <<https://ibge.gov.br/>> Acesso em 15 de novembro de 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas: levantamento sistemático da produção agrícola**. Brasil, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em 01 de fevereiro de 2020.

JACOBY, R. *et al.* The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. **Front Plant Science**, v. 8, p. 1-19, 2017.

JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere-a critical review. **Plant Soil**, v. 205, p. 25-44, 1998.

JONES, D. L. *et al.* Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. **Plant Soil**, v. 321, p. 5-33, 2009.

KAPLAN, L.; LYNCH, T. F. "*Phaseolus* (Fabaceae) in archaeology: AMS radiocarbon dates and their significance for pre-colombian agriculture". **Economic Botany**, v. 53, p. 261-272, 1999.

KUZYAKOV, Y.; BLAGODATSKAYA, E. Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 83, p. 184-199, 2015.

LAKSHMANAN, V. *et al.* Functional soil microbiome: below ground solutions to an above ground problem. **Plant Physiology**, v. 166, p. 689-700, 2014.

- LAUBER, C. L. *et al.* Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. **The ISME Journal**, v. 7, n. 8, p. 1641-1650, 2013.
- LEBEIS, S. L. *et al.* Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. **Science**, v. 349, p. 860-864, 2015.
- LIU, C. *et al.* Physicochemical characteristics of stored cattle manure affect methane emissions by inducing divergence of methanogens that have different interactions with bacteria. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 253, p. 38-47, 2018.
- LÓPEZ-LÓPEZ, A. *et al.* Native bradyrhizobia from Los Tuxtlas in Mexico are symbionts of *Phaseolus lunatus* (Lima bean). **Systematic and Applied Microbiology**, v. 36, p. 33-38, 2013.
- LYNCH, J. M.; BEEBE, S. E. Adaptation of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to low phosphorus availability. **HortScience**, v.30, p.1165-1171, 1995.
- MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. In: QIAO, Q. *et al.* The variation in the rhizosphere microbiome of cotton with soil type, genotype and developmental stage. **Scientific Reports**, v. 7, n. 3940, p. 1-10, 2017.
- MARTÍNEZ-CASTILLO, J. *et al.* Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 5, p. 851-864. 2014.
- MASCIANDARO, G. *et al.* Phytoremediation of dredged marine sediment: monitoring of chemical and biochemical processes contributing to sediment reclamation. **Journal Environmental Management**, v. 134, p. 166-174, 2014.
- MEENA, K. K. *et al.* Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. **Frontier Plant Science**, v. 8, n. 172, p. 1-25, 2017.
- MENDES, R. *et al.* Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, v. 332, p. 1097-1100, 2011.
- MENDES, R. *et al.* The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, p. 634-663, 2013.
- MENDES, L. W. *et al.* Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. **The ISME Journal**, v. 8, p. 1577-1587, 2014.
- MENDES, L. W. *et al.* Influence of resistance breeding in common bean on rhizosphere microbiome composition and function. **The ISME Journal**, v. 12, p. 1-13, 2018a.
- MENDES, L.W. *et al.* Breeding for soil-borne pathogen resistance impacts active rhizosphere microbiome of common bean. **The ISME Journal**, v. 12, p. 3038-3042, 2018b.

- MOTTA-ALDANA, J. R. *et al.* Multiple origins of Lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. **Crop Science**, v. 50, p. 1773–1787, 2010.
- NETO, M. B. *et al.* Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 9, n. 3, p. 23-27, 2015.
- OLIVEIRA, A. E. S. *et al.* Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. **Holos**, v. 1, p. 143-151, 2014.
- ORMENO-ORRILLO, E. *et al.* Taxonomy of rhizobia and agrobacteria from the Rhizobiaceae family in light of genomics. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 38, p. 287–291, 2015.
- PEGADO, C. M. A.; BARBOSA, L. J. N.; MORAIS, J. E. Decomposição superficial de folhas de fava (*Phaseolus lunatus* L.) na região do Brejo da Paraíba, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, p. 2018-223, 2008.
- PENHA, J.S. *et al.* Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 64, p. 1355-1364, 2017.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E. *et al.* Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, p. 635-644, 2016.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E. *et al.* Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. **The ISME Journal**, v. 11, p. 2244-2257, 2017.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E. *et al.* Deciphering rhizosphere microbiome assembly of wild and modern common bean (*Phaseolus vulgaris*) in native and agricultural soils from Colombia. **Microbiome**, v. 7, n. 14, p. 3-16, 2019.
- PHILIPPOT, L. *et al.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 789-799, 2013.
- QIAO, Q. *et al.* The variation in the rhizosphere microbiome of cotton with soil type, genotype and developmental stage. **Scientific Reports**, v. 7, n. 3940, p. 1-10, 2017.
- QU, T. *et al.* Impacts of grazing intensity and plant community composition on soil bacterial community diversity in a steppe grassland. **Plos One**, v. 11, n. 7, p. 1-16, 2016.
- RAJENDHRAN, J.; GUNASEKARAN, P. Microbial phylogeny and diversity: small subunit ribosomal RNA sequence analysis and beyond. **Microbiological Research**, v. 166, n. 2, p. 99-110, 2011.

RAAIJMAKERS, J. M. *et al.* The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant Soil** v. 321, p. 341–361, 2009.

ROCHA, S. M. B. *et al.* Nodulation, nitrogen uptake and growth of lima bean in a composted tannery sludge-treated soil. **Ciência Rural**, v. 49, n. 11, p. 1-7, 2019.

SANTOS, D. *et al.* Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n.10, p.1407-1412, 2002.

SANTOS, J. O. *et al.* Ontogenia da nodulação em feijão-fava (*Phaseolus lunatus*). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 4, p. 426-429, 2009.

SERRANO-SERRANO, M. L. *et al.* Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: Evidences for an Andean origin and past migrations. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, p. 76-87. 2010.

SMÝKAL, P. *et al.* Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 34, p. 43-104, 2015.

SOHRABI, R. *et al.* Formation and exudation of non-volatile products of the arabidiol triterpenoid degradation pathway in *Arabidopsis* roots. **Plant Signaling Behavior**, v. 12, n. 1, p. 1-6, 2017.

SOUSA, S. S. *et al.* Maize rhizosphere soil stimulates greater soil microbial biomass and enzyme activity leading to subsequent enhancement of cowpea growth. **Environmental Sustainability**, v. p. 1-6, 2019.

SOUZA, R. C. *et al.* Analysis of a bacterial community structure and the diversity of *phzF* gene in samples of the Amazonian Dark Earths cultivated with cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Wald]. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 38, p. 1980-1989, 2018.

THIJS, S. *et al.* Towards an enhanced understanding of plant-microbiome interactions to improve phytoremediation: Engineering the metaorganism. **Frontiers Microbiology**, v. 7, n. 341, p. 1-15, 2016.

TKACZ, A. *et al.* Stability and succession of the rhizosphere microbiota depends upon plant type and soil composition. **The ISME Journal**, v. 6, p. 1-11, 2015.

TSAVKELOVA, E. A. *et al.* Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives in Microbiology**, v. 188, p. 655-664, 2007.

TORSVIK, V.; OVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 240–245, 2002.

TURNER, T. R., *et al.* Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. **ISME Journal**, v. 7, p. 2248-2258, 2013.

VAZ PATTO, M. C. *et al.* Achievements and Challenges in Improving the Nutritional Quality of Food Legumes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 34, p. 105-143, 2015.

VIEIRA, R. F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, v.16, n.174, p.30-37, 1992.

ZGADZAJ, R. *et al.* Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. **Plant Biology**, v. 18, p. 7996-8005, 2016.

ZHANG, C. *et al.* Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure. **Science of the Total Environment**, v. 557, n. 558, p. 785-790, 2015.

Comunidade bacteriana associada a rizosfera de genótipos de feijão-fava

Resumo

A rizosfera de diferentes espécies vegetais influencia a montagem das comunidades bacterianas do solo, onde diferenças genéticas observadas nos diversos genótipos também podem conduzir a biota bacteriana da rizosfera. Assim, este estudo avaliou a comunidade bacteriana da rizosfera de quatro genótipos de feijão-fava por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA. Dessa forma, a região V4 do gene 16s rRNA foi amplificada com *primers* de regiões específicas. A análise de redundância (RDA) mostrou que indicadores biológicos e químicos influenciam a comunidade bacteriana do solo rizosférico e não rizosférico dos genótipos de feijão-fava. Em geral, os filos dominantes foram Proteobactéria (23,3%), seguido por Actinobactéria (20,6%) e Firmicutes (12%). As amostras de rizosfera mostraram aumento de Proteobactérias e Actinobactérias, enquanto, Firmicutes e as Bactérias não identificadas diminuíram em comparação com o solo não rizosférico. Curiosamente, os resultados revelaram que cada genótipo enriqueceu a rizosfera com grupos de microrganismos específicos. Neste sentido, essa pesquisa mostrou que cada genótipo de feijão-fava contribuiu diferentemente com a estrutura e com diversidade bacteriana. Logo, estes resultados podem contribuir para trabalhos futuros sobre o melhoramento de feijão-fava e para a comunidade bacteriana no desenvolvimento das plantas.

Palavras-chaves: ecologia microbiana, microbioma do solo, *Phaseolus lunatus*

Abstract

The rhizosphere of different plant species influences the assembly of soil bacterial communities, where genetic differences observed in the different genotypes can also lead to the rhizosphere's bacterial biota. Thus, this study evaluated the bacterial community of the rhizosphere of four lima bean genotypes by sequencing the 16S rRNA gene. Thus, the V4 region of the 16s rRNA gene was amplified with primers from specific regions. The redundancy analysis (RDA) showed that biological and chemical indicators influence the bacterial community of the rhizospheric and non-rhizospheric soil of the fava bean genotypes. In general, the dominant phyla were Proteobacteria (23.3%), followed by Actinobacteria (20.6%) and Firmicutes (12%). Rhizosphere samples showed an increase in Proteobacteria and Actinobacteria, while Firmicutes and unidentified Bacteria decreased compared to bulk soil. Interestingly, the results revealed that each genotype enriched the rhizosphere with groups of specific microorganisms. In this sense, this research showed that each genotype of lima bean contributed differently to the structure and bacterial diversity. Therefore, these results may contribute to future work on the improvement of lima beans and the bacterial community in the development of plants.

