

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DO SOLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA / SOLOS E NUTRIÇÃO DE
PLANTAS

DIAGNÓSTICO DA OCORRÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS SIMBIONTES EM
ÁREAS SOB PROCESSO DE DESERTIFICAÇÃO NO MUNICÍPIO DE IRAUÇUBA,
CEARÁ

ALDÊNIA MENDES MASCENA

FORTALEZA – CEARÁ
2015

Diagnóstico da ocorrência de micro-organismos simbiotes em áreas sob processo de
desertificação no município de Irauçuba, Ceará

ALDÊNIA MENDES MASCENA

DEZEMBRO - 2015
FORTALEZA-CEARÁ
BRASIL

Diagnóstico da ocorrência de micro-organismos simbiotes em áreas sob processo de desertificação no município de Irauçuba, Ceará

ALDÊNIA MENDES MASCENA

Orientador: Paulo Furtado Mendes Filho

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de plantas, da Universidade Federal do Ceará – UFC, como requisito para a obtenção do grau de Doutor.

DEZEMBRO - 2015
FORTALEZA – CEARÁ
BRASIL

Esta tese é parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Agronomia, Área de Concentração em Solos e Nutrição de Plantas outorgada pela a Universidade Federal do Ceará. Após a defesa uma via do presente estudo encontrar-se-á a disposição dos interessados na Biblioteca de Tecnologia da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta tese será permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

ALDÊNIA MENDES MASCENA

Tese defendida em: ____/____/____

Prof. Paulo Furtado Mendes Filho - Doutor
(Orientador)

Profª. Vânia Felipe Freire Gomes - Doutora
(Examinadora)

Profº. José Gerardo Beserra de Oliveira - Doutor
(Examinador)

Profº. Ricardo Luiz Lange Ness- Doutor
(Examinador)

Profº. Benedito de Brito Cardoso- Doutor
(Examinador)

Ficha catalográfica

Aos meus pais, Maria Mendes Mascena e Raimundo Mascena de Lima;

Aos meus irmãos Valdenio Mendes Mascena e Valdenia Mendes Mascena;

Ao meu esposo Cicero Lima de Almeida, amigo, companheiro e esposo que sempre esteve ao meu lado nas horas turbulentas incondicionalmente.

A minha filha Sofia Mendes Mascena de Almeida, razão da minha vida e esperança de uma nova geração, te amo filha, tu és um presente de Deus.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Universidade Federal do Ceará, de modo especial ao Departamento de Ciência do Solo, pelos conhecimentos transmitidos durante o curso;
- A FUNCAP, pela concessão de bolsa de estudo;
- Ao Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará pelo fornecimento das sementes de feijão-caupi;
- Ao orientador Paulo Furtado Mendes Filho, pela disponibilidade de orientação e colaboração na realização deste trabalho;
- A professora Vânia Felipe Freires Gomes, pela amizade e por disponibilidade em colaborar na realização da pesquisa;
- Ao Doutor José Gerardo Beserra de Oliveira pelas sugestões, contribuições e disponibilização das áreas de estudo;
- Aos professores das disciplinas cursadas, pelos conhecimentos transmitidos;
- Aos laboratoristas Geórgia e Fátima, pela amizade e colaboração nas análises laboratoriais;
- Aos amigos Everton, Emanuel, Junior Tupinambá, Mário, Caio, Jackson, Gildeam, Gildivan, Eudes, Narciso, Erivan, Adriana, Eliane, Virginia, Rute e Ítalo pelo agradável convívio e amizade;
- Às secretarias da Pós-Graduação e Graduação do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas (Edílson, Marilene e Andeson) pela atenção e carinho concedido durante o doutorado;
- Aos servidores técnico-administrativos da UFC, especialmente do Departamento de Ciências do Solo e da FUCEME (Tavares e Antônio José), pelo convívio e ajuda no laboratório;
- A Dona Elena pelo carinho e atenção com todos no laboratório de Microbiologia do Solo;
- E finalmente a todos que, direta e indiretamente, contribuíram com o seu apoio indispensável para a realização desta tese;
- A Deus, pelas bênçãos derramadas em todos os dias da minha vida;
- A contribuição de cada um foi especial e de grande valor para subir mais um degrau na minha vida; Muito Obrigada!

RESUMO

A degradação do solo resultante de práticas não conservacionistas pode acarretar prejuízos irreparáveis às propriedades químicas e biológicas do solo de regiões semiáridas do nordeste brasileiro. O objetivo do trabalho foi avaliar alguns atributos químicos do solo, a densidade populacional de rizóbios nativos, isolar e testar estirpes eficientes na fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico no feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e em sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), além da densidade de fungos micorrizicos arbusculares e respiração basal do solo em quatro áreas de exclusão (preservadas desde o ano de 2000) e de superpastejo (pecuária extensiva) inseridas no município de Irauçuba-CE. Foram utilizadas quatro áreas de exclusão de animais e de superpastejo (adjacentes às áreas de exclusão), sendo coletadas amostras de solos na profundidade de 0 a 20 cm para analisar alguns atributos químicos (pH, CE, C, N, C/N, MO, e P assimilável) e microbiológicos do solo (a densidade de esporos nativos de fungos micorrizico arbusculares e respiração basal do solo). Também foi avaliada a densidade de rizóbios nativos, além do isolamento e teste das estirpes nativas quanto a eficiência na fixação biológica do nitrogênio atmosférico. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Microbiologia do Solo pertencente ao Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal do Ceará. Para os testes de eficiência na fixação simbiótica de nitrogênio atmosférico das estirpes nativas isoladas das quatro áreas foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições. Na área 1 foram adotados nove tratamentos e quatro repetições, sendo um controle com adição de nitrogênio mineral (+N-R) e um com omissão de nitrogênio mineral e ausência de inoculação C(-N-R); na área 3 foram adotados oito tratamentos e quatro repetições, sendo um controle com adição de nitrogênio mineral (+N-R) e um com omissão de nitrogênio mineral e ausência de inoculação C(-N-R); na área 4 o teste foi composto de seis tratamentos e quatro repetições, sendo um controle com adição de nitrogênio mineral (+N-R) e um com omissão de nitrogênio mineral e ausência de inoculação C(-N-R); na área 5 o teste foi constituído de quatro tratamentos e quatro repetições, sendo um controle com adição de nitrogênio mineral (+N-R) e um com omissão de nitrogênio mineral e ausência de inoculação C(-N-R). Os tratamentos diferenciados das quatro áreas foram estabelecidos de acordo com o total de estirpes isoladas e autenticadas de cada área de estudo. As atuais práticas de manejo do solo empregadas nas áreas de exclusão de animais (pousio) favoreceram a presença de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares no solo em decorrência da preservação da

vegetação e da conservação da camada superficial do solo. As estirpes de rizóbios nativas isoladas e testadas das Áreas 1 e 5 estabeleceram simbiose com o feijão-caupi, demonstrando uma eficiência fixadora do N_2 razoável, podendo ser utilizadas em futuros ensaios de competição. Evidencia-se a necessidade de que mais estudos em relação às propriedades químicas e biológicas dos solos de Irauçuba-CE sejam realizadas, para que se possa buscar alternativas para a redução dos efeitos negativos do processo de degradação observados nas áreas em estudo.

Palavras-chave: Solo. Semiárido. Degradação. Estirpes. Feijão-caupi.

ABSTRACT

The degradation of the soil resulting from conservation practices can cause irreparable damage to chemical and biological properties of the soil of semiarid regions of northeastern Brazil. The objective was to evaluate the soil chemical attributes, the population density of rhizobia, to isolate and test effective strains for symbiotic fixation of atmospheric nitrogen capacity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) and sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.), besides the density of arbuscular mycorrhizal fungi density and basal soil respiration in four exclusion areas (preserved since the year 2000) and overgrazing (extensive livestock) inserted in the municipality of Irauçuba/Ceará/Brazil. Four areas of animal exclusion and overgrazing (adjacent to the exclusion areas) were studied, with soil samples being collected in the 0 to 20 cm profile to analyze the chemical attributes (pH, CE, C, N, C/N, MO and assimilable P) and microbiological attributes (density of native arbuscular mycorrhizal fungi spores and basal soil respiration). The density of viable rhizobia cells was also evaluated in addition to the isolation and testing of native strains for the efficiency of fixing atmospheric nitrogen. The experiments were conducted in a greenhouse and in soil microbiology laboratories located at the Department of Soil Sciences, Federal University of Ceará. For efficiency tests on symbiotic fixation of atmospheric nitrogen native strains isolated from four areas a completely randomized design with four replications was adopted. In area 1 nine treatments and four replications were adopted, with a control with the addition of mineral nitrogen (+N-R) and with mineral nitrogen omission and no inoculation C(-N-R); in area 3 eight treatments and four replications were adopted, with a control with the addition of mineral nitrogen (+N-R) and with mineral nitrogen omission and no inoculation C(-N-R); in area 4 the test consisted of six treatments and four replications, with a control with the addition of mineral nitrogen (+N-R) and with mineral nitrogen omission and no inoculation C(-N-R); in area 5 the test was performed with four treatments and four replications and a control with the addition of mineral nitrogen (+N-R) and with mineral nitrogen omission and no inoculation C(-N-R). The differentiated treatments of the four areas were established according to the total number of isolated and authenticated strains of each study area. The current soil management practices employed in the areas of exclusion of animals (fallow) favored the presence of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil due to the preservation of vegetation and conservation of topsoil. The native rhizobia strains isolated and tested from the Areas 1 and 5 established symbiosis with the cowpea, demonstrated a

reasonable fixing efficiency of N₂ and could be expected to be useful for future field trials. It is important to highlight the need for carrying out more studies on the chemical and biological properties of soils from Irauçuba/Ceará/Brazil, so that we can find alternatives for reducing the negative effects of the degradation process observed in the areas under study.

Keywords: Soil. Semiarid. Degraded land. Rhizobia strains. Cowpea. AMF.

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Tempo de uso, sistema de produção, localização e vegetação predominante em áreas de exclusão de animais. Irauçuba – CE.....	25
Tabela 2. Classificação do solo nas áreas de exclusão de animais. Irauçuba – CE.	25
Tabela 3. Tratamentos utilizados para experimentos de eficiência fixadora de nitrogênio das estirpes isoladas das áreas em estudo, em plantas de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.).	40
Tabela 4. Tratamentos utilizados no experimento de eficiência fixadora de nitrogênio em plantas de sabiá.....	42
Tabela 5. Características químicas dos solos em áreas de exclusão de animais e de superpastejo. Irauçuba – CE.....	46
Tabela 6. Densidade de células viáveis rizobianas em áreas de exclusão de animais e de superpastejo. Irauçuba-CE.	49
Tabela 7. Número de estirpes rizobianas autenticadas em associação ao feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE.	52
Tabela 8. Caracterização morfológica de estirpes autenticadas de rizóbios em associação com feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE.	55
Tabela 9. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Aroeira, Irauçuba – CE.....	57
Tabela 10. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Formigueira, Irauçuba – CE.	59

Tabela 11. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba – CE. 61

Tabela 12. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba – CE. 62

Tabela 13. Densidades de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em 100 g de solo das áreas de exclusão de animais e superpastejo do município de Irauçuba-CE. 65

Tabela 14. Médias da produção de C-CO₂ microbiano em amostras de solo em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE. 67

LISTA DE FIGURA

- Figura 1. Áreas de Exclusão de animais e Superpastejo no município de Irauçuba – CE. 1A e 1B (área de superpastejo no período de estiagem); 1C e 1D (área de exclusão de animais no período chuvoso). 23
- Figura 2. Coleta de solo em áreas de exclusão de animais e superpastejo (adjacentes) na profundidade de 0-20 cm, no município de Irauçuba-CE. 2A (área de exclusão de animais); 2B e 2C (coleta de solo na área de exclusão) e 2D (área de superpastejo). 35
- Figura 3. Células rizobianas viáveis na área 1 de exclusão (preservada do ano 2000) no município de Irauçuba-CE, (aumento de 1000 x). 50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	HIPOTESES.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	O Semiárido e o Uso Intensivo do Solo pelo Superpastejo	18
3.2	O Município de Irauçuba - CE.....	20
3.3	Caracterização das Áreas Avaliadas no Município de Irauçuba-CE.....	22
3.4	Utilização de leguminosas na recuperação de áreas degradadas	25
3.5	Importância e Caracterização do Sabiá (<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth.).....	27
3.6	Importância e Caracterização do Feijão-Caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.).....	29
3.7	Importância da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN).....	30
3.8	Importância dos Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA).....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Localização e Coleta do Solo.....	35
4.2	Instalação e Condução dos Experimentos	36
4.2.1	Experimento I - Avaliação da densidade de estirpes nativas de rizóbios para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	36
4.2.2	Experimento II - Isolamento e caracterização morfológica de estirpes nativas de rizóbio para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	37
4.2.3	Experimento III - Autenticação das estirpes de rizóbios nativos em feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	38
4.2.4	Experimento IV - Eficiência fixadora de estirpes nativas de rizóbios selecionadas em plantas feijão-caupi em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba - CE.....	39
4.2.5	Experimento V - Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico das estirpes selecionadas com feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) e inoculadas em plantas de sabiá (<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth.).....	41
4.2.6	Experimento VI - Estudo da diversidade de Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	43
4.2.7	Respiração Basal do Solo (RBS) nas áreas de exclusões de animais e de superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	44