Keyword: microbial ecology, soil microbiome, *Phaseolus lunatus*

3.1 Introdução

A rizosfera é uma região do solo influenciada pelas raízes das plantas e rica em comunidades microbianas, principalmente bactérias. Na rizosfera, a comunidade bacteriana atua em diversos processos importantes relacionados ao crescimento das plantas, como a fixação biológica de N, a solubilização de fosfato, a proteção contra patógenos, além de aumentar a tolerância à estresses (PHILIPPOT et al., 2013). Por outro lado, a rizosfera influencia a comunidade bacteriana através da exsudação radicular (RICHARDSON et al., 2009) que variam de acordo com diferentes espécies vegetais (EISENHAUER et al., 2017) e seus estágios de desenvolvimento (ARAUJO et al., 2019).

Embora diferentes espécies de plantas influenciem a comunidade bacteriana, diferenças intraespecíficas também podem influenciar a diversidade e a estrutura da comunidade bacteriana (AIRA et al., 2010; ZACARINI et al., 2012; ZOGG et al., 2018, MENDES et al., 2018a-b). Por exemplo, Zogg et al. (2018) observaram diferenças na diversidade e estrutura da comunidade bacteriana na rizosfera de diferentes genótipos de *Spartina alterniflora* e atribuíram essas diferenças a forma de crescimento e à variação genética de cada genótipo.

Além disso, diferenças no padrão de exsudação radicular entre os genótipos têm sido relatadas como importantes fatores que impulsionam a comunidade bacteriana (MICALLEF et al., 2009). De fato, Aira et al. (2010) avaliaram o microbioma de dois genótipos de milho e observaram que as diferenças na qualidade e composição dos exsudatos radiculares de ambos os genótipos direcionaram as respostas da comunidade microbiana.

Embora o conhecimento sobre a influência de diferentes genótipos de plantas na comunidade microbiana esteja disponível em culturas importantes, como o milho (AIRA et al., 2010), a soja (SUGIYAMA et al., 2014) e o feijoeiro (MENDES et al., 2018a-b), o efeito de genótipos de feijão-fava em comunidades bacterianas não está esclarecido.

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma espécie importante para agricultores de baixa renda no Peru, México e Brasil (MATSUBARA e ZUNINGA D'AVILA, 2015; LI et al., 2015; COSTA NETO et al., 2017). Está leguminosa é originária do Peru e foi domesticada na Cordilheira dos Andes, especificamente no sul do Equador, noroeste do Peru e centro-oeste do México (MOTA-ALDANA

et al., 2010). Essa espécie é economicamente importante para a região Nordeste do Brasil, caracterizada por períodos de alta temperatura e seca. Assim, o conhecimento sobre a comunidade bacteriana da rizosfera de feijão-fava pode ser importante para entender a contribuição dos grupos bacterianos frente às condições adversas.

Os estudos sobre a comunidade bacteriana na rizosfera do gênero *Phaseolus* estão concentrados em *P. vulgaris* (TORRES et al., 2009; SUYAL et al., 2015; PEREZ-JARAMILLO et al., 2017, MENDES et al., 2018a), incluindo os efeitos de diferentes genótipos de plantas (RAIESI, HOSSENINPUR, 2017). Em contraste, não há estudos sobre a comunidade bacteriana na rizosfera de feijão-fava, especialmente em diferentes genótipos de plantas.

Considerando a importância de buscar novas estratégias sustentáveis para promover o crescimento vegetal, estudos focados na interação de microrganismos e plantas constituem importantes ferramentas para esclarecer os mecanismos de seleção na rizosfera. Desse modo, a hipótese deste estudo é que, diferentes genótipos de feijão-fava abrigam comunidades bacterianas distintas em suas rizosferas comparado ao solo não rizosférico (LOPES et al., 2015), a principal fonte de riqueza de espécies. Para testar esta hipótese, foram cultivados quatro genótipos de feijão-fava na mesma condição e avaliou-se a comunidade microbiana da rizosfera e do solo não rizosférico através do sequenciamento do gene 16S rRNA.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Experimento de campo

O estudo foi conduzido na área experimental do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil, localizado na latitude 05° 05' 21" S, longitude 42°48'07" W e a 72 m de altitude. O experimento foi realizado entre os meses de janeiro a outubro de 2018 com temperatura média de 28°C em solo de textura arenosa (7% de argila, 39% de silte, 49% de areia) (EMBRAPA, 1997) e classificado como Neossolo Flúvico (SANTOS et al., 2018), mas a coleta do solo foi realizada no mês de abril com temperatura média 25° C, precipitação de 15 mm e umidade de 85%, em média (INMET, 2020).

Para o estudo foram utilizados quatro genótipos de feijão-fava com diferentes características genéticas (Tabela 1) provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da UFPI (BGP-UFPI), obtidos de propriedades agrícolas dos Estados do Piauí, Maranhão e Ceará. Os dados descritos na Tabela 1 são referentes aos quatro acessos avaliados no presente estudo que foram retirados do trabalho realizado por Sousa (2019) com 10 acessos obtidos do mesmo banco de germoplasma. Para selecionar os quatro genótipos foi utilizado como critério de seleção o período de floração para padronizar as amostras de solo, já que não foi possível utilizar os 10 acessos de Sousa (2019), em virtude da diferença entre a floração dos genótipos.

Tabela 1- Variedades crioulas de feijão-fava do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí – BAG / UFPI utilizados para análises biológicas e químicas das amostras de solos rizosférico e não rizosféricos, Teresina-PI, 2018.

Genótipos	Nome popular	Código	Origem	NDF ¹	CmV ² (mm)	CmS ³ (mm)	Prod. ⁴ (kg ha ⁻¹)
G1	Boca de Moça	UFPI-1244	Maranhão	80	96,2	27,0	650
G2	Olho de Ovelha	UFPI-944	Piauí	60	90,8	17,0	1012
G3	Ovo de Gola	UFPI-990	Ceará	93	48,5	11,2	667
G4	Raio de Sol	UFPI-1241	Ceará	72	80,3	15,1	886

¹número de dias para floração; ²comprimento da vagem; ³comprimento da semente; ⁴produtividade. Fonte: SOUSA, 2019.

O experimento foi desenvolvido em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram de 3,2 m x 3,5 m (11 m²) com quatro fileiras de 3,5 m contendo cinco plantas por linha. O espaçamento entre fileiras foi de 0,80 m e entre plantas de 0,7 m, tomando como base os espaçamentos utilizados no milho.

Durante o preparo do solo foi realizada aplicação de herbicida glifosato para remover plantas daninhas, além de práticas convencionais de limpeza na área. O solo foi fertilizado no início do experimento, conforme os resultados da análise química do solo na camada de 0 – 20 cm, três meses antes do plantio, onde foram usadas três sementes de *P. lunatus* e três de sementes de milho que serviu como tutor para as variedades plantadas em regime de sequeiro.

3.2.2. Amostragem de solo rizosférico e não rizosférico

A amostragem de solo foi realizada em um único dia, sendo coletado apenas amostras de solo dos genótipos que estavam em período de floração, pois durante essa fase de desenvolvimento, a planta elimina no solo açúcares e compostos álcoois para atrair o máximo de microrganismos possíveis para a rizosfera (CHAPARRO et al., 2014) que anteriormente colonizavam o solo não rizosférico, a fonte de riqueza de espécies (MENDES et al., 2013).

Para a coleta de solo rizosférico foram utilizadas três plantas por parcela, onde foram sacudidas para remover o solo pouco aderente utilizado nas análises químicas e biológicas armazenados em sacos plásticos devidamente identificados, enquanto que todo o solo firmemente aderido às raízes foi coletado e armazenados em criotubos de plástico autoclavados para a extração de DNA, sendo que, a cada coleta todo o material era esterilizado com álcool. Já as amostras de solo não rizosférico foram coletadas entre as parcelas, locais em que não havia a presença de plantas numa profundidade de 0-20 cm também separados em sacos e criotubos plásticos autoclavados para análises de solo e extração de DNA, respectivamente. As amostras utilizadas para as análises químicas e biológicas foram peneiradas (2 mm) e armazenadas a 4°C para posterior análise.

3.2.3 Análises químicas e biológicas do solo

As propriedades químicas do solo (pH, carbono orgânico, nitrogênio total, fósforo, potássio, cálcio) foram estimadas de acordo com a Embrapa (1997). A atividade biológica foi estimada através da determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) pelo método de extração por irradiação de micro-ondas (ISLAM, WEIL, 1998). Com o mesmo extrato foi estimado o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) pelo método de determinação do nitrogênio reativo a Ninidrina (JOERGENSEN, BROOKES, 1990) e a respiração do solo (Resp.) foi medida pela produção de CO₂ liberado sob incubação aeróbica a 25°C por 7 dias (ALEF, NANNIPIERI, 1995). Enquanto, o quociente microbiano (qMic) foi calculado como a razão de CBM para carbono orgânico total (COT), expresso em porcentagem (%) e o quociente metabólico (qResp) calculado pela razão de CBM para a respiração do solo (Resp.). As médias das propriedades químicas e biológicas dos solos estão expostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Teste de comparação de médias das propriedades químicas e biológicas do solo rizosférico e não rizosférico de feijão-fava.