4.3	Análises Estatísticas.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Análises químicas dos solos amostrados nas áreas de exclusões de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	46
5.2	Densidade de estirpes nativas de rizóbios para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	49
5.3	Isolamento e autenticação de estirpes nativas de rizóbio para feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.....	51
5.4	Caracterização Morfológica de Estirpes Autenticadas de Rizóbios em Áreas de Exclusão e Superpastejo do Município de Irauçuba - CE.....	54
5.5	Eficiência Fixadora de Estirpes Nativas de Rizóbios Seleccionadas em Plantas Feijão-Caupi em Áreas de Exclusão de Animais e Superpastejo no Município de Irauçuba - CE... ..	56
5.5.1	Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes de rizóbias isoladas da Área 1 - Fazenda Aroeira - Irauçuba – CE	56
5.5.2	Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizobianas isoladas Área 3 - Fazenda Formigueiro - Irauçuba - CE.....	59
5.5.3	Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizóbias isoladas da Área 4 - Fazenda Cacimba Salgada - Irauçuba - CE.....	60
5.5.4	Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizobianas isoladas da Área 5 - Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba - CE.....	62
5.5.5	Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes seleccionadas com feijão-caupi e inoculadas em plantas de sabiá (<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth.).....	63
5.6	Estudo da Diversidade de Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA) em Áreas de Exclusão de Animais e Superpastejo.....	64
5.7	Respirometria Basal do Solo (RBS) nas Áreas de Exclusões de Animais e de Superpastejo, Irauçuba-CE.....	67
6	CONCLUSÕES.....	69
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1 INTRODUÇÃO

Os pesquisadores na área de microbiologia do solo cada vez mais vêm buscando alternativas biotecnológicas para o uso de micro-organismos na produção agrícola e na recuperação de áreas degradadas no mundo inteiro, tentando entender a complexidade dos sistemas biológicos envolvendo solo-planta-micro-organismos e suas aplicações na agricultura.

Dentre os sistemas biológicos simbióticos envolvendo plantas e micro-organismos, temos duas simbioses de grande valor econômico e ecológico para agricultura: a primeira é a associação leguminosa-rizóbio, já bastante estudada e empregada na agricultura (principalmente no cultivo de soja e na recuperação de áreas sob processo de degradação); a segunda é a associação mutualística envolvendo planta-fungo micorrízico arbuscular (FMA).

Na associação leguminosa-rizóbio, o nitrogênio atmosférico (N_2) é fixado e disponibilizado sob forma de amônio (NH_4^+) para as plantas. Por sua vez, na associação planta-fungo micorrízico arbuscular, há uma maior exploração da rizosfera devido a produção de micélios e hifas desenvolvidas pelos fungos e, por consequência, favorecendo o aumento na absorção de água e nutrientes pelas plantas. O fósforo (P) é o nutriente mais absorvido nesta associação, beneficiando-se do micélio e hifas especializadas dos fungos que conseguem ir além da zona de depleção desse elemento no solo.

No Brasil as leguminosas estão entre as plantas mais cultivadas, pois fornecem nutrientes para o consumo humano e animal, é uma fonte de renda para os agricultores, além de serem importantes na reabilitação de áreas degradadas por causa da sua capacidade de estabelecer relações simbióticas mutualísticas com bactérias dos gêneros *Rhizobium/Bradyrhizobium* (capazes de fixar o nitrogênio atmosférico- N_2) e com fungos micorrízicos arbusculares simultaneamente.

Apesar das vantagens decorrentes da relação com esses micro-organismos edáficos, sabe-se que o solo é um ambiente dinâmico e complexo, sendo afetado por práticas agrícolas e fatores ambientais tais como disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, umidade, entre outros fatores, os quais influenciam no crescimento, desenvolvimento, sobrevivência e atividade metabólica tanto dos micro-organismos como das plantas.

As ações da atividade pecuarista, bem como as práticas da agricultura extensiva, representam os fatores mais impactantes no processo de degradação do ambiente no município de Irauçuba-CE. As tentativas de reabilitação dos solos degradados nessas áreas

têm buscado isolar áreas ao acesso de animais para avaliar, inicialmente, o processo de regeneração da atividade biológica do solo e da vegetação de forma natural. Entretanto, as informações sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio e dos fungos micorrízicos arbusculares são escassas nos solos de Irauçuba-CE, tornando-se difícil a compreensão da importância da riqueza dessas bactérias e fungos para a funcionalidade dos ecossistemas e a reabilitação dessas áreas de forma natural.

Nesse contexto, esta pesquisa teve por objetivo isolar, quantificar e avaliar o desempenho de rizóbios nativos da região de Irauçuba-CE em áreas de exclusão e superpastejo em associação simbiótica com feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*), como também estudar alguns atributos químicos (pH, condutividade elétrica, carbono, nitrogênio, relação carbono/nitrogênio e matéria orgânica) e microbiológicos do solo (respiração basal do solo e densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares). Estas duas leguminosas (feijão-caupi e sabiá) foram escolhidas por causa da sua rusticidade, valor econômico e capacidade biológica em realizar associação simultânea simbiótica micorrízica e com rizóbios, as quais proporcionam uma maior capacidade de adaptação e tolerância das plantas em ambientes críticos.

O uso desses micro-organismos simbióticos em associação com essas espécies de leguminosas pode proporcionar uma maior capacidade de estabelecimento, com um melhor aproveitamento dos nutrientes no sistema solo-planta-atmosfera e uma maior contribuição para o aporte de matéria orgânica ao solo dessas áreas.

2 HIPÓTESES

As atuais práticas de manejo (exclusão e superpastejo) do solo utilizadas no município de Irauçuba-CE podem afetar as populações microbianas simbiotes.

As estirpes rizobianas nativas das áreas do município de Irauçuba-CE isoladas e testada em relação a fixação biológica do nitrogênio em feijão-caupi, são também capazes de associação simbiótica com plantas sabiá.

As estirpes rizobianas nativas das áreas do município de Irauçuba-CE são eficientes na fixação biológica do nitrogênio, especialmente para feijão-caupi.

As práticas de manejo do solo empregadas nas áreas de superpastejo diminuem a densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade de espécies.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O Semiárido e o Uso Intensivo do Solo pelo Superpastejo

O semiárido Nordeste brasileiro corresponde aproximadamente a 1 milhão de km² com uma população de cerca de 20 milhões de habitantes (SAMPAIO; ARAÚJO; SAMPAIO, 2005), sendo uma região caracterizada por apresentar altas temperaturas, baixa pluviosidade, solos poucos intemperizados (pouco profundos) e pequena produção de biomassa vegetal em virtude das características da vegetação nativa. Além dessas condições edafoclimáticas desfavoráveis, observa-se a adoção de sistemas agrícolas intensivos, como o desmatamento para atividades agrosilvopastoris de grandes áreas do bioma caatinga (AGUIAR *et al.*, 2006).

Coelho *et al.* (2014) em seus estudos descrevem que as mudanças no uso e ocupação dos recursos naturais (solo, vegetação e água) provocadas pelas interferências antrópicas têm gerado impactos negativos no ecossistema, pois com o crescimento de áreas exploradas com pastagens, a vegetação nativa do semiárido é substituída por uma paisagem devastada, heterogênea e fragmentada, podendo influenciar a disponibilidade e a qualidade dos recursos naturais, além de afetar a biodiversidade das áreas por ocasião da exploração intensa dos recursos.

A degradação destas áreas ocorre principalmente devido ao desmatamento e substituição da vegetação arbustiva e arbórea do bioma caatinga, predominante no semiárido, por pastagens ou culturas (milho, feijão e fava) de ciclo rápido. O cultivo continuado, com a retirada da produção agrícola e sem adição de nutrientes ao solo, retirados pelas culturas, leva à perda da fertilidade, que conseqüentemente ocasiona uma queda na produção agrícola. Outro problema averiguado é que a retirada da vegetação presente no solo favorece os processos erosivos (desagregação, transporte e deposição) pelos seus principais agentes causadores (água e vento) nessas áreas (SAMPAIO; ARAÚJO; SAMPAIO, 2005).

A degradação das pastagens tornou-se um dos principais sinais da baixa sustentabilidade da pecuária nas diferentes regiões brasileiras, principalmente devido ao manejo inadequado do rebanho. Fogel *et al.* (2013) comentam que o sistema extrativista adotado na maioria destas áreas está ocasionando uma má utilização dos recursos naturais (solo, vegetação e água), em que o solo é o mais afetado devido à ausência da reposição de nutrientes e a diminuição da matéria orgânica. Balbino *et al.* (2009), Aidar; Kluthcouski (2003) mencionam que entre os principais problemas da pecuária brasileira está a degradação das pastagens e do solo; a baixa reposição de nutrientes e os impedimentos físicos do solo; os

baixos investimentos tecnológicos e o manejo inadequado do rebanho (quantidades excessivas de animais nas áreas). Neste sentido, PROFFITT; JARVIS; BENDOTTI (1997) afirmam que o superpastejo pode ocasionar alterações nas propriedades físicas do solo como, por exemplo, a compactação e a desagregação provocada pelo pisoteio excessivo de animais durante a sua alimentação.

A ação antrópica sobre os ecossistemas do semiárido nordestino se manifesta na exploração de três atividades: agricultura, pecuária e extração de madeira, as quais são exploradas de forma intensa, afetando diretamente os recursos naturais renováveis da caatinga, sendo que na pecuária predomina o superpastejo das áreas por animais de médio e grande porte (ARAÚJO FILHO *et al.*, 2007).

O superpastejo, ou seja, o número excessivo de animais (bovinos e caprinos) nas áreas em relação à quantidade de forragem existente prejudica o equilíbrio entre a ciclagem de nutrientes acumulados nos resíduos vegetais e o crescimento das plantas, tendo em vista que os nutrientes da forragem não consumida que permanece na superfície do solo são reaproveitados pelas plantas forrageiras, como fonte de nutrientes após a sua senescência e decomposição pelos organismos edáficos. A degradação das pastagens no semiárido é um dos maiores problemas da pecuária, pois estima-se que grande parte das pastagens cultivadas encontra-se em algum estágio de degradação (BEZERRA *et al.*, 2009) devido ao uso intenso da vegetação e do solo.

De acordo com Araújo Filho (2013), a capacidade de suporte para bovinos no bioma caatinga é de 10-12 ha/animal/ano, com a produção anual de 8 kg de peso vivo animal por hectare, tendo em vista que, atualmente, a carga de animais nesse sistema varia em torno de 4,6 ha/bovino/ano. Estudos realizados por Rodrigues (2006); Yong-Zhong *et al.* (2005); Araújo Filho (2013) apontaram que as principais causas da vulnerabilidade à desertificação podem ser atribuídas ao superpastejo das áreas resultante de uma carga excessiva de ovinos e caprinos no sistema. Bezerra *et al.* (2009) mostraram que os estados da região Nordeste são os que apresentam maiores níveis de superpastejo por ovinocaprinocultura.

Araújo Filho (2013) afirma que o regime de criação de bovinos, caprinos e ovinos é predominantemente extensivo, baseado em condições de superpastejo das áreas trabalhadas, sendo que a vegetação nativa do bioma caatinga é muitas vezes a principal fonte de alimento para os rebanhos gerando um impacto negativo no sistema de criação com a redução da capacidade de suporte do solo.

Os rebanhos de ovinos e caprinos, ao contrário dos bovinos, ao se alimentarem atingem as raízes das plantas impedindo o rebrotamento, a frutificação e a produção de um

banco de sementes no solo para a perpetuação das espécies na área. A longo prazo as consequências desse processo pode levar à “extinção” das gramíneas e destruição da cobertura vegetal e, conseqüentemente, à erosão do solo, lixiviação e a desertificação das áreas (RODRIGUES, 2006).