	G1		G2		G3		G4	
	N. rizo.	Rizo.	N. rizo.	Rizo.	N. rizo.	Rizo.	N. rizo.	Rizo.
pH	6,29 a	6,41 a	6,14 a	6,42 a	6,04 a	5,81 a	6,33 a	6,29 a
COT	10,65 a	13,91 a	9,31 a	14,41 a	11,73 a	10,31 a	11,48 a	11,40 a
NT	0,05 a	0,08 a	0,08 a	0,07 a	0,05 a	0,06 a	0,06 a	0,05 a
P	12,53 c	22,22 a	15,12 b	15,38 b	21,25 a	8,35 d	6,89 d	14,68 b
K	10,23 b	20,06 a	10,10 b	20,03 a	10,13 b	10,10 b	10,23 b	20,33 a
Ca	3,16 d	3,53 c	3,69 c	4,47 a	2,47 f	2,60 f	4,04 b	2,82 e
CBM	219 ab	101 c	115 c	112 c	233 a	154 bc	129 c	149 bc
NBM	211 bc	161 bc	203 bc	442 a	170 bc	171 bc	233 b	174 c
Resp	62,8 b	53,4 bc	73,8 a	49,9 c	61,2 b	73,8 a	27,5 d	44,3 c
qResp	0,29 cd	0,53 a	0,63 a	0,44abc	0,26 cd	0,51 ab	0,21 d	0,30 bcd
qMic	2,5 a	0,7 d	1,2 cd	0,8 d	1,9 ab	1,4 bc	1,1 cd	1,3 c

COT: carbono orgânico total (g kg^{-1}); NT: nitrogênio total (%); P: fósforo (mg kg^{-1}); K: potássio (mg kg^{-1}); Ca: cálcio (cmolc kg^{-1}); CBM: carbono da biomassa microbiana (mg kg^{-1}); NBM: nitrogênio da biomassa microbiana (mg kg^{-1}); Resp.: respiração do solo ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$); qResp.: quociente de respiração ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ CBM}$); qMic.: quociente microbiano (%). *Médias seguidas de mesma letra são iguais no Teste de Tukey ($p < 0,05$) por meio do programa Assisat.

3.2.4 Extração de DNA e sequenciamento

A extração do DNA e o sequenciamento foram realizados no Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. O DNA do solo foi extraído de 0,5 g usando o Power Lyzer Power Soil DNA isolation Kit (MoBIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. A extração de DNA foi realizada em triplicata para cada amostra de solo. A qualidade e concentração do DNA extraído foram determinadas usando o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, EUA) e observação por eletroforese em gel de agarose a 0,8%.

A região V4 do gene 16S rRNA foi amplificada com *primers* específicos para a região (515F / 806R) (CAPORASO et al., 2011). Cada reação de PCR de 30 μL continha: 15 μL de KAPA HotStart Hifi ReadyMix, 0,75 μL de cada *primer*, 4 μL de DNA (1.286 ng/ μL) e 9,5 μL de água. As condições da PCR foram: 95°C

por 3 min para desnaturação inicial do DNA, 98°C por 20 seg, 55°C por 30 seg, 72°C por 30 seg, durante 35 ciclos, além de uma extensão final 72°C por 5 min.

Em seguida, foram adicionados adaptadores aos *primers* específicos, de acordo com a recomendação do Illumina. Após a indexação, os produtos da PCR foram purificados utilizando Ambion AMPure XP – PCR (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), conforme as instruções do fabricante e, posteriormente, quantificados com o auxílio do kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) utilizando o fluorômetro Qubit 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Após a quantificação, cada uma das concentrações foram agrupadas em um mesmo tubo, onde a molaridade foi determinada, dissolvida a 2 nM e novamente diluída para obter uma concentração final de 8,0 pM para processamento na plataforma Illumina MiSeq., aparelho de sequenciamento (Illumina, San Diego, CA, EUA) para a descrição dos perfis taxonômicos das comunidades microbianas do solo rizosférico e não rizosférico.

Os dados das sequências foram processados usando a versão QIIME 2 2017.11. Primeiramente, foi realizado o controle de qualidade nas sequências utilizando DADA2 (CALLAHAN et al., 2017), através do método de consenso para remover quaisquer sequências quiméricas e de baixa qualidade remanescentes. Posteriormente, as amostras foram reduzidas para 74.200 sequências, seguindo o número da amostra mais baixa. A afiliação taxonômica foi realizada com 97% de similaridade utilizando o banco de dados de Silva v. 132 (QUAST et al., 2013), e a matriz gerada foi posteriormente utilizada para as análises estatísticas. As sequências foram submetidas ao NCBI Sequence Read Archive sob a identificação "microbioma da rizosfera de feijão-de-lima" (PRJNA544102).

3.2.5 Análise de dados

A fim de comparar a composição da comunidade bacteriana entre a rizosfera e o solo não rizosférico dos diferentes genótipos de feijão-fava, e determinar a correlação entre a estrutura da comunidade e as propriedades ambientais do solo, utilizou-se a Análise de Redundância (RDA). Para tanto, a distribuição dos dados foi primeiramente avaliada por meio da Análise de Correspondência Destendenciada (ACD), que indicou dados linearmente

distribuídos (comprimento do gradiente < 3), revelando que o modelo matemático mais adequado para os dados foi o RDA.

Para verificar a significância das propriedades químicas sobre a comunidade microbiana, utilizou-se a Forward Selection (FS), seguido do teste de Permutação de Monte Carlo, com 1000 permutações aleatórias. A análise de RDA foi realizada usando o software Canoco 4.5. As medidas de diversidade (riqueza e Shannon) foram calculadas com o software PAST v.3 (HAMMER, HARPER, RYAN, 2001). Os diagramas de Venn também foram construídos para verificar a proporção de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais) exclusivas e compartilhadas entre os tratamentos, considerando apenas as UTOs que apareceram em pelo menos duas das três repetições. Os diagramas de Venn foram construídos usando o webtool Venny 2.0.2 (OLIVEIROS, 2007).

Para determinar a abundância de bactérias entre as amostras de solo e os genótipos de feijão-fava, uma tabela de UTOs foi usada no software STAMP (PARKS, BEIKO, 2010). O p-valor foi calculado com base no teste-T de Welch, cuja correção do teste foi realizada pelo método de Benjamini-Hochberg FDR (Tabela 3). Além disso, para investigar a correlação entre os filios bacterianos e as propriedades ambientais foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman usando o programa R (R Development Core Team, 2007).

4 Resultados

O sequenciamento gerou aproximadamente 3 milhões de UTOs, com média de 125.000 sequências por amostra. Em geral, os filios Proteobacteria (23,3%) e Actinobacteria (20,6%) foram predominantes na rizosfera e os filios Firmicutes (12%) e as sequências que não foram classificadas em nenhum filo bacteriano (22%) foram predominantes no solo não rizosférico ($P < 0,05$, Figura 1). Mas outros filios também foram encontrados nos dois ambientes, tais como, Acidobactérias (5%), Planctomycetes e Chloroflexi ambos com uma abundância em torno de 4% (Figura suplementar).

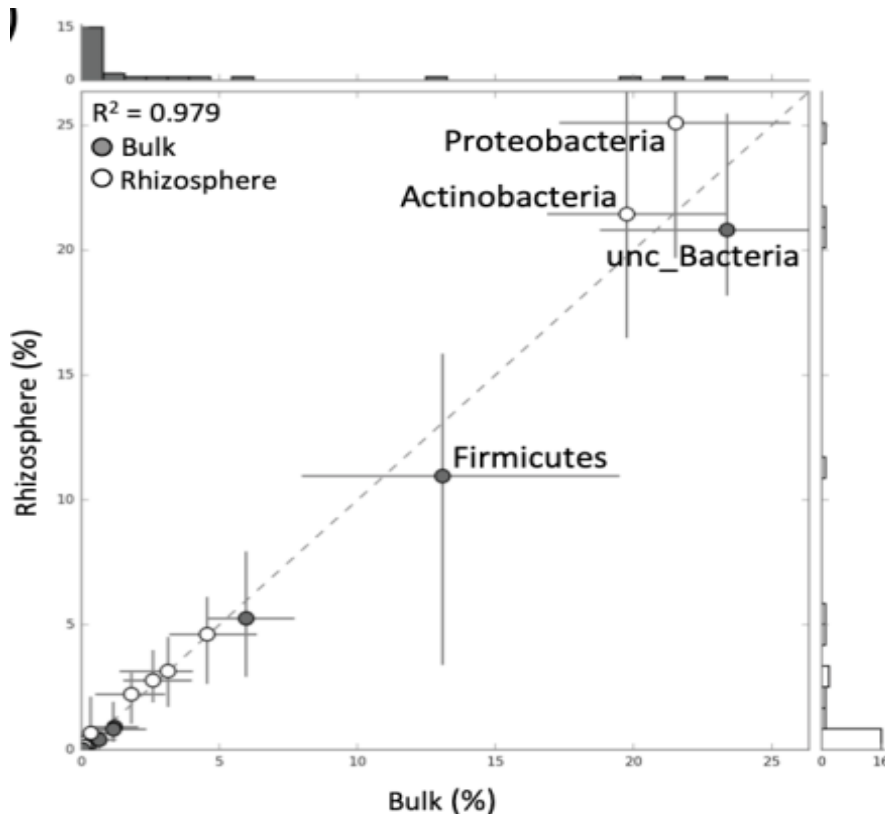


Figura 1: Abundância relativa dos filos bacterianos do solo rizosférico (branco) e não rizosférico (cinza) de *Phaseolus lunatus* baseado no gene 16S rRNA para cada genótipo. Bulk: solo não rizosférico; rhizosphere: rizosfera

A análise de redundância (RDA) mostrou que fatores biológicos e químicos do solo influenciaram a comunidade bacteriana tanto na rizosfera quanto no solo não rizosférico (Figura 2). Assim, a RDA explicou 34,8% da variação total das UTOs bacterianas, das quais 29,9% e 4,9% foram agrupadas nos eixos horizontal e vertical, respectivamente. A análise também revelou uma diferente estrutura da comunidade entre as amostras de solo rizosférico e não rizosférico (PERMANOVA $F = 1,96$, $P = 0,035$).

Ainda de acordo com a RDA, seguida da análise de Monte Carlo, o nitrogênio total (TN) ($F = 13,3$, $P < 0,05$) e o cálcio (Ca) ($F = 5,2$, $P < 0,05$) mostraram correlação significativa com a estrutura geral da comunidade bacteriana, sendo observado, especificamente, que a comunidade bacteriana da rizosfera do acesso UFPI-1244 (G1) se agrupou com a maioria das propriedades biológicas e químicas. Enquanto, a comunidade bacteriana do acesso UFPI-944 (G2) agrupou-se claramente com o nitrogênio total (TN), nitrogênio microbiano da biomassa (MBN), cálcio (Ca) e pH e os acessos UFPI-990 (G3) e UFPI-1241 (G4) apresentaram o potássio (K) como propriedade química em comum.

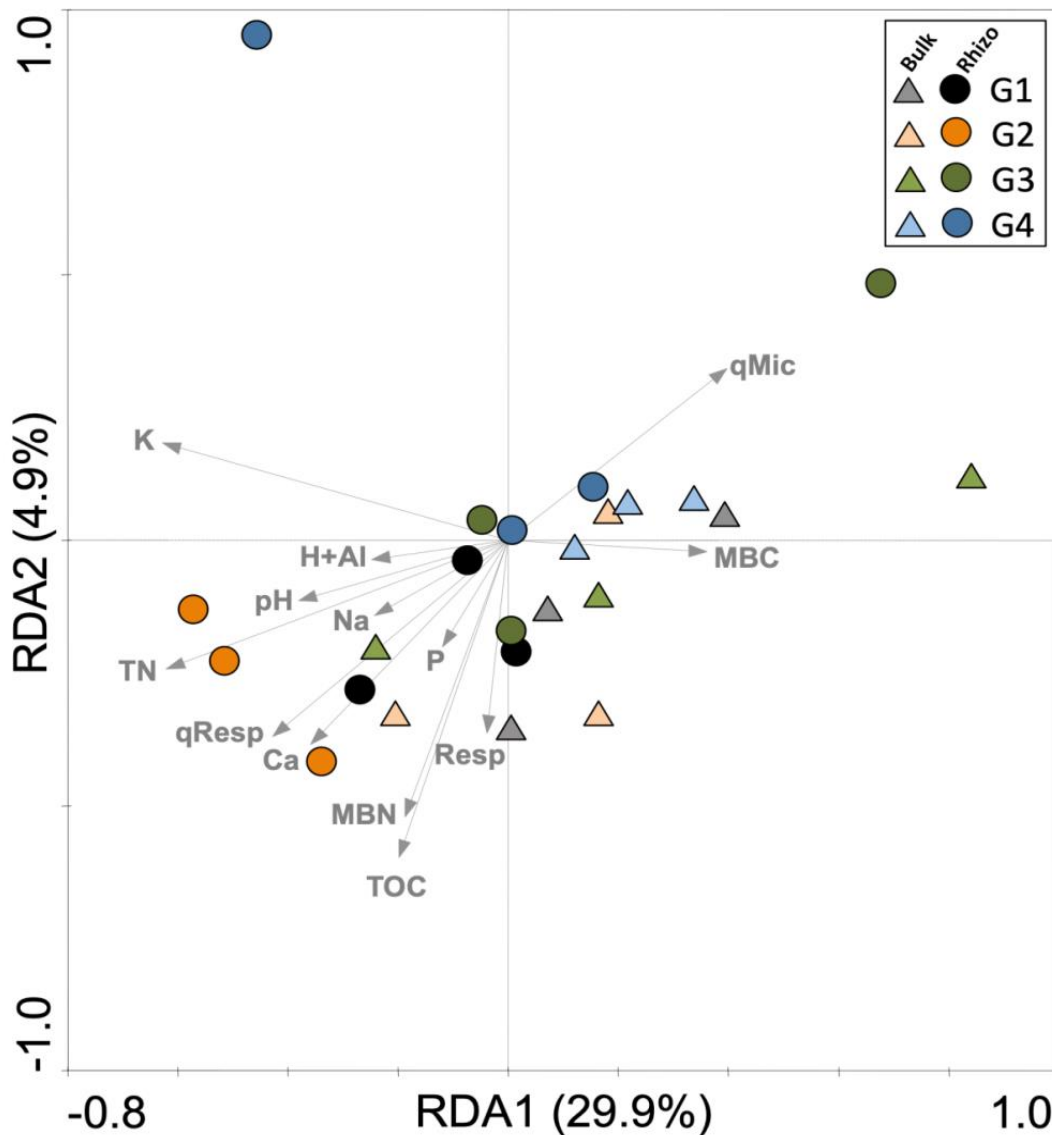


Figura 2: Análise de redundância (RDA) para correlacionar as propriedades do solo com os genótipos. MBC: carbono microbiano da biomassa; MBN: nitrogênio microbiano da biomassa; TOC: carbono orgânico total; TN: nitrogênio total; qMic: quociente microbiano; qResp: quociente metabólico; RESP: respiração basal do solo; H + Al: hidrogênio e alumínio; Na: sódio; K: potássio; P: fósforo; Ca: cálcio. G1 (UFPI-1244); G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990); G4 (UFPI-1241).

Verificando a riqueza (Figura 3A) e a diversidade de espécies por meio do Índice de Shannon (Figura 3B) não foi observada diferenças estatisticamente significativas para as comunidades bacterianas dos solos rizosférico e não rizosférico de feijão-fava.

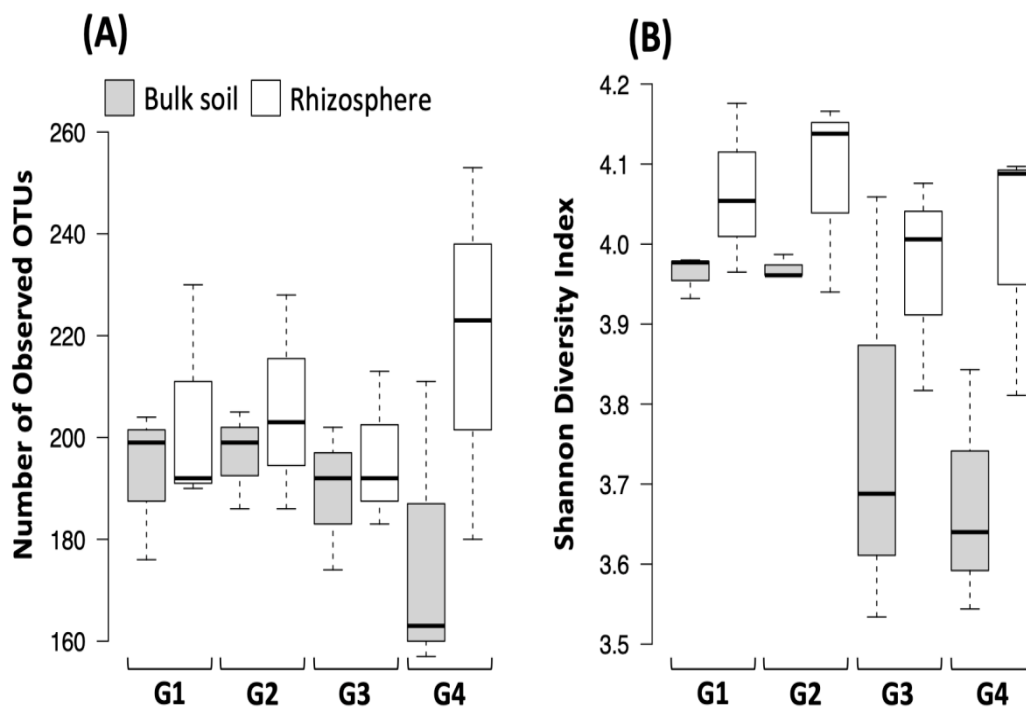


Figura 3: Diversidade mensurada com base na análise do gene 16S rRNA do solo rizosférico de *Phaseolus lunatus*. Riqueza com base no número de observações de UTOs (A) e diversidade (B) baseada no Índice de Shannon. As barras de erro representam o desvio padrão das três replicatas independentes. G1 (UFPI-1244), G2 (UFPI-944), G3 (UFPI-990), G4 (UFPI-1241).

Ao comparar a proporção de UTOs que foram compartilhadas e exclusivas entre os tratamentos mostrados no Diagrama de Venn (Figura 4), revelam que, em média, um terço das UTOs detectadas são compartilhadas entre os dois ambientes, e uma terceira proporção é exclusiva do solo não rizosférico ou da rizosfera (Figura 4A). Também pode-se notar que existem diferenças na proporção entre os genótipos, onde a rizosfera do acesso UFPI-1241 (G4) apresentou a maior proporção de UTOs exclusivas (44,9%). Essa observação é evidenciada quando comparada apenas as amostras da rizosfera, revelando diferença na proporção de UTOs exclusivas presentes em cada genótipo, com o acesso UFPI-1241 (G4) apresentando a maior proporção (23,5%) (Figura 4B).

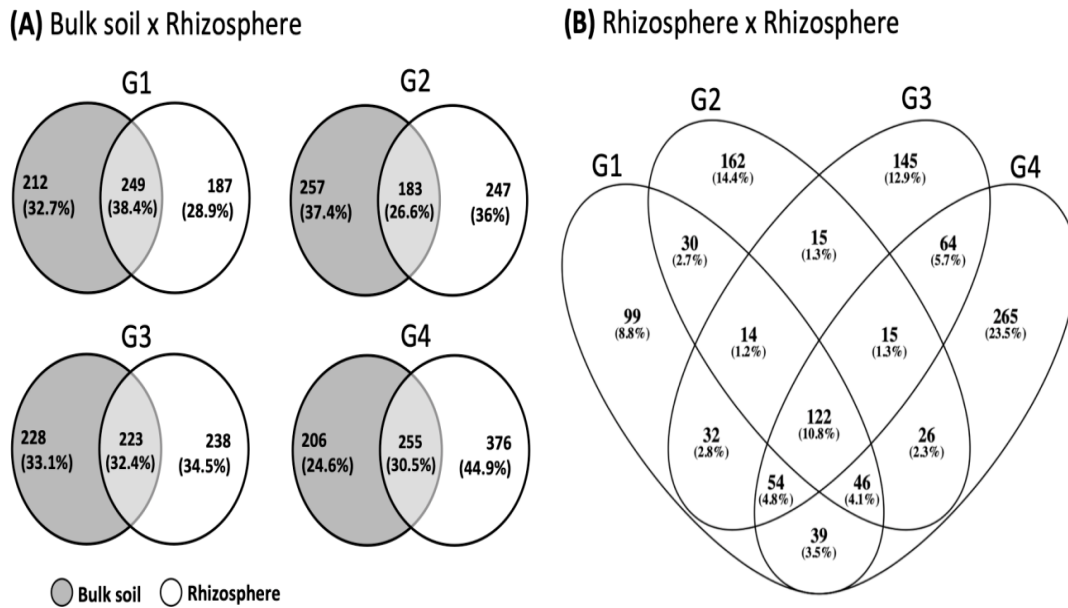


Figura 4: Diagrama de Venn mostrando a porcentagem de UTOs exclusivas e compartilhadas de cada genótipo no solo rizosférico e não rizosférico (A) e a relação entre as rizosferas dos genótipos de *P. lunatus* (B). G1 (UFPI-1244), G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990), G4 (UFPI-1241). Bulk: solo não rizosférico; rhizosphere: rizosfera.