No Estado do Ceará, o município de Irauçuba, inserido na região semiárida e núcleo de desertificação, é cenário desses impactos negativos, pois a pecuária extensiva é praticada predominante nessa região sendo, em decorrência da retirada excessiva da vegetação das áreas pelos animais, uma das principais causas da desertificação no município. Muitos estudos realizados nos solos de Irauçuba têm relatado o efeito negativo do superpastejo nessas áreas semiáridas (KOTZÉ *et al.*, 2013; CONCOSTRINA-ZUBIRI *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2013; YONG-ZHONG *et al.*, 2005).

A retirada da cobertura do solo para a implantação e estabelecimento de sistemas agrícolas em regiões de clima árido e semiárido, como o município de Irauçuba, leva a uma diminuição no aporte de matéria orgânica depositada no solo pela vegetação e, com isso, ocorrerá uma diminuição dos nutrientes no solo, resultando em diversos impactos negativos (enfraquecimento da vegetação, desagregação e empobrecimento do solo e diminuição da biodiversidade edáfica). De acordo com Bayer; Mielniczuk (2008) o conteúdo de matéria orgânica do solo encontra-se estável sob vegetação natural, ou seja, nesse sistema não ocorre uma degradação acelerada do conteúdo orgânico do solo pois as condições de revolvimento do solo em sistemas naturais são mínimas, ao contrário do que ocorre nas áreas de superpastejo.

3.2 O Município de Irauçuba - CE

O município de Irauçuba-CE possui um território de 1.451 Km², com uma população de 22,3 mil habitantes, o qual está localizado ao Norte do Ceará, com média de precipitação anual de 518 mm e temperaturas médias de 28°C Dias, (1998); IBGE, (2012). O município caracteriza-se por apresentar um clima Tropical Quente Semiárido e solo geralmente raso e pouco profundo, pobre em nutrientes e com características físicas e morfológicas favoráveis à erosão (IPECE, 2011).

O bioma Caatinga é predominante nesse município (LANDIM; SILVA; ALMEIDA, 2011) sendo formado por uma vegetação arbustiva e espinhenta, na qual a maioria das árvores perde suas folhas nos períodos de estiagem, deixando de proteger o solo dos raios solares e do vento proporcionando, assim, uma menor proteção ao solo e favorecendo os processos de erosão (FOLHA EDUCATIVA DE IRAUÇUBA, 2009).

As principais atividades econômicas do município de Irauçuba-CE são a pecuária extensiva e a agricultura, que aliadas ao clima semiárido e a ausência de práticas conservacionistas, proporcionam uma menor proteção ao solo e uma perda na diversidade microbiana por causa da redução no conteúdo da matéria orgânica do solo. De acordo com o IBGE (2012), atualmente o rebanho efetivo de gado bovino e ovinocaprino é de 22.588 e 37.887 cabeças, respectivamente, exercendo uma forte pressão de pastejo sobre as áreas de pastagem, pois na maioria das vezes configura-se nessas áreas uma lotação excessiva de animais. Em relação à produção agrícola de grãos o município destaca-se no cultivo de feijão, mamona e milho, sendo as culturas do feijão e milho as mais cultivadas (IBGE, 2012).

O município é marcado por elevados índices de pobreza humana, sendo o primeiro município do País a ter seu Plano de Ação Municipal de Combate à Desertificação, apresentado em Junho de 2009. É considerado um dos locais mais degradados do estado do Ceará, caracterizando-se como um núcleo de desertificação, para essa caracterização foram evidenciados diversos fatores indicativos, como degradação desordenada da vegetação nativa, pastoreio excessivo, empobrecimento da biodiversidade, comprometimento da produtividade do solo, erosão da camada superficial do solo, dentre outros (PAM/IRAUÇUBA, 2009).

O Núcleo de desertificação de Irauçuba-CE, localiza-se no noroeste do Estado do Ceará abrangendo uma área de 4.000 km² incluindo os municípios de Irauçuba, Forquilha e Sobral (LANDIM, SILVA; ALMEIDA, 2011). Os setores mais degradados dessa região compõem-se de extensas áreas de pastagens nativas (gramíneas e herbáceas anuais) que no período chuvoso transformam a paisagem em campos extensivos, embora no período de estiagem apresente a maior parte dos solos sem cobertura vegetal (SALES; OLIVEIRA, 2006), período esse que a flora encontra-se enfraquecida pelos adversos fatores ambientais (baixa precipitação e altas temperaturas) característicos da região.

O município de Irauçuba-CE é indicado como um dos mais importantes núcleos de desertificação, sendo alvo de vários estudos dentre os quais destacam-se Sousa (2009), que estudou a degradação do solo por atividades agropastoris em áreas sob processo de desertificação; Cunha Filha (2011), que avaliou os efeitos da aplicação de tortas de pinhão manso e mamona no crescimento do feijão-caupi e nas propriedades químicas e biológica de um solo degradado, e Almeida; Oliveira; Araújo (2012), que estudaram o impacto da recuperação de área degradada sobre as respostas hidrológicas e sedimentológicas em Irauçuba-CE.

Alencar *et al.* (2012) relatam em seus estudos que as condições atuais de uso e ocupação do solo do município de Irauçuba-CE têm ocorrido de maneira indiscriminada,

produzindo impactos ambientais causadores de diminuição da biodiversidade local, assoreamento dos rios, perdas por erosão das camadas superficiais do solo, compactação do solo devido ao superpastejo do gado bovino e ovinocaprino, e a eliminação da vegetação presente nas áreas.

O uso indiscriminado dessas áreas ocasiona uma desestruturação do solo, o que leva à alteração das principais propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, principalmente por falta de proteção da camada superficial e consequente perda da biodiversidade. De acordo com Araújo Filho *et al.* (2007), a degradação do solo está geralmente associada a inexistência de práticas conservacionistas na agricultura e à perda da fertilidade e da matéria orgânica do solo, podendo afetar em longo prazo a manutenção da produtividade agropecuária.

Outro aspecto importante a ser ressaltado é que a degradação da vegetação pode proporcionar um desequilíbrio da população microbiana do solo, comprometendo por longo período de tempo todo o ecossistema, o que provavelmente está ocorrendo nessas áreas do município de Irauçuba-CE. Schneider *et al.* (2012) descrevem que a população microbiana do solo em condições naturais é elevada e sua redução pode ser sinônimo de desequilíbrio ecológico, causado principalmente por ações antrópicas. Moreira *et al.* (2010) reforçam que a perda da diversidade de espécies de micro-organismos do solo pode alterar a estrutura populacional de outros organismos situados ao longo da cadeia trópica.

Processos fundamentais envolvendo os ciclos biogeoquímicos como a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes podem sofrer impactos por causa do uso intensivo do solo, impondo aos sistemas agrícolas uma maior dependência ao uso de fertilizantes minerais. Nesse contexto, o conhecimento da biodiversidade das populações microbianas presentes no solo nessas áreas de Irauçuba-CE podem auxiliar na compreensão de como as intervenções antrópicas no ambiente podem estar influenciando na funcionalidade desses micro-organismos no sistema solo. Isso é importante, pois pouco se conhece sobre a diversidade, densidade e funcionalidade das espécies rizobianas e de fungos micorrizicos arbusculares nessas áreas mais críticas do município de Irauçuba-CE, as quais já se caracterizam em processo de degradação.

3.3 Caracterização das Áreas Avaliadas no Município de Irauçuba-CE.

A pesquisa foi desenvolvida na área experimental do projeto “Estudos dos processos de Degradação/Desertificação e suas relações com o uso da terra em Sistemas de Produção no Semi-árido cearense, em uma região identificada como um dos núcleos de Degradação/Desertificação do semi-árido brasileiro”.

Foram utilizadas as áreas de exclusão de animais doméstico, cercadas no primeiro semestre do ano 2000 com nove fios de arame farpado e estaqueadas a cada metro, conforme mostra a Figura 1, para evitar a entrada de animais domésticos (gado e ovinocaprino), nas quais foram avaliadas em relação a regeneração de forma natural (SOUSA, 2009). São quatro áreas cercadas (exclusão) com 0,25 hectares cada e suas adjacências (superpastejo) que permanecem em condições de superpastejo.

Figura 1. Áreas de Exclusão de animais e Superpastejo no município de Irauçuba – CE. 1A e 1B (área de superpastejo no período de estiagem); 1C e 1D (área de exclusão de animais no período chuvoso).

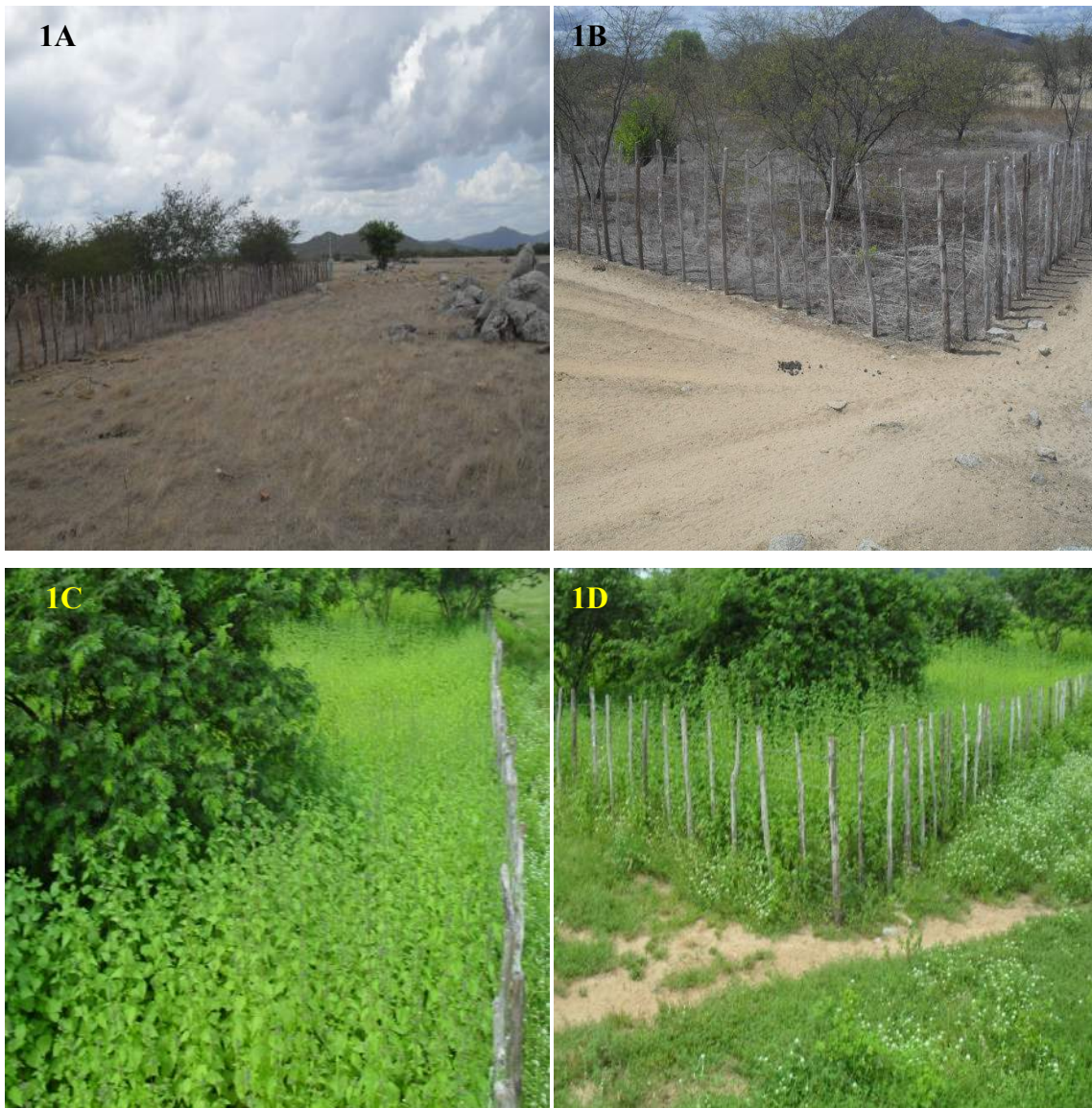


Foto: Almeida, 2012.