A fim de avaliar o efeito de cada genótipo na moldagem do microbioma da rizosfera, comparou-se a abundância de UTOs entre as amostras de rizosfera e de solo não rizosférico. Os resultados revelaram que cada genótipo enriqueceu grupos microbianos específicos na rizosfera (Figura 5), sendo que o acesso UFPI-1244 (G1) enriqueceu com 6 UTOs, assim, as mais abundantes foram *Bacillus*, *Burkholderiaceae* e *Gaillales* (Figura 5A).

O acesso UFPI-944 (G2) enriqueceu com 10 UTOs, destacando-se as *Polyangiaceae* e *Pseudonocardia*, mas algumas também foram semelhantes ao acesso UFPI-1244 (G1) como *Mycobacterium* e *Chitinophagaceae* (Figura 5B). Já o acesso UFPI-990 (G3) enriqueceu 7 UTOs com alta abundância *Micromonosporaceae* e *Sphingomonadaceae* (Figura 5C), sendo esta última semelhante ao acesso UFPI-944 (G2). Por fim, o acesso UFPI-1241 (G4) enriqueceu 11 UTOs, sendo *Pseudonocardia* e bactérias não classificadas as mais abundantes (Figura 5D).

Além disso, uma análise de correlação de Spearman também foi utilizada para mostrar como as propriedades do solo específicas impulsionam as respostas da comunidade bacteriana (Figura 6). Os dados de nitrogênio total (TN) e potássio (K) apresentaram, respectivamente, os maiores números de

correlações negativas e positivas com os filos bacterianos, destacando-se o filo Chloroflexi que foi o único que apresentou correlação positiva com as variáveis nitrogênio total (TN) e potássio (K) ao mesmo tempo. Por outro lado, o filo Verrucomicrobia apresentou o maior número de correlações negativas com quatro variáveis ambientais diferentes, tais como nitrogênio total (TN), sódio (Na), respiração do solo (Resp.) e cálcio (Ca) (Figura 6).

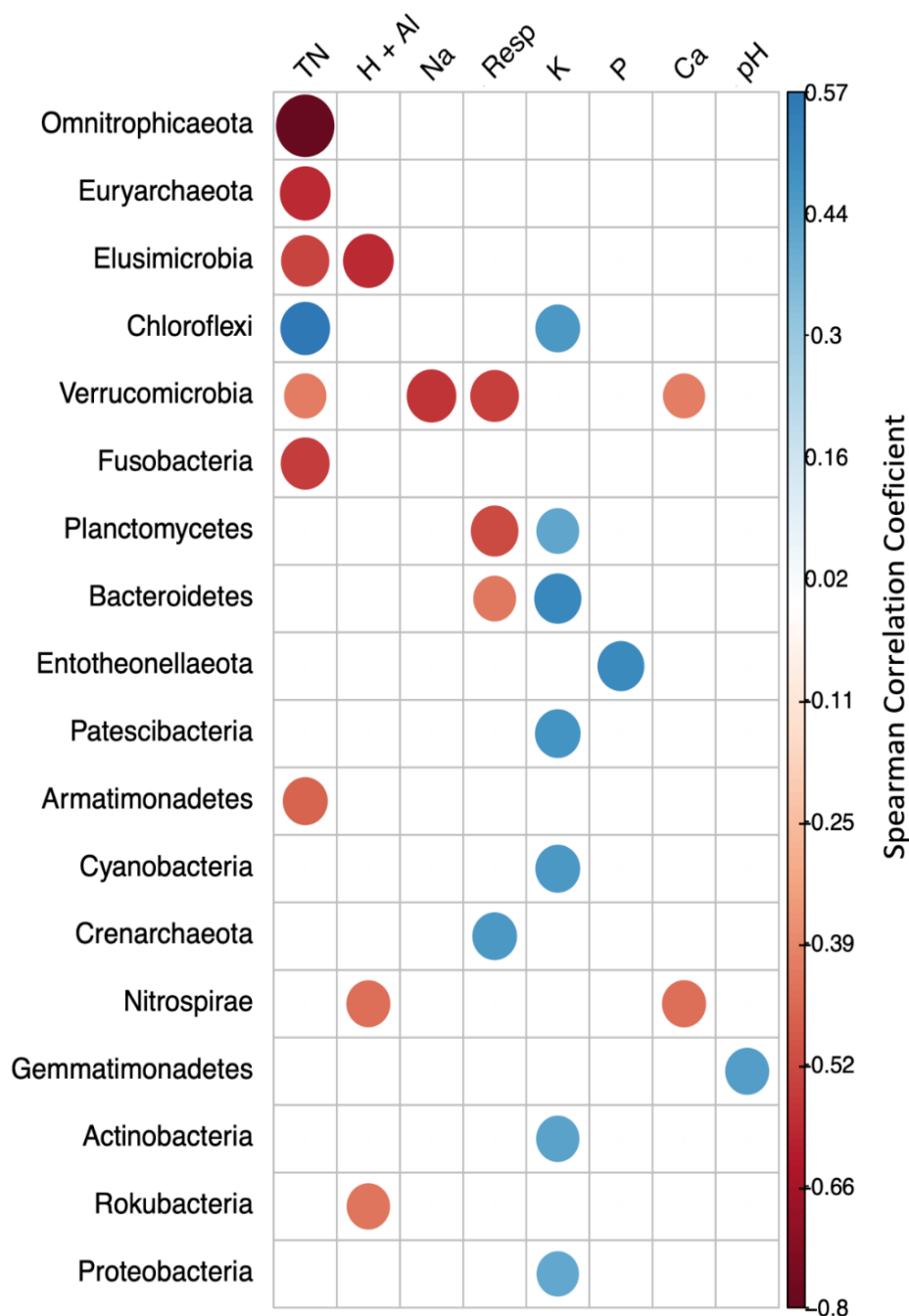


Figura 6: Coeficiente de correlação Spearman's para correlacionar as variáveis ambientais com os filos bacterianos. NT: nitrogênio total do solo; H + Al: hidrogênio e alumínio; Na: sódio; Resp.: respiração basal do solo; K: potássio; P: potássio; Ca: cálcio.

Então, para avaliar o recrutamento de UTOs específicas entre os genótipos de feijão-fava, comparou-se cada cultivar com as demais (por exemplo, G1 contra G2-G3-G4) (Tabela 3). A análise revelou que cada cultivar enriquece um número e um tipo diferente de UTOs no microbioma da rizosfera (G1 = 13, G2 = 12, G3 = 28 e G4 = 26). Observa-se que, a maioria das UTOs enriquecidas na rizosfera de cada cultivar foram classificadas nas ordens *Gaiellales* e *Sphingomonadales*, evidenciando que existe um núcleo de organismos selecionados pelo feijão-fava em maior nível taxonômico.

5 Discussão

Este estudo avaliou o efeito rizosférico de diferentes genótipos de feijão-fava na comunidade bacteriana do solo e confirmou a hipótese de que diferentes genótipos abrigam uma comunidade bacteriana distinta em sua rizosfera. Em uma visão geral, os resultados revelaram que Proteobactérias e Actinobactérias foram os filos bacterianos mais abundantes em amostras de solo rizosférico.

Essa resposta é esperada, uma vez que a planta elimina na rizosfera diferentes exsudatos e, portanto, tornam esse ambiente rico em nutrientes, promovendo o aumento de diversos grupos bacterianos (LADYGINA, HEDLUND, 2010). Esses resultados corroboram com estudos prévios de outras leguminosas, como a soja (SUGIYAMA et al., 2014), feijão-comum (MENDES et al., 2018a), onde foram encontrados Proteobacteria e Actinobacteria como filos dominantes na rizosfera. Da mesma forma, Qiao et al. (2017) encontraram Proteobactérias e Actinobactérias mais abundantes em solos rizosféricos que outros grupos bacterianos em algodão.

A alta abundância de Proteobacteria neste trabalho pode confirmar que este filo parece ser beneficiado pela característica das leguminosas. De fato, o filo Proteobacteria inclui uma ampla variedade de bactérias fixadoras de nitrogênio (N), como *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, que são influenciadas pela rizosfera de leguminosas (SHARMIN et al., 2013). Além disso, o ambiente rico da rizosfera contribuiu para o aumento da abundância destes dois filos, porque os mesmos são conhecidos como microrganismos copiotróficos devido a adaptação em ambientes com altos teores de nutrientes e ainda serem influenciados pelo aumento do carbono (C) proveniente da rizodeposição (KOYAMA et al., 2014). Por outro lado, o filo Firmicutes foi o mais abundante no

solo não rizosférico, o que pode ser explicado devido ao estilo de vida oligotrófico apresentado pelo mesmo (SHARMIN et al., 2013), considerando que o solo não rizosférico é reconhecido como um ambiente pobre em nutrientes comparado a rizosfera e esse fato pode ter influência no aumento da abundância deste filo.

A análise de redundância revelou uma clara separação da comunidade bacteriana entre os solos rizosférico e não rizosférico com pequenas diferenças entre os genótipos e seu efeito rizosférico na comunidade bacteriana. Observa-se que, a comunidade bacteriana do acesso UFPI-944 (G2) mostrou que este genótipo foi agrupado com algumas variáveis importantes para o crescimento das plantas, tais como, nitrogênio total (TN), nitrogênio microbiano da biomassa (MBN), cálcio (Ca) e carbono, o que pode-se sugerir uma relação desses nutrientes com o maior rendimento da planta (1012 Kg ha^{-1}) encontrado neste genótipo (Tabela 1).

A comunidade bacteriana da rizosfera é um fator importante que influencia o crescimento das plantas (WANG et al., 2018) e a rizosfera do acesso UFPI-944 (G2) pode apresentar diferentes comunidades bacterianas que contribuem para o aumento do rendimento delas. De fato, esta análise mostrou um enriquecimento das UTOs classificadas como *Polyangeaceae* e *Pseudonocardia* na rizosfera deste genótipo. Esses dois grupos de microrganismos desempenham funções importante para o crescimento das plantas, pois secretam no solo compostos antimicrobianos que inibem a ação de patógenos nas raízes (JOG, NARESKUMAR, RAJKUMAR, 2012).