Nessas áreas estão sendo avaliada a regeneração da diversidade da vegetação e do solo de forma natural ao longo de 20 anos. Ao todo são sete áreas cercadas (exclusão) com 0,25 hectares cada e suas adjacências (superpastejo), que permanecem em condições intensas de superpastejo. No presente estudo somente quatro áreas (01, 03, 04 e 05) foram selecionadas (Figura 1A, 1B, 1C e 1D).

O solo das áreas de superpastejo no período de estiagem (Figura 1A e 1B) permanece totalmente exposto em consequência do manejo intenso e da exaustão dos recursos vegetais, ocasionados principalmente pela presença de animais nas áreas. O consumo frequente e intenso da vegetação e serapilheira (folhas, galhos e raízes) promove a exposição do solo especialmente no período de baixa precipitação, pois a vegetação da caatinga encontra-se naturalmente enfraquecida e por a ausência de um manejo conservacionista do solo e vegetação.

A exposição do solo nessas áreas de superpastejo proporciona o carreamento da camada superficial pelos agentes erosivos (chuva e vento), ocasionando um desgaste e empobrecimento do solo. Segundo Araújo Filho (2013) a permanência da cobertura do solo e sua manutenção são fundamentais para o controle dos processos erosivos (desagregação, transporte e deposição), pois a biomassa vegetal intercepta a água da chuva, além de melhorar a infiltração e retenção de água no solo, ocasionando também o aumento da porosidade através da ação do sistema radicular.

Em relação a flora presentes nas áreas de exclusão (Figura 1C) ocorre a predominância de caatinga arbustiva, formada por uma vegetação de árvores de pequeno porte sobre um extrato herbáceo, com predominância de jurema-preta (FOLHA EDUCATIVA DE IRAUÇUBA, 2009). As características relacionadas ao manejo e localização dessas áreas estão contidas na Tabela 1, de acordo com Sousa (2009).

Tabela 1. Tempo de uso, sistema de produção, localização e vegetação predominante em áreas de exclusão de animais. Irauçuba – CE.

Área	Preservadas	Sistema de produção	Localização	Coordenadas	Vegetação
1	Preservadas desde o ano de 2000	Pecuária Extensiva (superpastejo)	Fazenda Aroeira	03°47'22''S 30°47'53''W	Caatinga arbustiva/predominância de jurema-preta
3	Preservadas desde o ano de 2000	Pecuária Extensiva (superpastejo)	Fazenda Formigueiro	03°46'50''S 39°49'49''W	Caatinga arbustiva/predominância de jurema-preta
4	Preservadas desde o ano de 2000	Pecuária Extensiva (superpastejo)	Fazenda Cacimba Salgada	03°46'39''S 39°49'49''W	Caatinga arbustiva/predominância de jurema-preta
5	Preservadas desde o ano de 2000	Pecuária Extensiva (superpastejo)	Fazenda Cacimba Salgada	03°46'15''S 39°49'51''W	Caatinga arbustiva/predominância de jurema-preta

Fonte: Adaptado de Souza (2009)

Os solos das áreas estudadas são pouco intemperizados (jovens) e com estruturas bem definidas. Suas principais características morfológicas, conforme perfis estudados nas áreas de exclusão por Sousa (2009) estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação do solo nas áreas de exclusão de animais. Irauçuba – CE.

Áreas	Tipos de solos
1 - Fazenda Aroeira	Planossolo Nátrico Órtigo Vertissóloco A Fraco;
2 - Fazenda Formigueiro	Planossolo Nátrico Órtigo Vertissóloco A Fraco;
4 - Fazenda Cacimba Salgada	Neossolo Litólico Eutrófico Fragmetário, A Fraco;
5 - Fazenda Cacimba Salgada	Planossolo Nátrico Órtigo típico, A Fraco.

Fonte: Adaptado de Souza (2009).

3.4 Utilização de leguminosas na recuperação de áreas degradadas

As leguminosas estão entre as plantas mais familiares para as pessoas de diversas partes do mundo. A família Leguminosae é a terceira maior família de plantas, com distribuição cosmopolita que inclui 727 gêneros e 19.327 espécies. Em importância econômica é superada apenas pelas gramíneas (a família do arroz, milho, trigo e outros cereais). Muitas são utilizadas como fonte de alimento como feijão, fava, soja, amendoim, ervilhas e grão-de-bico (QUEIROZ, 2009). Outras são utilizadas na arborização de ruas e na revegetação de áreas em processo de degradação, como o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*

Benth.), o tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) e a jurema-preta (*Mimosa hostilis* Benth.).

A degradação do solo sob exploração agrícola no mundo despertou, nas últimas décadas, a preocupação com a qualidade e a sustentabilidade desse recurso natural e, por isso, busca-se alternativas viáveis e ecológicas para a recuperação dos solos, como a utilização de leguminosas associadas a micro-organismos simbióticos. De acordo com Bertoni; Lombardi Neto (2008) o uso de leguminosas é uma prática recomendada para a recuperação de áreas degradadas, pois as mesmas protegem o solo da ação dos agentes erosivos (água e vento). Outro benefício a ser considerado é a produção de matéria orgânica (folha, galhos e raízes) rica em nitrogênio que, através de sua incorporação no solo, estimula os processos químicos e biológicos do solo, melhorando a fertilidade e as propriedades físicas.

Outro aspecto importante na utilização de leguminosas na recuperação de áreas degradadas é o fato da existência de um grande número de espécies que ocorrem em várias regiões brasileiras e a relativa facilidade na obtenção de sementes para sua propagação. Entretanto, a principal preferência pelo uso das espécies leguminosas se deve à capacidade de se associarem duplamente com micro-organismos simbióticos do solo, como bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrizos arbusculares (AZEVEDO; RIBEIRO; AZEVEDO, 2007).

MENDES FILHO (2004) confirma que as leguminosas em associação com micro-organismos do solo favorece a utilização desse grupo vegetal na recuperação de áreas degradadas, pois essas associações simbióticas favorecem um melhor estabelecimento das leguminosas em solos com baixa fertilidade, uma vez que vai ocorrer um maior aproveitamento dos nutrientes da solução do solo, favorecendo um rápido crescimento e conseqüentemente uma maior produção de biomassa vegetal.

O aumento da produção de biomassa favorece a formação de uma camada de serapilheira na superfície do solo, protegendo-o da ação do vento, água e temperatura. De acordo com Andrade; Carvalho; Coutinho (2003) a quantidade de serapilheira no solo depende fundamentalmente da quantidade de resíduo produzido pelas plantas e da taxa de decomposição.

A decomposição da serapilheira pelos organismos edáficos favorece a disponibilidade de nutrientes para o solo e planta, pois de acordo com Costa *et al.* (2004), ao estudarem o aporte de nutrientes na serapilheira em áreas degradadas e vegetadas com leguminosas (sabiá e acácia), observa-se um acréscimo de nutrientes na serapilheira formada no solo em razão da fixação biológica de nitrogênio atmosférico pela associação simbiótica da

leguminosa-rizobios. Silva *et al.* (2013) relatam que a introdução das leguminosas gliricídia e sabiá em pastagens melhoram a qualidade da serapilheira disponível no solo, sendo a decomposição dessas leguminosas importante via de retorno de nitrogênio para o solo em virtude da fixação biológica de N₂.

Diante de todas essas vantagens pode-se recomendar a utilização de leguminosas (sabiá, jurema-preta e acácia) associadas a micro-organismos simbióticos como uma estratégia viável e econômica, pois favorece as qualidades físicas, químicas e biológicas do solo. Atualmente as leguminosas vêm sendo sistematicamente inseridos em programas de recuperação de áreas degradadas devido ao suprimento e a ciclagem do nitrogênio no sistema solo e planta (LONGO; RIBEIRO; MELO, 2010).

O sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) é uma espécie bastante empregada na recuperação de áreas degradadas em virtude de ser uma leguminosa adaptada às condições adversas, sendo capaz de associar-se a bactérias diazotróficas simbiontes como os rizóbios. Simultaneamente a essa simbiose, já foi observada também a associação de suas raízes com fungos micorrizos arbusculares, que são importantes para o processo de nodulação bacteriana em virtude de suprir a planta com uma maior quantidade de fósforo absorvido (MAIA, 2012), mesmo que esteja além da zona de depleção desse nutriente no solo.

3.5 Importância e Caracterização do Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.)

A espécie vegetal Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) é uma leguminosa pertencente à família *Mimosaceae* vulgarmente conhecida por sabiá, cebiá ou sansão-do-campo, ocorrendo naturalmente nos Estados do Rio Grande do Norte, Piauí e Ceará, na região Nordeste do Brasil. Nessa região apresenta uma distribuição geográfica desde o Estado do Maranhão até o Estado de Pernambuco, na chapada do Araripe, divisa dos Estados de Pernambuco e do Ceará (MAIA, 2012; EMBRAPA, 2003).

O sabiá é uma leguminosa pioneira que ocorre tanto em formações primárias como secundárias, nos biomas Caatinga e Cerrado, apresenta crescimento rápido, alcançando facilmente 4 metros de altura aos dois anos de idade. Outra característica relevante dessa espécie é a facilidade de adaptação a ambientes semiáridos sob condições adversas (baixa precipitação, altas temperaturas e solos com baixa fertilidade) (MAIA, 2012).

Nos últimos anos várias florestas artificiais de sabiá têm sido implantadas no Nordeste em decorrência do valor econômico da madeira produzida por essa espécie, a qual possui diversas finalidades, sendo comumente utilizada para produção de lenha, estacas e carvão (MENDES *et al.*, 2013). Conforme Lima (2012) a madeira do sabiá é muito valorizada

no Nordeste como matéria prima para mourões e estacas, confecções de pistas de vaquejadas, currais e divisões em parques de exposições. Outra característica interessante é a sua utilização como cerca viva, com o intuito de proteger os pomares da ação do vento. As folhas do sabiá são fonte de matéria-prima na produção de feno para alimentação de ruminantes (bovinos, caprinos e ovinos), especialmente durante a época seca, uma vez que apresentam alto valor nutritivo.

O Sabiá é também capaz de manter associações simbióticas com os fungos micorrizicos arbusculares simultaneamente com as bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, relações essas de grande valor econômico e ecológico para a manutenção do sistema de produção. Essas associações simbióticas favorecem a revegetação de áreas em processo de degradação, uma vez que o aporte de nitrogênio para a planta, através da fixação biológica do nitrogênio, e o aumento da absorção de fósforo pelos fungos micorrízicos, irá conferir uma maior capacidade de tolerância às condições adversas desses ambientes. De acordo com Maia (2012) suas raízes entram em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* originando grandes quantidades de nódulos, que fixam elevadas quantidade de nitrogênio atmosférico.

Ferreira *et al.* (2007) constataram que a espécie sabiá é capaz de depositar cerca de 7.800 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de serapilheira (predominância de folhas) no solo. Os mesmos autores relatam ainda um acréscimo significativo de nutrientes no solo, com efeito benéfico para a melhoria da fertilidade, especialmente em relação ao nitrogênio, devido a fixação biológica.

O uso desta espécie associada a micro-organismos fixadores de nitrogênio pode ser uma alternativa viável na reabilitação de áreas degradadas, pois é uma espécie vegetal bem adaptada a condições adversas do semiárido. Tavares *et al.* (2012) mencionaram que o sabiá, sendo uma espécie vegetal nativa do nordeste brasileiro, reúne algumas características fundamentais para compor programas de reabilitação de áreas salinizadas, principalmente quando associadas a bactérias fixadoras de nitrogênio e aos fungos micorrízicos arbusculares.

A ocorrência de micro-organismos simbióticos (bactérias fixadoras de nitrogênio e micorrizas) associados ao sabiá favorece um maior aproveitamento dos nutrientes, de modo especial nitrogênio e fósforo respectivamente. O sucesso do estabelecimento da nodulação e fixação de N₂ dessa leguminosa depende de uma nutrição fosfatada adequada e como as micorrizas aumentam a absorção de fósforo este elemento é fundamental para o suprimento de energia para o processo de fixação biológica de nitrogênio atmosférico.

3.6 Importância e Caracterização do Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), feijão-de-corda ou feijão-macassar é uma *Dicotyledonea* pertencente a ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolineae*, gênero *Vigna* (SINGH *et al.*, 1997). É considerada uma leguminosa de origem Africana, rica em proteínas e bastante cultivada no Brasil principalmente nas regiões semiáridas, pois apresenta tolerância a altas temperaturas e à seca (CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010).

No Brasil o cultivo do feijão-caupi é uma das alternativas para geração de empregos em locais de *agricultura* familiar, sendo cultivado basicamente em pequenas propriedades das regiões norte e nordeste como atividade de subsistência, embora já esteja sendo explorada em grandes áreas com adoção de tecnologias (BASTOS *et al.*, 2012). O Brasil ocupa a terceira posição na produção do feijão-caupi, perdendo apenas para a Nigéria e Níger, que ocupam o primeiro e segundo lugar como produtores, respectivamente. A área cultivada com feijão-caupi no Brasil é de aproximadamente um milhão de hectares, dos quais cerca de 90 % estão localizados na região Nordeste (BEZERRA *et al.*, 2010a).

O cultivo do feijão-caupi apresenta grande importância na alimentação das populações que vivem nessas regiões, principalmente as mais carentes, pois é um alimento com alto valor nutritivo, sendo um dos principais componentes da dieta alimentar dessas populações, gerando também emprego e renda, tanto na zona rural quanto na zona urbana (LIMA *et al.*, 2007). Além de todos os benefícios citados anteriormente, o feijão-caupi apresenta alta capacidade de realizar associações simbióticas com as bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico (BFN), denominadas de rizóbios. Entretanto, essas bactérias ocorrem em praticamente todos os solos do mundo inteiro, deste os temperados, os tropicais aos semiáridos (MARTINS *et al.*, 2003), facilitando assim a associação com as leguminosas.

A associação do feijão-caupi com bactérias diazotróficas apresenta grande importância econômica e ecológica, uma vez que esses procariotos fixam N₂ atmosférico e o disponibiliza para a planta, proporcionando assim um melhor desenvolvimento, um aumento na produtividade e, conseqüentemente, uma diminuição no uso da adubação mineral. Porém é importante ressaltar que o feijão-caupi é considerado promíscuo (SINGLETON; BOHLOOL; NAKAO, 1992), ou seja, ele é capaz de ser nodulado por diferentes estirpes, podendo inclusive formar nódulos ineficientes, dependendo das características genéticas das estirpes envolvidas.

O cultivo do feijão-caupi no Brasil tem-se destacado na tecnologia de inoculação com bactérias simbióticas para a promoção da fixação biológica de N_2 (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2012), pois no ano de 2006 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, através da Secretaria de Defesa Agropecuária, instrução normativa nº 10, reconheceu a estirpe BR3267 (SEMIA 6462) na relação dos micro-organismos autorizados para produção de inoculantes para feijão-caupi no país (RUMJANEK *et al.*, 2006). Atualmente algumas estirpes selecionadas de *Bradyrhizobium* para o feijão-caupi estão sendo testadas e vêm apresentando resultados promissores, como é o caso das estirpes UFLA03-84, INPA03-11B, BR3262 e BR3267 (SANTOS, 2013).

A busca por tecnologias de inoculação para a cultura do feijão-caupi pode ser justificada pela sua exigência em nitrogênio durante todo o ciclo da cultura, porém a época de maior exigência ocorre dos 35 aos 50 dias da emergência da planta, coincidindo com a época do florescimento. Neste período, a planta absorve de 2,0 a 2,5 kg N/ha/dia, sendo considerada uma cultura exigente por nitrogênio (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994).

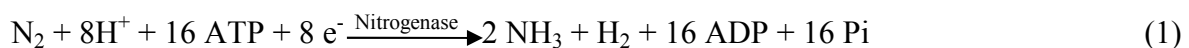
O benefício decorrente das técnicas de inoculação do feijão-caupi com as bactérias simbióticas é bastante conhecida e estudada por diversos autores (Chagas Junior *et al.*, 2014; Alcântara *et al.*, 2014), tanto em áreas degradadas como de cultivo, pois é uma alternativa viável para a produção agrícola, principalmente em áreas de baixa fertilidade, já que oferece ao final do ciclo fenológico um aporte de biomassa vegetal com baixa relação C:N, podendo ser usada como fonte de material orgânico para o solo. Entretanto, a inoculação do feijão-caupi com rizóbios selecionados não se constitui numa prática fácil, em virtude da promiscuidade apresentada por essa espécie, pois a mesma é capaz de associar-se a diversas estirpes de bactérias simbióticas simultaneamente, apresentando na maiorias das vezes ineficiência na fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

3.7 Importância da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)

A fixação biológica de N_2 é um dos processos mais importantes e conhecidos na natureza, esse processo é realizado apenas por micro-organismos procaríotos simbióticos (REIS *et al.*, 2006). Embora o nitrogênio molecular (N_2) represente cerca de 80 por cento dos gases da atmosfera, as plantas não têm capacidade de obtê-lo diretamente nessa forma, uma vez que a molécula de N_2 é muito estável quimicamente, pois apresenta uma tripla ligação entre os átomos de N, requerendo um grande gasto de energia metabólica para quebrá-las, tornando-se assim não utilizável para a maioria dos micro-organismos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; DOBEREINER, 1997).

A incorporação de nitrogênio via fixação biológica aos diferentes ecossistemas é bastante elevada, principalmente através da associação das leguminosas e bactérias diazotróficas simbiotes, sendo caracterizado como um processo natural que consiste na transformação do nitrogênio molecular (N₂) a compostos amoniacaais (Equação 1), com elevado gasto de energia (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006)

Os micro-organismos diazotróficos simbiotes apresentam um complexo enzimático bacteriano denominado nitrogenase, que hidrolisa 16 adenosinas trifosfato (ATP) e transfere oito elétrons por molécula de N₂ fixado (Equação 1), sendo um dos processos metabólicos mais caros para a célula (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), esse complexo é formado por duas unidades proteicas (Ferro-proteína-Fe-proteína e a Molibdênio-Ferro-proteína-MoFe-proteína) que converte nitrogênio atmosférico (N₂) em íons amônio (NH₄⁺) nas condições normais de temperatura e pressão encontradas no solo (JOHN; KARL; DEAN, 1995). A equação 1 apresenta a reação da fixação de nitrogênio atmosférico a composto amoniacal catalisado pela enzima nitrogenase (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).



A interação simbiótica entre leguminosas e rizóbios é iniciada através de sinais simbióticos de ambos os lados (YOKOTA; HAYASHI, 2011). A formação dos nódulos é um processo complexo e dinâmico, que ocorre em várias etapas, envolvendo mudanças fisiológicas e morfológicas tanto na célula hospedeira como na bactéria. A planta hospedeira e a bactéria simbiótica desenvolvem mecanismos de comunicação molecular onde a planta libera sinais químicos fazendo com que as bactérias simbiotes do solo sejam atraídas em direção ao sistema radicular, processo denominado de quimiotaxia (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006).

Essas aderem aos pêlos radiculares das plantas hospedeiras, em um processo relativamente constante e irreversível, que ocorre em duas etapas: inicialmente, as células isoladas aderem à superfície radicular, provavelmente a sítios específicos e, em seguida, outras bactérias aderem às que já estão presas aos pêlos radiculares (HUNGRIA; STACEY, 1997; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Nesse momento, alguns compostos, em geral, atuam como sinais moleculares e induzem a transcrição de genes de nodulação (*nod*) nas bactérias. De acordo com (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os passos fundamentais para o processo e o estabelecimento da simbiose leguminosa-bactéria são: pré-infecção (reconhecimento do simbiote e interação entre a planta hospedeira e a bactéria simbiótica), infecção da planta

pela bactéria e funcionamento dos nódulos. Devido a essa capacidade e habilidade de associarem-se com essas bactérias do solo, as leguminosas têm sido bastante utilizadas como adubo verde, assumindo importante papel para o aumento da quantidade e da qualidade da matéria orgânica do solo (LIMA *et al.*, 2012).

Diante dessas habilidades, deve-se ressaltar a importância ecológica da associação leguminosa-rizóbio para o processo de reabilitação de ambientes degradados, pois o nitrogênio fixado que é acumulado nos tecidos vegetais, uma vez incorporado ao solo, pode ser utilizado como fonte alternativa de adubação, disponibilizando nitrogênio durante os processos de decomposição pelos os micro-organismos edáficos. Nesse contexto, micro-organismos simbiotes como os rizóbios podem significar uma alternativa complementar ao uso de adubos minerais, pois em áreas com predominância de solos pobres em nitrogênio é necessário aplicar estratégias biotecnológicas capazes de propiciar um melhor aproveitamento da absorção dos nutrientes pelas plantas. De acordo com Freitas *et al.* (2011) geralmente os solos das regiões semiáridas são pobres em nutrientes, principalmente em nitrogênio e a utilização de uma adubação mineral é inviável à maioria dos agricultores familiares, ficando os cultivos na dependência da mineralização da matéria orgânica do solo, a qual torna-se escassa nessas regiões devido a característica da vegetação predominante. Em virtude desse fato, a fixação biológica em leguminosas nativas (sabiá, jurema-preta e angico, por exemplo), pode ser uma alternativa viável no suprimento de nitrogênio necessário ao cultivo.

3.8 Importância dos Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA)

Os fungos micorrizicos arbusculares (FMA) formam associações simbióticas mutualistas entre espécies do filo *Glomeromycota* e a maioria das plantas terrestres (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006). Os fungos micorrizicos arbusculares, sem exceção, são micro-organismos simbiotes obrigatórios, pois eles dependem da simbiose com plantas compatíveis para sua multiplicação no sistema. As micorrizas arbusculares apresentam ampla distribuição geográfica, ocorrendo em regiões polares até os trópicos úmidos ou desertos, podendo ser encontrada em todas as altitudes e longitudes, apresentado ainda um caráter cosmopolita (BERBARA *et al.*, 2006).

A associação micorrízica arbuscular com plantas é uma das simbioses mais importantes e abundante na natureza, ocorrendo em cerca de 80 % das plantas existentes, inclusive em inúmeras espécies de grande valor econômico (laranja, citros, banana e feijão-caupi) e ecológico (sabiá, jurema-preta) (MAIA, 2012; SAMPAIO *et al.*, 2012; TAVARES *et al.*, 2012; SIQUEIRA; MOREIRA, 2006) e na maioria dos ecossistemas vegetais. De acordo

com Siqueira; Moreira (2006) a maioria das angiospermas, pteridófitas e numerosas briófitas formam associação com as micorrizas arbusculares.

A formação e o funcionamento das micorrizas arbusculares dependem de um complexo processo de troca de sinais químicos que resulta em mudanças no metabolismo dos simbiontes e na diferenciação de uma interface simbiótica no interior das células radiculares (KIRIACHEK *et al.*, 2009), não apresentando essa associação alterações morfológicas radiculares.

A associação simbiótica dos fungos micorrízicos arbusculares e plantas se caracterizam pela penetração intercelular e intracelular no córtex radicular e formação de estruturas intracelulares denominadas arbúsculos e, em alguns grupos taxonômicos, as vesículas, que são hifas com dilatações terminais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O termo arbuscular decorre da formação de arbúsculos (formato de árvore) no interior do córtex radicular, uma estrutura fúngica altamente dicotômica, responsável pelo o sítio de troca entre o fungo e planta, sendo as vesículas estruturas de armazenamento de material de reserva.

Os FMA são elementos importantes dos sistemas vegetais, com grande potencial para a produção agrícola e para reabilitação de áreas em processo de degradação. Esses micro-organismos podem favorecer o crescimento e a capacidade reprodutiva das plantas, bem como aumentar a tolerância aos estresses abióticos (hídrico e salino) e bióticos (maior tolerância a doenças). O benefício principal para a planta hospedeira advindo dessa simbiose é o aumento da absorção de nutrientes, especialmente os de baixa mobilidade no solo como o fósforo (P), isto devido ao aumento de sua capacidade em explorar o solo, tanto em área de superfície de contato quanto em volume (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Além de absorver os nutrientes e água da solução do solo, disponibilizando-os para as plantas, os micélios fúngicos participam também de um processo importante na agregação das partículas do solo. Isso ocorre em virtude da formação de uma rede de hifas fúngicas e na produção de uma glicoproteína (glomalina) capaz de contribuir de forma consistente para o processo de agregação do solo e, conseqüentemente, à sustentabilidade do ecossistema. A glomalina caracteriza-se por ser é uma glicoproteína hidrofóbica, termoestável e recalcitrante, (SOUSA *et al.*, 2011), o que contribui para um aumento da capacidade de agregação das partículas do solo, conferindo uma maior estabilidade dos agregados e do estoque de carbono no solo, melhorando assim as qualidades físicas e químicas do solo (RILLIG *et al.* (2001).