Além disso, a rizosfera desse mesmo acesso (UFPI-944 (G2) também foi enriquecida com membros da ordem *Rhizobiales* que podem fixar nitrogênio simbioticamente com leguminosas, o que explica a correlação desta comunidade com a maior produção de nitrogênio total e membros do gênero *Mycobacterium* que abrigam diversos genes funcionais para a transformação de nutrientes como os envolvidos na fixação autotrófica de carbono (LI et al., 2014).

O acesso UFPI-1244 (G1) (colocar a relação desse genótipo com as propriedades do solo) apresentou enriquecimento de UTOs classificadas como *Bacillus* e *Burkholderiaceae* que são conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, pois são capazes de solubilizar fosfato, produzir compostos como o ácido indol acético (AIA), enzimas hidrolíticas, substâncias antibióticas que atuam contra fitopatógenos (KUMAR, PRAKASH, JOHRI, 2011;

KUMAR; DUBE; MAHESHWARI, 2012; CHAPELLE et al., 2016; XIÃO et al., 2017).

O acesso UFPI-990 (G3) enriqueceu as UTOs classificadas nas famílias *Micromonosporaceae* e *Sphingomonadaceae*, este último abrange membros pertencentes ao gênero *Sphingomonas* são conhecidos por interagirem positivamente com as raízes das plantas através da produção de AIA (ácido indol acético) (TSAVKELOVA et al., 2007). O estabelecimento de *Sphingomonadaceae* na rizosfera também mostrou ser promovido por exsudatos radiculares de plantas (HAICHAR et al., 2008), reforçando o papel da planta em moldar o microbioma da rizosfera. Os microrganismos filiados a *Micromonosporaceae* atuam na renovação da matéria orgânica e muitas espécies são capazes de produzir metabólitos e enzimas secundários importantes na agricultura (TRUJILLO et al., 2014).

Por fim, o acesso UFPI-1241 (G4) apresentou o enriquecimento de bactérias do gênero *Pseudonocardia* que também já foi encontrado na rizosfera de outras plantas e é bastante conhecido por produzir compostos antibióticos, que podem inibir alguns microrganismos fitopatogênicos (VALVERDE et al., 2016) e *Beijerinckiaceae* são capazes de corrigir o dinitrogênio, utilizar compostos multicarbonados e açúcares como substratos de crescimento de preferência (DEDYSH; HAUPT; DUNFIELD, 2016).

Ao analisar os dados da abundância bacteriana da rizosfera entre os genótipos, observa-se que cada genótipo recruta uma UTO específica e quando foram comparadas em um nível taxonômico mais alto, os resultados mostraram que são predominantemente filiados às ordens *Sphingomonadales* e *Gaiellales*, revelando um núcleo de grupos bacterianos enriquecidos na rizosfera do feijão-fava, independentemente do genótipo diferenciado.

Como discutido anteriormente, membros da ordem *Sphingomonadales* são encontrados abundantemente na rizosfera de plantas (HAICHAR et al., 2008). *Gaiellales* é uma ordem de Actinobactérias e até recentemente apenas uma espécie foi descrita, nomeadamente *Gaiella occulta* (ALBUQUERQUE et al., 2011). Vários estudos relataram o aumento de *Gaiella* na rizosfera de diferentes espécies de plantas (NOVELLO et al., 2017; WANG et al., 2018; ZENG et al., 2018; ZHOU et al., 2019).

Esse grupo de bactérias pode realizar a redução de nitrato, ajudando as plantas a assimilar carboidratos, ácidos orgânicos e aminoácidos, apoiando a capacidade da planta de absorver nutrientes do solo (ALBUQUERQUE et al., 2011; NOVELLO et al., 2017; SEVERINO et al., 2019). Esses resultados mostram claramente que as plantas recrutam grupos bacterianos benéficos para compor o microbioma da rizosfera, que desempenham importantes funções que auxiliam no crescimento e desenvolvimento da planta.

Os resultados encontrados para a correlação de Spearman mostram que alguns grupos foram influenciados pelas propriedades químicas nitrogênio total (TN) e potássio (K) de forma negativa e positiva, respectivamente. A correlação positiva com K observada para alguns filos também foi encontrada por Chronáková et al. (2015) que encontraram Chloroflexi, Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes, sendo mais abundantes em solos ricos em matéria orgânica e nutrientes.

O filo Chloroflexi sozinho correlacionou-se positivamente com nitrogênio total (TN) e potássio (K). Este filo é metabolicamente diverso e foi identificado em muitos ambientes (HUG et al., 2013), sendo abundante no solo (JANSSEN, 2006). Estudos relataram que Chloroflexi apresenta correlação positiva com nitrogênio total (ZHANG et al., 2013) e potássio (CHRONÁKOVA et al., 2015; WANG et al., 2017), sendo observada sua abundância na rizosfera de arroz em solo fértil em experimentos de longa duração (AHN et al., 2012).

Por outro lado, o filo Verrucomicrobia foi o grupo que apresentou mais correlações negativas com algumas propriedades químicas e respiração do solo. Isso pode estar relacionado, ao fato desse filo ser sensível a mudanças nas propriedades do solo (PAN et al., 2014) e sua estrutura e abundância são afetadas por fatores químicos, como nitrogênio total, sódio, cálcio (NAVARRETE et al., 2015). Estudos também apontam uma correlação negativa de Verrucomicrobia com nitrogênio, potássio, fósforo e com o teor de matéria orgânica (HUANG et al., 2012).

A riqueza e a diversidade de espécies não foram significativas para a rizosfera comparado ao solo não rizosférico, onde resultados semelhantes também foram encontrados por Chaudhry et al. (2012) avaliando a diversidade microbiana rizosférica de pinhão-manso e Araújo et al. (2019) avaliando o microbioma rizosférico de milho e feijão-caupi. Isso acontece, porque é do solo

não rizosférico que as raízes das plantas selecionam os microrganismos para habitar a rizosfera, conseqüentemente, os índices de diversidade e riqueza podem, em algumas situações, serem semelhantes ou superiores aos do solo rizosférico (WEISSKOPF et al., 2005).

Além disso, as informações sobre os caracteres quantitativos das variedades crioulas (Tabela 1) estudados por Sousa (2019) mostraram que, os acessos UFPI-1244 (CmV = 96 mm; CmS = 27 mm) e UFPI-944 (CmV = 90 mm; CmS = 17 mm) apresentaram os maiores comprimentos de vagem e de sementes, respectivamente, indicando mais vantagens para os mesmos, uma vez que sementes maiores tendem a fixar mais nitrogênio, conseqüentemente maiores nódulos são produzidos, sendo esses fatores importantes para o aumento da produção em leguminosas (DOBERT, BLEVINS, 1993), o que facilita a colheita manual pelos pequenos agricultores (SILVA, NEVES, 2011).

Avaliando também a produtividade e a estabilidade das 10 variedades crioulas, Sousa (2019) indicou que dois acessos, incluindo o UFPI-944 (1012 Kg ha⁻¹) utilizado no presente estudo podem ser recomendados para seleção de programas de melhoramento, pois mostraram-se ser ideais para o cultivo nos dois ambientes estudados. Tais informações podem ser correlacionadas com os resultados do presente estudo, uma vez que o acesso UFPI-944 (1012 Kg ha⁻¹) apresentou o maior número de UTOs afiliadas ao microbioma rizosférico de feijão-fava.

6 Conclusão

Com base nos resultados do presente estudo, pode-se concluir que, os acessos UFPI-944 (G2) e UFPI-1241 (G4) foram os que mais contribuíram para o microbioma rizosférico de feijão-fava através da exsudação radicular, selecionando microrganismos específicos dos filos Proteobacteria e Actinobacteria para habitar as suas rizosferas, uma vez que foram os mais abundantes e que membros destes dois filos classificados nas ordens Sphingomonadales e Gaiellales.

Esses resultados demonstram a importância do microbioma rizosférico para o desenvolvimento da planta no solo, principalmente em *P. lunatus*, uma espécie típica da região Nordeste. Apesar de ser uma área bastante estudada, os programas de melhoramento vegetal ainda não consideram os benefícios do

rizomicrobioma como parte destes estudos. Desse modo, faz-se necessário utilizar-se dessas informações para criação de uma linha de pesquisa em “Biodiversidade do solo: interações planta-microorganismos” em um futuro programa de melhoramento genético de *P. lunatus* que, vise a conservação e a exploração do potencial genético da espécie, levando-se em consideração as características agronômicas, assim como, informações acerca do microbioma da espécie, tendo como perspectiva a produção de inoculantes a partir das rizobactérias atuantes no desenvolvimento e na produtividade desta leguminosa para que possam ser também adquiridos pelos pequenos agricultores que utilizam a produção do feijão-fava tanto para consumo quanto para geração complementar de renda.

Referências

AHN, J.H. *et al.* Characterization of the bacterial and archaeal communities in rice field soils subjected to long-term fertilization practices. **Journal of Microbiology**, v. 50, p. 754-765, 2012.

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry London: **Academic Press**. 576p. 1995.

AIRA, M. *et al.* Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, p. 2276-2281, 2010.

ALBUQUERQUE, L. *et al.* *Gaiella occulta* gen. nov., sp. nov., a novel representative of a deep branching phylogenetic lineage within the class Actinobacteria and proposal of Gaiellaceae fam. nov. and Gaiellales ord. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 34, p. 595-599, 2011.

ARAUJO, A.S.F. *et al.* Bacterial community associated with rhizosphere of maize and cowpea in a subsequent cultivation. **Applied Soil Ecology**, v. 143, p. 26-34, 2019.

BULGARELLI, D. *et al.* Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. **Cell Host Microbes**, v. 17, p. 392-403, 2015.

CALLAHAN, B.J. *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, p. 581-583, 2016.

CAPORASO, J.G. *et al.* Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v. 108, p. 4516-4522, 2011.

CHAUDHRY, V. *et al.* Changes in bacterial community structure of agricultural Land due to long-term organic and chemical amendments. **Microbial Ecology**, v. 64, p. 450–460, 2012.

CHAPARRO, J. M. *et al.* Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. **The ISME Journal**, v. 8, p. 790-803, 2014.

CHAPELLE, E. *et al.* Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. **The ISME Journal**, v. 10, p. 265–268, 2016.