A estabilidade estrutural dos agregados do solo também é responsável pelo armazenamento de matéria orgânica em formas estáveis. Dessa maneira, atuando no processo de cimentação, a glomalina age como um ligante orgânico que é depositado na superfície dos

agregados, criando uma espécie de “selamento”. Assim, a parte interior é protegida por esta proteína hidrofóbica contra a ação da água, que atua como desestabilizadora do solo (TRESEDER; TURNER, 2007).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização e Coleta do Solo

As amostras de solo foram coletadas (Figura 2) no município de Irauçuba-CE em três localidades denominados respectivamente de Área 1 (Fazenda Aroeira), Área 2 (Fazenda Formigueiro) e Áreas 4 e 5 (Fazenda Cacimba Salgada), onde foram coletadas amostras de solo nas áreas de exclusão de animais (bovinos e caprinos) e superpastejo (adjacente) de cada área respectivamente. Os pontos foram escolhidos aleatoriamente, sendo (três nas áreas de exclusão) e (três nas áreas de superpastejo), totalizando seis pontos amostrados e geo-referenciados em cada localidade.

Figura 2. Coleta de solo em áreas de exclusão de animais e superpastejo (adjacentes) na profundidade de 0-20 cm, no município de Irauçuba-CE. 2A (área de exclusão de animais); 2B e 2C (coleta de solo na área de exclusão) e 2D (área de superpastejo).



Foto: Mascena, 2012

Após a escolha e georeferenciamento dos pontos foram coletadas amostras de aproximadamente 10 kg de solo, a uma profundidade de 0 a 20 cm (Figura 2), destorroadas, homogêneas e peneiradas em peneira de 2 mm para obtenção da TFSA (Terra Fina Seca ao Ar), quando foram então acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas na casa de vegetação do Departamento de Ciências do Solo (DCS), da Universidade Federal do Ceará (UFC). Em seguida, as amostras de solo compostas foram analisadas quanto às suas características químicas no Laboratório de Análises de Solo e Água (DCS/UFC) de acordo com metodologia proposta pela EMBRAPA (1997).

Na realização das análises para isolamento das populações nativas de rizóbios, fungos micorrízicos arbusculares e respiração basal do solo, foram utilizados as mesmas amostras de solo coletadas nas quatro áreas de estudo (de forma duplicada para efeito de contraste entre áreas de exclusão e de superpastejo). Todos esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Solo (DCS/UFC) e em casa de vegetação (DCS/UFC).

4.2 Instalação e Condução dos Experimentos

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Ciências do Solo (UFC), localizada no Campus do Pici, em Fortaleza, Ceará, Brasil. O clima é do tipo Aw' de acordo com a classificação de Köppen, e situa-se nas seguintes coordenadas geográficas: latitude 3° 44' S e longitude 38 ° 33' W.

As sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), cultivar Sempre Verde CE-25 Safra 2010, e de plantas de sabiá (*Mimosa caesalpinhaefolia* Benth.) foram cedidas pelo Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

4.2.1 Experimento I - Avaliação da densidade de estirpes nativas de rizóbios para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.

A determinação da densidade de estirpes nativas no solo foi realizada pelo método do número mais provável (NMP) com infecção em plantas de feijão-caupi, as quais foram cultivadas em vasos de Leonard com substrato de areia esterilizado em autoclave. Antes do plantio, as sementes foram desinfetadas (HUNGRIA; ARAÚJO, 1994) e semeadas três

sementes por vaso, deixando-se apenas uma planta após o desbaste realizado por ocasião da emergência.

Os inóculos foram preparados de acordo com o proposto por Hungria; Araújo (1994), sendo preparadas diluições decimais (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5}) das amostras de solo de cada área de exclusão e superpastejo, a partir de dez gramas de solo diluído em solução com NaCl 0,85 % esterilizada (HUNGRIA; ARAÚJO, 1994). Após o preparo das diluições foram tomadas alíquotas de 3 mL para a inoculação nas plântulas de feijão-caupi logo após o desbaste. Semanalmente os vasos receberam 150 mL da solução nutritiva de Hoagland; Armon (1950) com omissão de nitrogênio (N).

As plantas de feijão-caupi foram coletadas aos 35 dias e analisadas quanto à presença (positivo) e ausência (negativo) de nódulos radiculares. Para a estimativa do número de células bacterianas viáveis utilizou-se a tabela de número mais provável (ALEXANDDER, 1965) para a obtenção do fator NMP.

4.2.2 *Experimento II - Isolamento e caracterização morfológica de estirpes nativas de rizóbio para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.*

O isolamento de estirpes nativas rizobianas foi realizado em casa de vegetação, onde foram utilizados vasos plásticos de 500 mL contendo solo das quatro áreas avaliadas (exclusão de animais e superpastejo (adjacentes as áreas de exclusão)), usando-se como planta-isca o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) variedade Sempre Verde CE25. As sementes utilizadas no plantio foram desinfetadas superficialmente, conforme descrito anteriormente (experimento I).

Para irrigação diária das plantas, utilizou-se água destilada e esterilizada por autoclavagem a 121°C e 1 atm de pressão por 2 horas. Semanalmente foi aplicado 150 mL da solução nutritiva de Hoagland; Armon (1950) com omissão de N, de forma fracionada (três vezes na semana) para que não ocorresse a perda de nutrientes por lixiviação e a planta pudesse aproveitar os nutrientes disponibilizados na solução do solo.

As plantas de feijão-caupi foram coletadas aos 35 dias após semeadura para a retirada de nódulos mais representativos da região radicular. Os nódulos coletados foram tratados superficialmente com uma solução de hipoclorito de sódio a 10 % durante dez minutos para desinfecção superficial e, em seguida, foram lavados em água esterilizada e

autoclavada para retirada do excesso de hipoclorito de sódio por 5 vezes, adaptado de Barrett; Parker (2006).

Os nódulos esterilizados foram abertos sob condições assépticas e em câmara asséptica com o auxílio de um bisturi cirúrgico, esmagados com um bastão de vidro em uma placa Petri e concentrados em uma gota de água estéril. O conteúdo da gota foi repicado para uma outra placa de Petri contendo meio “79” de Allen (1957), acrescido com o pigmento vermelho congo a 1 % em solução aquosa com a finalidade inicial de evidenciar alguma contaminação.

As placas foram incubadas por um período de 12 dias na ausência de luz em estufa bacteriológica regulada a 28 °C até a formação de colônias visíveis de cor clara devido a não absorção do vermelho congo, indicação de que possivelmente trata-se de uma colônia de rizóbio sem contaminação. Após 12 dias, as colônias de coloração clara foram repicadas para uma nova placa de Petri contendo meio “79” de Allen sólido acrescido com o indicador azul de bromotimol e incubadas novamente sob as mesmas condições. Depois de decorridos 12 dias essas colônias foram caracterizadas morfológicamente de acordo com Vincent (1970), quando foram analisadas as seguintes características: tamanho, cor das colônias, elevação, presença de muco, reação a técnica de Gram, pH do meio e forma da colônia, além do tempo necessário para a formação de colônias visíveis.

Posteriormente, as colônias rizobianas foram repicadas para tubos de cultura contendo meio “79” de Allen sólido, acrescido com indicador azul de bromotimol e novamente incubadas (12 dias) e reavaliadas quanto às suas características culturais.

4.2.3 Experimento III - Autenticação das estirpes de rizóbios nativos em feijão-caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.

A autenticação das estirpes rizobianas nativas (experimento II) foi de fundamental importância para determinar se o isolado obtido é de fato uma cultura de rizóbio, uma vez que foi avaliada a capacidade da estirpe em induzir a formação de nódulos eficientes ou não na planta sob condições controladas (HUNGRIA; ARAÚJO, 1994).

Para a realização da autenticação das estirpes selecionadas, as mesmas foram inoculadas novamente em feijão-caupi, utilizando-se vasos plásticos de 500 mL contendo 400 g de areia lavada (para remoção dos sais) e autoclavada por 2 horas, a 1 atm de pressão e

temperatura de 121 °C. Em cada vaso plástico foram semeados três sementes de feijão-caupi desinfetadas superficialmente, com quatro repetições para cada isolado.

As estirpes inoculadas nas sementes foram multiplicados em erlenmeyers de 125 mL contendo 50 mL de meio de cultura “79” de Allen líquido, acrescido de azul de bromotimol e, mantidos sob agitação até atingirem uma concentração de 10^9 células por mL de caldo (quantificado em câmara de Neubauer). Posteriormente, foram aplicados assepticamente 3 mL do caldo rizobiano às sementes de feijão-caupi por ocasião do plantio e, após cinco dias da germinação das sementes, foi realizada uma aplicação de reforço (3 mL) no colo de cada plântula recém emergida. Após a formação dos nódulos nas raízes das plantas de feijão, as estirpes provenientes dessa autenticação foram novamente isoladas para posterior utilização em ensaios de avaliação da eficiência fixadora.

4.2.4 Experimento IV - Eficiência fixadora de estirpes nativas de rizóbios selecionadas em plantas feijão-caupi em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba - CE.

Para testar a eficiência da fixação simbiótica do nitrogênio das estirpes nativas selecionadas e autenticadas de rizóbios das quatro áreas avaliadas (Fazenda Aroeira (área 1), Fazenda Formigueira (área 3) e Sítio Cacimba Salgada (áreas 4 e 5)), foram conduzidos quatro experimentos com o feijão-caupi, sendo testadas as estirpes obtidas de cada área respectivamente.

O substrato utilizado foi uma areia lavada e autoclavada por um período de 2 horas, com o intuito de eliminar o excesso de sais e qualquer tipo de biota nativa. Foram utilizados vasos plásticos de 500 mL contendo 400 g de areia, onde foram semeadas três sementes de feijão-caupi por vaso, previamente desinfetadas (conforme descrito no experimento I). Após a semeadura, as sementes foram inoculadas com o caldo rizobiano de cada estirpe proveniente das áreas em estudo citadas anteriormente.

Para obtenção do caldo rizobiano concentrado foram transferidos assepticamente células rizobianas de cada estirpe para erlenmeyers de 80 mL contendo meio “79” de Allen líquido com azul de bromotimol e mantidos sob agitação até atingirem uma concentração de 10^9 células por mL de caldo, os quais foram aplicados no momento da semeadura. Após a emergência das plântulas, foram aplicados 3 mL do caldo rizobiano ao colo de cada plântula recém emergida para reforçar a inoculação.

Semanalmente as plantas receberam 150 mL da solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950) de forma fracionada (três vezes na semana), sendo que os tratamentos com inoculação receberam solução nutritiva com omissão de nitrogênio, enquanto que os tratamentos sem inoculação receberam solução nutritiva com nitrogênio. As plantas foram irrigadas diariamente com água destilada e estéril.

O delineamento experimental utilizado nos experimentos de eficiência fixadora de nitrogênio foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, os tratamentos (estirpes) para cada área em estudo foram de acordo com a quantidade de estirpes isoladas das quatro áreas estudadas. Também foram utilizados dois controles: um com adição de N em solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950) e ausência de inoculação C (+N e -R), e outro controle com ausência de N e de inoculantes C (-N e -R). Os tratamentos para cada experimento encontram-se descritos na tabela 3.

Tabela 3. Tratamentos utilizados para experimentos de eficiência fixadora de nitrogênio das estirpes isoladas das áreas em estudo, em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.).

Área 1 Fazenda Aroeira	Área 3 Fazenda Formigueiro	Área 4 Fazenda Cacimba Salgada	Área 5 Fazenda Cacimba Salgada
Estirpe 1	Estirpe 8	Estirpe 14	Estirpe 18
Estirpe 2	Estirpe 9	Estirpe 15	Estirpe 19
Estirpe 3	Estirpe 10	Estirpe 16	-
Estirpe 4	Estirpe. 11	Estirpe 17	-
Estirpe 5	Estirpe 12	-	-
Estirpe 6	Estirpe 13	-	-
Estirpe 7	-	-	-
C (+N -R)	C (+N -R)	C (+N -R)	C (+N -R)
C (-N -R)	C (-N -R)	C (-N -R)	C (-N -R)
9 tratamentos	8 tratamentos	6 tratamentos	4 Tratamentos
*4 repetição	*4 repetição	*4 repetição	*4 repetição
32 unidade	24 unidades	12 unidades	16 unidades
Experimentais	Experimentais	Experimentais	Experimentais

C (+N -R): controle com nitrogênio e sem inoculação; C (-N -R): controle com omissão de nitrogênio e sem inoculação (controle absoluto); * símbolo da multiplicação.