CHRONÁKOVA, A. *et al.* Response of archaeal and bacterial soil communities to changes associated with outdoor cattle overwintering. **PloS One**, v. 10, n. 8, p.1-8, 2015.

COSTA NETO, V. P. C. *et al.* Symbiotic performance, nitrogen flux and growth of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) varieties inoculated with different indigenous strains of rhizobia. **Symbiosis**, v. 73, p. 117-124, 2017.

DEDYSH, S. N.; HAUPT, E. S.; DUNFIELD, P. F. Emended description of the family Beijerinckiaceae and transfer of the genera Chelatococcus and Camelimonas to the family Chelatococcaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, p. 3177–3182, 2016.

DOBERT, R. C.; BLEVINS, D. G. Effect of seed size and plant growth on nodulation and nodule development in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Plant and Soil**, v. 148, p. 11-19, 1993.

EISENHAUER, N. *et al.* Root biomass and exudates link plant diversity with soil bacterial and fungal biomass. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-8, 2017.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**, 2. ed. Rio de Janeiro, 212p, 1997.

HAICHAR, F. Z. *et al.* Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. **The ISME Journal**, v. 2, p. 1221-1230, 2008.

HUANG, W. *et al.* Effects of cotton straw amendment on soil fertility and microbial communities. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, p. 336-349, 2012.

HUG, L.A. *et al.* Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling. **Microbiome**, v. 1, n. 22, p. 1-17, 2013.

HAMMER, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontology Electronica**, v. 4, n. 9, p. 1-9, 2001.

INMET- Instituto Nacional de Meteorologia. **Estações e dados: estações automáticas**. Disponível em: www.inmet.gov.br. Acesso em 05 de março de 2020.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils Journal**, v. 27, p. 408-416, 1998.

JANSSEN, P.H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 1719-1728, 2006.

JOERGENSEN; BROOKES. The use of the Ninhydrin nitrogen reaction for estimating microbial biomass. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**, chapter 8, p. 391-396, 1990.

JOG, R.; NARESHKUMAR, G.; RAJKUMAR, S. Plant growth promoting potential and soil enzyme production of the most abundant *Streptomyces* spp.

from wheat rhizosphere. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, p. 1154-1164, 2012.

KOYAMA, A. *et al.* Soil bacterial community composition altered by increased nutrient availability in Arctic tundra soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 516, 2014.

KUMAR, A., PRAKASH, A., JOHRI, B.N. *Bacillus* as PGPR in Crop Ecosystem. *In*: MAHESHWARI D. **Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011.

KUMAR, P.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopatogens. **Microbiological Research**, v. 167, p. 493-499, 2012.

LADYGINA, N., HEDLUND, K. Plant species influence microbial diversity and carbon allocation in the rhizosphere. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 162-168, 2010.

LI, X. *et al.* Functional potential of soil microbial communities in the maize rhizosphere. **Plos One**, v. 9, n. 11, p. 1-9, 2014.

LOPES, Â. C. A. *et al.* Morphological Characterization and Study of Genetic Diversity in Lima Bean Accessions. *In*: FERREIRA, A.S.; LOPES, A.C.A.; GOMES, R.L. *Phaseolus lunatus*. Diversity, Growth and Production. 1.ed. New York: **Nova Science Publishers**, 2015.

MATSUBARA, M., ZÚÑIGA-DÁVILA, D. Phenotypic and molecular differences among rhizobia that nodulate *Phaseolus lunatus* in the Supe Valley in Peru. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 1803-1808, 2015.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, p. 634–663, 2013.

MENDES, L.W. *et al.* Influence of resistance breeding in common bean on rhizosphere microbiome composition and function. **The ISME Journal**, v. 12, p. 121-224, 2018a.

MENDES, L.W. *et al.* Breeding for soil-borne pathogen resistance impacts active rhizosphere microbiome of common bean. **The ISME Journal**, v. 12, p. 3038-3042, 2018b.

MICALLEF, S.A., SHIARIS, M.P., COLÓN-CARMONA, A. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p.1729-1742, 2009.

- MOTTA-ALDANA, J. R. *et al.* Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. **Crop Science**, v. 50, p. 1773-1787, 2010.
- NAVARRETE, A. A. *et al.* Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 108, p. 741-752, 2015.
- NOVELLO, G. *et al.* The rhizosphere bacterial microbiota of *Vitis vinifera* cv. pinot noir in an integrated pest management vineyard. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 1528, p. 1-11, 2017.
- OLIVEIROS, J.C. VENNY – An interactive tool for comparing lists of Venn Diagrams. Disponível em: <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>, 2007.
- PAN, Y. *et al.* Impact of long term N, P, K and NPK fertilization on the composition and potential functions of the bacterial community in grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 90, p. 195-205, 2014.
- PARKS, D.H., BEIKO, R.G. Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities. **Bioinformatics**, v. 26, p. 715-721, 2010.
- PÉREZ-JARAMILLO, J.E. *et al.* Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. **The ISME Journal**, v. 11, p. 2244-2257, 2017.
- PHILIPPOT, L. *et al.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Review Microbiology**, v. 11, p. 789–799, 2013.
- QIAO, Q., *et al.* The variation in the rhizosphere microbiome of cotton with soil type, genotype and developmental stage. **Scientific Reports**, v. 7, n. 3940, p. 1-10, 2017.
- QUAST, C. *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 4, p. 590-596, 2013.
- R Development Core Team. R: A Language and environment for statistical computing: Vienna, Austria. (<http://www.R-project.org>). 2007.
- RAIESI, T., HOSSEINPUR, A. R. Phosphorus availability and some biological properties in the bean (*Phaseolus vulgaris*) rhizosphere. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 48, p. 1-25, 2017.
- RICHARDSON, A. E. *et al.* Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 305-339, 2009.

SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação do Solo**. 5. ed., revista e ampliada - Brasília, DF : Embrapa, 2018.

SEVERINO, R. *et al.* High-quality draft genome sequence of *Gaiella occulta* isolated from a 150 m deep mineral water borehole and comparison with the genome sequences of other deep-branching lineages of the phylum Actinobacteria. **Microbiology Open**, v. 840, p. 1-8, 2019.

SHARMIN, F. *et al.* Firmicutes dominate the bacterial taxa within sugar-cane processing plants. **Scientific Reports**, v. 3, 3107, 2013.

SILVA, J. A. L.; NEVES, J. A. Produção de feijão-caupi semi-prostrado em cultivos de sequeiro e irrigado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, p. 29-36, 2011.

SUGIYAMA, A. *et al.* Changes in the Bacterial Community of Soybean Rhizospheres during Growth in the Field. **Plos One**, v. 9, n. 6, p. 1-9, 2014.

SUYAL, D. C. *et al.* Bacterial diversity and community structure of Western Indian Himalayan red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) rhizosphere as revealed by 16S rRNA gene sequences. **Biologia**, v. 70, p. 305-313, 2015.

SOUSA, A. M. C. B. **Predição de produtividade de grãos em variedades crioulas de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por redes neurais artificiais**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). 61p. 2019.

TORRES, A. R. *et al.* Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from the state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 852-856, 2009.

TRUJILLO, M. E.; HONG, K.; GENILLOUD, O. A família *Micromonosporaceae*. In: ROSENBERG E., DELONG EF, LORY S., STACKEBRANDT E., THOMPSON F. (eds) **The Prokaryotes**. Springer, 2014.

TSAVKELOVA, E. A. *et al.* Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives in Microbiology**, v.188, p. 655-664, 2007.

VALVERDE, A. *et al.* Specific microbial communities associate with the rhizosphere of *Welwitschia mirabilis*, a Living Fossil. **Plos One**, v. 11, n. 14, p. 1-11, 2016.

WANG, X. *et al.* Bacterial diversity and community structure in the rhizosphere of four *Ferula* species. **Scientific Reports**, v. 8, n. 5345, p. 1-10, 2018.

WANG, R. *et al.* Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak. **Scientific Reports**, v. 7, n. 343, p. 1-10, 2017.

WEISSKOPF, L. *et al.* Secretion activity of white lupin's cluster roots influences bacterial abundance, function and community structure. **Plant and Soil**, v. 268, p.181–194, 2005.

XIAO, S. *et al.* Rhizosphere and bulk soil enzyme activities in a *Nothofagus longibracteata* forest in the Tianbaoyan National Nature Reserve, Fujian Province, China. **Journal of Forest Research**, v. 28, n. 3, p. 521-528, 2017.

YANG, Y. *et al.* Comparisons of soil properties, enzyme activities and microbial communities in heavy metal contaminated bulk and rhizosphere soils of *Robinia pseudoacacia* L. in the northern foot of qinling ountain. **Forests**, v. 8, n. 430, p. 1-18, 2017.

ZANCARINI, A. Soil nitrogen availability and plant genotype modify the nutrition strategies of *M. truncatula* and the associated rhizosphere microbial communities. **Plos One**, v. 7, n. 47096, p. 1-10, 2012.

ZENG, M. *et al.* Deciphering the bacterial composition in the rhizosphere of *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek. **Scientific Reports**, v. 8, n. 15831, p. 1-11, 2018.

ZHANG, X., CHEN, Q., HAN, X. Soil bacterial communities respond to mowing and nutrient addition in a steppe ecosystem. **Plos One**, v. 8, n. 84210, p. 1-9, 2013.

ZHOU, Q. *et al.* The composition and assembly of bacterial communities across the rhizosphere and phyllosphere compartments of phragmites. **Australis Diversity**, v. 11, n. 98, p. 1-16, 2019.

ZOGG, G. P., TRAVIS, S. E., BRAZEAU, D. A. Strong associations between plant genotypes and bacterial communities in a natural salt marsh. **Ecology and Evolution**, v. 8, p. 4721-4730, 2018.