Aos 35 dias após a semeadura, as plantas de feijão-caupi, foram coletadas e separadas em parte aérea e raiz para avaliação dos tratamentos adotados, onde foram analisados dos seguintes parâmetros:

- **Matéria seca da parte aérea** – as plantas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e colocadas em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 65 - 70 ° C até massa constante. Após a secagem as plantas foram pesadas em balança analítica com 0,01 g de precisão.
- **Matéria seca dos nódulos** – os nódulos foram acondicionados em sacos de papel devidamente identificado e colocados em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 65 - 70 ° C até massa constante e, após a secagem, os nódulos foram pesadas em balança analítica com 0,01 g de precisão.
- **Eficiência relativa das estirpes de rizóbio** - a eficiência relativa de cada estirpe foi calculada segundo a expressão:

$$Efr = \frac{MSPA}{MSPA_do_controle_com_N_mineral} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

Efr – Eficiência relativa;

MSPA – Matéria seca da parte aérea.

4.2.5 *Experimento V - Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico das estirpes selecionadas com feijão-caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp.) e inoculadas em plantas de sabiá (Mimosa caesalpiniaefolia Benth.).*

Para testar a eficiência da fixação simbiótica de nitrogênio pelas estirpes nativas em plantas de sabiá foi realizada uma seleção das melhores estirpes de cada área (área 1, 3, 4 e 5) em estudo testadas em feijão-caupi. Na seleção das estirpes levou-se em consideração o teor de nitrogênio presente na matéria seca da parte aérea das plantas de feijão-caupi analisadas no experimento IV.

O substrato utilizado foi uma areia lavada e autoclavada por um período de 2 horas, com o intuito de eliminar o excesso de sais e qualquer tipo de biota nativa. Foram utilizados vasos plásticos de 500 mL contendo 400 g de areia, onde foram semeadas três sementes de feijão-caupi desinfetadas (conforme descrito no experimento I) por vaso, que posteriormente foram inoculados com as estirpes isoladas de cada área citada anteriormente.

Para obtenção do caldo rizobiano foram transferidos assepticamente células rizobianas de cada estirpe obtida das áreas para erlenmeyers de 80 mL contendo meio “79” de Allen líquido, com azul de bromotimol, e mantido sob agitação até atingirem uma concentração de 10^9 células por mL de caldo. No momento da semeadura foram aplicados 3 mL do caldo rizobiano nas sementes plantadas nos vasos, após a emergência das plântulas foram aplicados um reforço 3 mL do caldo rizobiano ao colo de cada plântula recém emergida. Semanalmente as plantas receberam 150 mL da solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950), de forma fracionada (três vezes na semana), os tratamentos com inoculação receberam solução nutritiva com omissão de nitrogênio, sendo que os tratamentos sem inoculação receberam solução nutritiva com nitrogênio, as plantas foram irrigadas diariamente com água destilada e estéril.

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado com cinco repetições e quatro estirpes, mais dois controles: um com adição de N em solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950) e ausência de inoculação C (+N e -R), e outro controle com ausência de N e de inoculantes C (-N e -R), totalizado seis tratamentos. Os tratamentos para cada experimento encontram-se descritos na tabela 4.

Tabela 4. Tratamentos utilizados no experimento de eficiência fixadora de nitrogênio em plantas de sabiá.

TRATAMENTOS	ÁREAS DE ESTUDO (ORIGEM DAS ESTIRPES)
Estirpe 2	Área 1 - Fazenda Aroeira
Estirpe 11	Área 3- Fazenda Formigueiro
Estirpe 14	Área 4 - Fazenda Cacimba Salgada
Estirpe 18	Área 5 - Fazenda Cacimba Salgada
C (+N -R)	-
C (-N -R)	-
6 tratamentos * 5 repetições = 30 unidades experimentais	

C (+N -R): controle com nitrogênio e sem inoculação; C (-N -R): controle com omissão de nitrogênio e sem inoculação (controle absoluto); * símbolo da multiplicação.

Após 90 dias, as plantas de sabiá foram coletadas e separadas em parte aérea e raiz para avaliação dos tratamentos adotados, onde foram analisados os seguintes parâmetros:

- **Matéria seca da parte aérea (MSPA)** – as plantas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e colocadas em estufa de circulação de ar forçada à

temperatura de 65 - 70 ° C até massa constante. Após a secagem, as plantas foram pesadas em balança analítica com 0,01 g de precisão.

- **Matéria seca dos nódulos (MSN)** – os nódulos foram acondicionados em sacos de papel devidamente identificado e colocadas em estufas de circulação de ar forçada à temperatura de 65 - 70 ° C até massa constante. Após a secagem, os nódulos foram pesados em balança analítica com 0,01 g de precisão.
- **Eficiência relativa das estirpes de rizóbios** - A eficiência relativa de cada isolado foi calculada segundo a expressão:

$$Efr = \frac{MSPA}{MSPA_do_controle_com_N_mineral} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

Efr – Eficiência relativa

MSPA – Matéria seca da parte aérea.

4.2.6 *Experimento VI - Estudo da diversidade de Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE*

Os esporos de FMA foram extraídos a partir das amostras de solo coletadas das quatro áreas avaliadas ((Área 1 - Fazenda Aroeira), (Área 3 - Fazenda Formigueira) e (Áreas 4 e 5-Sítio Cacimba Salgada) de exclusão e superpastejo, quando foram pesadas 100 g de solo das áreas de exclusão de animais e superpastejo do município de Irauçuba-CE. Para extração dos esporos dos FMA utilizou-se a técnica de peneiramento por via úmida (GEDERMANN; NICOLSON, 1963).

Os esporos retidos nas peneiras de 0,044 mm, 0,088 mm, 0,0106 mm e 0,250 μm foram transferidos para placas de Petri, agrupados por morfotipos e quantificados em placa canaletada sob estereomicroscopia de campo claro (40x).

Para o agrupamento dos morfotipos foram preparadas laminas para microscopia a fresco com lactoglicerol, com o objetivo de observar as semelhanças morfológicas (SCHENCK; PEREZ, 1990) e (INVAM, 2012) dos esporos.

4.2.7 *Respiração Basal do Solo (RBS) nas áreas de exclusões de animais e de superpastejo no município de Irauçuba-CE.*

A respiração basal solo foi determinada em amostras compostas coletadas nas quatro áreas de estudo (Área 1- Fazenda Aroeira; Área 3 - Fazenda Formigueira; e Áreas 4 e 5 -Sítio Cacimba Salgada).

A produção do C-CO₂ ou C mineralizável foi determinada pelo método proposto por Alef (1995), que baseia-se na absorção do CO₂ liberado no solo pela atividade da microbiota nativa por uma solução de NaOH 0,5 mol⁻¹ e na determinação de sua quantidade por titulação com uma solução de HCL 0,5N. Inicialmente pesou-se 10 g de solo das amostras compostas das quatro áreas em estudo (exclusão e superpastejo) e colocou-se em estufa a 105 °C por 24 horas para que fosse determinada a capacidade de retenção de água do solo, com o objetivo de que cada amostra recebesse a mesma quantidade de água no momento em que estas fossem incubadas nos seus respectivos frascos.

Para a avaliação da capacidade de retenção de água, pesou-se 50 g de solo (TSFA) de cada uma das amostras das quatro áreas (exclusão e superpastejo), em triplicata, ajustando-se a sua umidade para cerca de 60 a 70 % da sua capacidade de campo para que a microbiota pudesse estabilizar seus processos metabólicos. Essa umidade foi ajustada com as amostras já presentes nos frascos herméticos, onde foram incubados por sete dias na ausência da luz, com a finalidade do restabelecimento inicial da microbiota nativa. Após a incubação foi colocado em cada frasco (tanto nos frascos com as amostras de solo como nos frascos que não continham solo, ou seja, os brancos) dois cadinhos: um contendo 20 mL de água destilada para manutenção da umidade constante e outro contendo NaOH 0,5 mol⁻¹ para a captura do CO₂ liberado das amostras. Esses frascos foram fechados hermeticamente e incubados ao abrigo da luz a uma temperatura ambiente em torno de 27 °C. A cada 24 horas de incubação foi realizada uma leitura, pipetando-se 10 mL do NaOH 0,5 mol⁻¹ contido no cadinho e transferindo-os para um becker de 50 mL, adicionando-se ainda, através de um dispensador, mais 10 mL de uma solução de BaCl₂ e 3 gotas da solução indicadora de fenolftaleína a 1 % e, em seguida, titulou-se com a solução de HCl 0,5N. No momento da titulação todos os frascos foram deixados por 20 minutos abertos para que ocorresse o equilíbrio gasoso no interior dos mesmos. Finalizado a titulação, os fracos foram reabastecidos com um novo cadinho contendo solução de NaOH 0,5 mol⁻¹ para que se procedesse a leitura no dia seguinte.

Esse procedimento foi repetido ao longo de 10 dias, período em que se calculou a quantidade de CO₂ diária e acumulada liberada por grama de solo (em mg de C-CO₂ dia⁻¹.100 cm⁻³ de solo).

4.3 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas através do programa computacional ASSISTAT versão 7.6 beta (2013). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1 % ($p < 0,01$) de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises químicas dos solos amostrados nas áreas de exclusões de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.

As análises químicas das amostras de solo coletadas nas quatro áreas (Área 1 - Fazenda Aroeira), (Área 3 - Fazenda Formigueiro) e (Áreas 4 e 5 - Fazenda Cacimba Salgada) encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Características químicas dos solos em áreas de exclusão de animais e de superpastejo. Irauçuba – CE.

Área*	pH	CE	C	N	C/N	MO	C-CO ₂	P assimilável
	H ₂ O	dS m ⁻¹	g/kg	g/kg		g/kg	mg 100/ g solo ⁻¹	mg/kg
1- Exclusão	6,43	0,43	7,54	0,75	10	13	12	34
1- Superpastejo	4,83	0,28	5,38	0,54	10	9,28	8,72	9,33
3 - Exclusão	5,03	0,63	6,72	0,64	11	11,59	9,79	54
3 - Superpastejo	5,07	0,70	4,86	0,49	10	8,38	9,11	42
4 - Exclusão.	4,77	0,20	4,86	0,49	10	8,38	10,68	42
4 - Superpastejo	4,90	0,21	5,30	0,55	10	7,24	9,72	4
5 - Exclusão.	5,27	0,21	5,06	0,50	10	8,72	11,01	21
5 Superpastejo	4,93	0,30	5,78	0,59	10	7,60	9,54	19

* Médias aritímeticas de três repetições. CE=condutividades elétrica do solo; C=carbono; N=nitrogênio; C/N= relação carbono e nitrogênio; MO=materia orgânica do solo; C-CO₂= respiração basal do solo; P assimilável-=fósforo assimilável.

Pode-se observar que o valor do pH da solução do solo na Área 1 (exclusão de animais - Fazenda Aroeira) apresentou valor médio de 6,43, sendo classificada como uma acidez moderada de acordo com Lopes (1989). Resultado diferente foi encontrado na Área 1 (superpastejo - Fazenda Aroeira), pois a mesma apresentou valores de pH da solução do solo bem abaixo da neutralidade, com um o valor médio de 4,83, sendo classificada como acidez forte. Resultados semelhantes ocorreram nas Áreas 3 (Fazenda Formigueiro), Áreas 4 e 5 (Fazenda Cacimba Salgada) de exclusão e superpastejo.

O pH da solução do solo é influenciado por diversos fatores tais como clima (precipitação), remoção de bases pelas culturas, lixiviação das bases, teor de matéria orgânica e tipo de manejo aplicado ao solo. Vários estudos mostram valores de pH menores em áreas de exclusão (LI *et al.*, 2006; PEI *et al.*, 2007), os quais estão relacionados com a cobertura vegetal do solo, processos erosivos, teor e qualidade da matéria orgânica e com a liberação de

exsudados radiculares pelas plantas. Outro aspecto importante a ser considerado é a liberação de ácidos orgânicos pela decomposição da matéria orgânica do solo pela ação dos micro-organismos que, como consequência, tende a acidificar a solução. De acordo com Pavinato *et al.* (2008) a decomposição da matéria orgânica é a principal fonte de ácidos no solo, assim como a produção de exsudados radiculares e microbianos.

Em relação aos resultados que evidenciaram pH ácido do solo nas áreas de superpastejo, pode-se explicá-los em decorrência de uma possível lixiviação lateral do solo, ocasionada pela presença de um horizonte B plânico, o qual dificulta a infiltração de água no solo e consequentemente aumenta o escoamento superficial nas áreas de superpastejo. Almeida *et al.* (2012), ao estudarem essas áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE, observaram que o pousio promoveu a redução de 60 % no escoamento superficial em relação à área degradada (superpastejo), proporcionando condições para a recuperação das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo.