ANEXOS

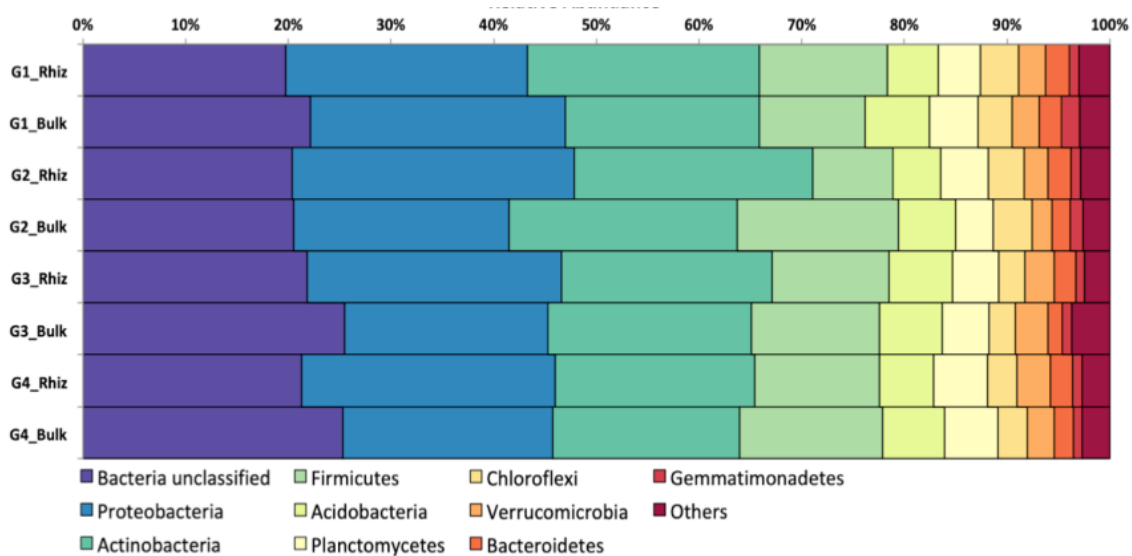


Figura suplementar: Abundância relativa dos táxons bacterianos encontrados no solo rizosférico e não rizosférico de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) baseados no gene 16S rRNA. Rhiz = solo rizosférico; bulk = solo não rizosférico; G1- genótipo 1 (UFPI-1244); G2- genótipo 2 (UFPI-944); G3- genótipo 3 (UFPI-990); G4- genótipo 4 (UFPI-1241).

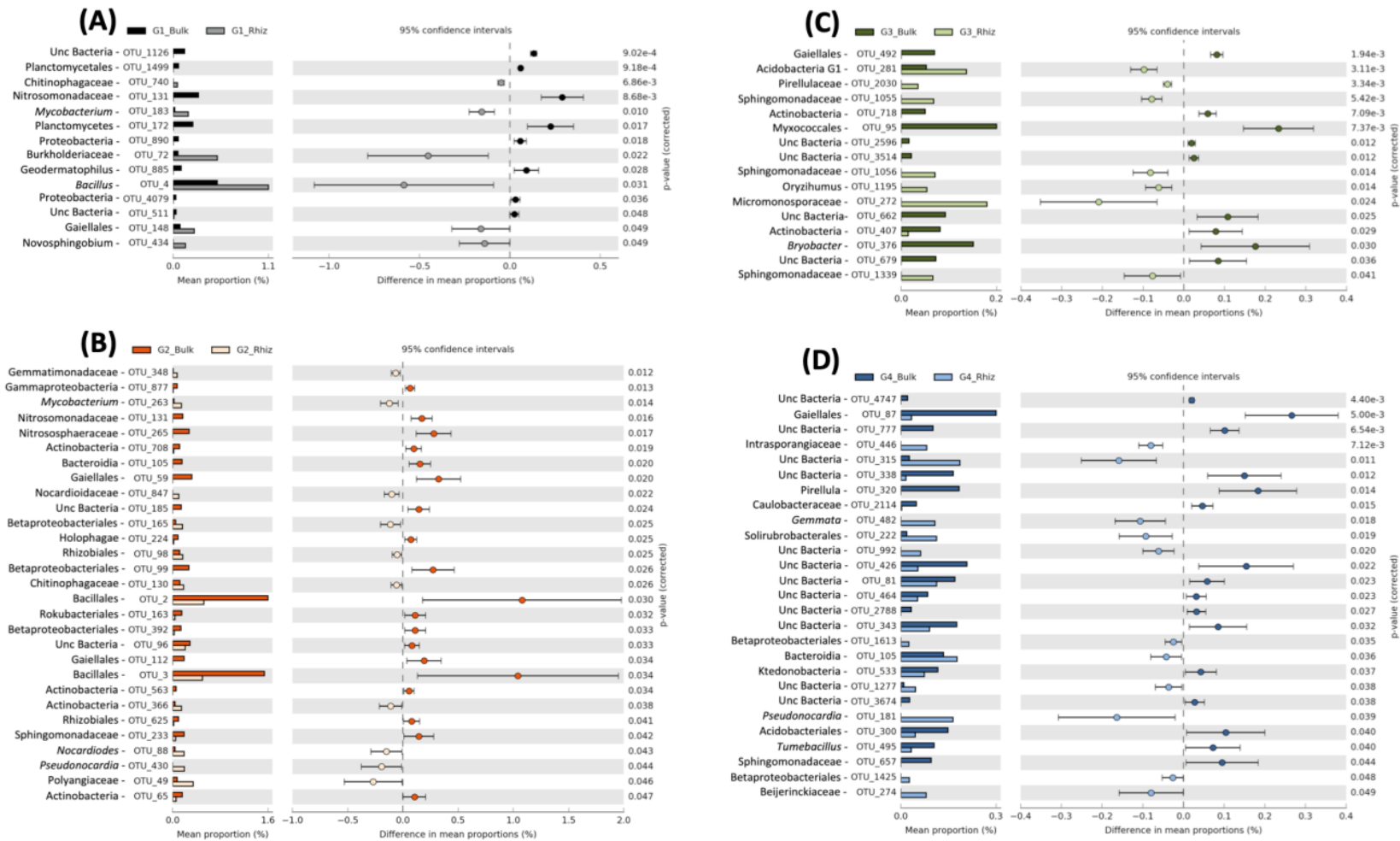


Figura 5: Distribuição dos grupos bacterianos mais diferenciados baseados em dados do gene 16S rRNA em amostras de solo rizosférico e não rizosférico dos genótipos dos acessos G1 (UFPI-1244); G2 (UFPI-944); G3 (UFPI-990); G4 (UFPI-1241) de feijão-fava.

Tabela 3- Lista de UTO's significativamente abundantes em um genótipo específico da rizosfera em comparação com os demais genótipos. Os valores de *P* foram calculados com base no teste t de Welch's, corrigido usando Benjamini-Hochberg FDR.

OTU	Filo	Ordem	Família	P-valor
G1 x Outros				
OTU_147	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	8.58E-5
OTU_138	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	5.18E-4
OTU_68	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	1.04E-3
OTU_417	Unc_Bacteria			2.86E-3
OTU_704	Acidobacteria			5.91E-3
OTU_262	Unc_Bacteria			0.015
OTU_188	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.015
OTU_206	Planctomycetes	Tepidisphaerales	WD2101soilgroup	0.019
OTU_240	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.023
OTU_148	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.030
OTU_100	Chloroflexi	unculturedbacterium	unculturedbacterium	0.033
OTU_234	Unc_Bacteria			0.044
OTU_192	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Gemmatimonadaceae	0.046
G2 x Outros				
OTU_179	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	2.61E-3
OTU_1026	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	3.82E-3
OTU_96	Unc_Bacteria			5.27E-3
OTU_304	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	5.69E-3
OTU_847	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.012
OTU_49	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.014
OTU_130	Bacteroidetes			0.017
OTU_258	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.024
OTU_430	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.038
OTU_366	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.042
OTU_808	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.044

OTU_299	Acidobacteria			0.046
G3 x Outros				
OTU_281	Acidobacteria			2.73E-5
OTU_2030	Planctomycetes	Tepidisphaerales	WD2101soilgroup	4.93E-5
OTU_1142	Unc_Bacteria			1.17E-4
OTU_1055	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	4.39E-4
OTU_667	Unc_Bacteria			4.79E-4
OTU_17	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	1.12E-3
OTU_1195	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	3.58E-3
OTU_121	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	4.14E-3
OTU_101	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	4.41E-3
OTU_700	Armatimonadetes	Chthonomonadales	unculturedbacterium	7.04E-3
OTU_1007	Acidobacteria			0.011
OTU_469	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.015
OTU_272	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.018
OTU_526	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.027
OTU_259	Unc_Bacteria			0.027
OTU_1339	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.027
OTU_65	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.028
OTU_105	Bacteroidetes			0.029
OTU_1703	Verrucomicrobia	Chthoniobacterales	Chthoniobacteraceae	0.032
OTU_1056	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.032
OTU_481	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.034
OTU_188	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.035
OTU_170	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.037
OTU_97	Verrucomicrobia	Chthoniobacterales	Chthoniobacteraceae	0.037
OTU_41	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.038
OTU_171	Planctomycetes	Tepidisphaerales	WD2101soilgroup	0.044
OTU_13	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.045

OTU_279	Unc_Bacteria			0.045
G4 x Outros				
OTU_268	Firmicutes	Bacillales		8.56E-5
OTU_235	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	2.20E-4
OTU_187	Verrucomicrobia	Chthoniobacterales	Chthoniobacteraceae	6.36E-4
OTU_315	Unc_Bacteria			7.10E-4
OTU_1277	Unc_Bacteria			8.61E-4
OTU_1084	Unc_Bacteria			1.96E-3
OTU_482	Planctomycetes	Tepidisphaerales	WD2101soilgroup	3.38E-3
OTU_533	Chloroflexi	unculturedbacterium	unculturedbacterium	9.92E-3
OTU_1898	Proteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	0.011
OTU_305	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.014
OTU_992	Unc_Bacteria			0.014
OTU_330	Unc_Bacteria			0.014
OTU_508	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.015
OTU_226	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.024
OTU_356	Unc_Bacteria			0.025
OTU_219	Unc_Bacteria			0.030
OTU_1027	Verrucomicrobia	Chthoniobacterales	Chthoniobacteraceae	0.031
OTU_491	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.035
OTU_253	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.035
OTU_718	Actinobacteria	Gaiellales	uncultured	0.038
OTU_1649	Planctomycetes	Tepidisphaerales	WD2101soilgroup	0.041
OTU_1450	Unc_Bacteria			0.043
OTU_364	Unc_Bacteria			0.044
OTU_343	Unc_Bacteria			0.045
OTU_451	Unc_Bacteria			0.046
OTU_464	Unc_Bacteria			0.049