A degradação do solo nessas áreas de superpastejo, ocasionada pelo seu uso intensivo, pode ter favorecido o desenvolvimento de uma população de organismos selecionados (fauna, flora e micro-organismos), gerando uma menor diversidade e um desequilíbrio neste sistema de manejo. De acordo com Tótola; Chaer (2002) uma alta diversidade de organismos geralmente está associada a uma elevada estabilidade da comunidade, onde cada população desempenha papel funcional que determina a manutenção normal dos fluxos de matéria e energia em cada nível trófico de um ecossistema particular. No entanto, o desequilíbrio encontrado nas áreas de estudo pode ser observado pela presença do *Stylosanthes*, pois essa leguminosa forrageira apresenta ampla adaptação e resistência às pressões bióticas e abióticas (solos ácidos e de baixa fertilidade) (LOPES *et al.*, 2011).

Outro aspecto relevante a ser exposto é a adição diária de excrementos pelos animais (gado bovino e ovinocaprino) que se alimentam nessas áreas de superpastejo, uma vez que a entrada desses excrementos no sistema apresenta um efeito incontestável na fertilidade do solo (KURT; O'REILLY; TUNNEY, 2006), embora também possa ser uma fonte de liberação de nutrientes indesejáveis para o ambiente, pois a adição desses excrementos no solo é sempre acompanhada de uma comunidade diversificada de micro-organismos patogênicos e resistentes à ação de antibióticos.

Os teores de matéria orgânica do solo (MOS) nas áreas de exclusão de animais apresentaram valores médios maiores em comparação às áreas de superpastejo. Os resultados do presente trabalho sugerem ter havido fornecimento suficiente de resíduos (folhas, galhos e raízes) pela vegetação em pousio, possibilitando um acúmulo de MOS na superfície do solo,

diferentemente das áreas de superpastejo. Esses resultados confirmam os encontrados por Costa (2013) ao avaliar essas áreas de exclusão e superpastejo do município de Irauçuba-CE. Diel *et al.* (2014), ao estudarem uma mata nativa preservada, observaram um incremento no teor de matéria orgânica do solo como consequência do aporte de material orgânico depositado na superfície do solo pela a vegetação.

A presença da vegetação e a manutenção dos restos vegetais (folhas, galhos e raízes) na superfície do solo apresentou grande importância no aporte de MOS, o que consequentemente influenciou nos aspectos químicos e biológicos, além de proteger o solo da radiação solar, aumentando a eficiência da ciclagem de nutrientes para o sistema solo-planta. Salcedo; Sampaio (2008) confirmam que a quantidade de MOS está relacionada à presença e formação da biomassa vegetal a qual, por sua vez, depende da fertilidade do solo. Com isso a entrada de resíduos orgânicos tende a ser elevada em áreas com presença de vegetação que possa depositar na superfície do solo os restos vegetais senescentes, capazes de serem decompostos pelos organismos do solo, favorecendo assim as propriedades químicas, biológicas e físicas do solo.

De acordo com Mieiniczuk; Bayer (2008), entre as características químicas do solo afetadas pela a MOS, destacam-se a disponibilidade de nutrientes para as culturas, a capacidade de troca de cátions e a complexação de elementos tóxicos e micronutrientes. Nas características biológicas a MOS atua como fonte de carbono, energia e nutrientes para os micro-organismos, e nas características físicas a MOS é efetiva na formação e estabilidade de agregados dos solos.

Kotzé *et al.* (2013) comentam que a matéria orgânica do solo é um dos principais fatores responsáveis pelo funcionamento dos ecossistemas, uma vez que melhora a estrutura do solo, aumenta a infiltração de água e, consequentemente, reduz a degradação do solo e a erosão através da estabilização dos agregados. De acordo com Sampaio *et al.* (2005), havendo a conservação da vegetação nativa e da matéria orgânica do solo, as chances de degradação do solo serão menores em virtude dos fatores ambientais e da ação antrópica. A vegetação além de ser a principal responsável por originar e manter um aporte de carbono no solo, também age como um isolante térmico entre o solo e a atmosfera, proporcionando uma temperatura mesofílica no ecossistema.

D'Andrea *et al.* (2012), ao estudarem sistemas de mata nativa e áreas desmatadas, observaram que esses sistemas influenciam de forma significativa a manutenção da matéria orgânica na superfície do solo, pois os teores de MOS apresentaram-se maiores nas áreas sob vegetação nativa. Jeddi; Chaieb (2010) também encontraram resultados similares em áreas de

exclusão de animais e superpastejo em ambientes áridos degradados do Sul da Tunísia, onde os mesmos relataram que a matéria orgânica do solo é mais elevada em áreas de exclusão.

Os teores de fósforo assimilável (Tabela 5) nas áreas de exclusão de animais apresentaram valores médios superiores em comparação às áreas de superpastejo. Esses resultados possivelmente estão relacionados à presença de vegetação e de resíduos orgânicos na superfície do solo. A decomposição desses resíduos orgânicos pela ação dos micro-organismos favorece a ciclagem e o acúmulo de fósforo no solo, disponibilizando-o para as plantas.

De acordo com Vargas; Hungria (1997); Santos *et al.* (2008) o teor do fósforo no solo é originado por duas fontes: da solubilização da rocha matriz (minerais apatíticos ou fosfatos de cálcio) e pela decomposição dos materiais orgânicos (restos vegetais e animais mortos, entre outros), sendo esta última fonte escassa nas áreas de superpastejo por ausência de vegetação e, conseqüentemente, diminuição da atividade da microbiota do solo. De acordo com Siqueira; Andrade; Faquin (2004) a biomassa microbiana do solo recicla cerca de 70 vezes mais fósforo por ano do que a fitomassa, pois os micro-organismos do solo têm participação ativa nas transformações do P no solo, influenciando sua disponibilidade para as plantas e seu fluxo na natureza.

5.2 Densidade de estirpes nativas de rizóbios para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.

De acordo com a determinação do número mais provável de células viáveis rizobianas para a cultura do feijão-caupi (Tabela 6), nas áreas avaliadas, pode-se observar uma variação nas amostras analisadas de cada área em estudo, com uma dinâmica diferencial, fato justificado pelo manejo do solo (exclusão de animais e superpastejo), suas características químicas, tipo de vegetação e histórico de uso das áreas.

Tabela 6. Densidade de células viáveis rizobianas em áreas de exclusão de animais e de superpastejo. Irauçuba-CE.

Densidade de células viáveis rizobianas	Área 1 Fazenda Aroeira	Área 3 Fazenda Formigueira	Área 4 Fazenda Cacimba Salgada	Área 5 Fazenda Cacimba Salgada
	Células/10 g _{solo}			
Exclusão	13,3	98	13,3	14
Superpastejo	1,3	51	57	0

Na Área 1 - Fazenda Aroeira, a densidade de células rizobianas viáveis foi maior na área de exclusão de animais com um valor médio de 13,3 cél./10 g solo (Figura 3), enquanto que a área de superpastejo apresentou um valor médio de 1,3 cél./10 g solo (Tabela 6). Devem ser consideradas também as características químicas do solo e a ausência de vegetação na área, o que induz aos rizóbios a adaptarem-se às condições saprofíticas, ocorrendo eventualmente perda do material genético envolvido na qualidade da fixação biológica do nitrogênio. De acordo com Zilli *et al.* (2013) as condições de fertilidade do solo podem dificultar a sobrevivência dos rizóbios no solo.

Figura 3. Células rizobianas viáveis na área 1 de exclusão (preservada do ano 2000) no município de Irauçuba-CE, (aumento de 1000 x).

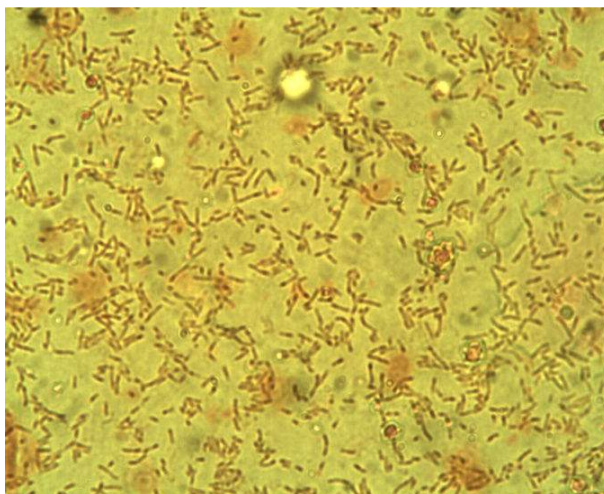


Foto: Mascena: Matos 2013.

Na Área 3 - Fazenda Formigueiro pode-se observar que a área de exclusão de animais apresentou uma maior densidade de células rizobianas viáveis de 98 cél./10 g solo em relação a de superpastejo (51 células/g solo), demonstrando que a preservação do solo na área exclusão e o restabelecimento inicial da macroflora nativa influenciaram esse resultado.

Resultados diferentes podem ser observados na área 4 de exclusão de animais, pois a área apresentou valor médio bem baixo (13,3 cél./10 g solo) em comparação a de superpastejo (57 células/g_{solo}). Entretanto, a ausência ou os valores baixos de células rizobianas viáveis no solo em áreas de exclusão de animais também podem estar relacionados com o baixo requerimento de nitrogênio pelo sistema, uma vez que se pressupõe uma condição de equilíbrio nessas áreas, ou seja, nas áreas preservadas o nitrogênio é proveniente da ciclagem

de nutrientes no solo através da decomposição da matéria orgânica fornecida pela vegetação presente nessas áreas. Lima *et al.* (2009) explicam que em ambientes preservados o requerimento de nitrogênio pode ser suprido por uma ciclagem eficiente da matéria orgânica e, portanto, não havendo estímulo para o estabelecimento da simbiose.

A Área 5 - Fazenda Cacimba Salgada comportou-se totalmente diferente das demais, pois somente a área de exclusão de animais apresentou células viáveis rizobianas para a cultura do feijão-caupi, proporcionando uma média de 14 cél./10 g solo. Já na área de superpastejo não foram encontradas células rizobianas viáveis (Tabela 6).

Sene *et al.* (2012) ao estudarem a abundância de rizóbios em solo de uma área degradada e em sistemas florestais no semiárido de Senegal, observaram um aumento de células rizobianas, de acordo com o número mais provável, ao contrário da área desmatada a qual apresentava valores bem menores.

Outro aspecto a ser observado nas áreas de exclusão de animais e superpastejo é a variação do pH da solução do solo (Tabela 4), pois apresentaram valores abaixo da neutralidade. Esses valores de pH da solução do solo podem ter influenciado na densidade de células viáveis rizobianas no solo. De acordo com Ali *et al.* (2009) as células rizobianas crescem em uma faixa de pH que varia entre 6,0 e 7,0 e poucas estirpes apresentam um bom crescimento em pH menor que 5,0. Hungria;Vargas (2000) relatam que o pH da solução do solo constitui um dos principais fatores limitantes à fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico. Martins *et al.* (2011) relatam que a acidez da solução do solo pode deprimir a população de rizóbios no solo, podendo afetar alguns processos citoplasmáticos das bactérias que sejam sensível ao fator de acidez do solo. Também vale ressaltar que existem estirpes rizobianas tolerante à acidez do solo, mais essa tolerância depende da espécie vegetal e das estirpes envolvidas na simbiose. Normalmente, esse fato ocorre quando essas estirpes são isoladas de solos em condições de acidez, pois esses isolados conseguem desenvolver mecanismos para sua sobrevivência local.

5.3 Isolamento e autenticação de estirpes nativas de rizóbio para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo no município de Irauçuba-CE.

Na tabela 7 estão relacionados os totais de estirpes rizobianas selecionadas e autenticadas nas quatro áreas do município de Irauçuba-CE para a cultura do feijão-caupi. Foram obtidas, no total, 19 estirpes de rizóbios nativos provenientes das quatro áreas (exclusão e superpastejo) localizadas no município de Irauçuba-CE.

Tabela 7. Número de estirpes rizobianas autenticadas em associação ao feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE.

Área 1 Fazenda Aroeira	Área 3 Fazenda Formigueira	Área 4 Fazenda Cacimba Salgada	Área 5 Fazenda Cacimba Salgada
Estirpe 1 (Exclusão)	Estirpe 8 (Exclusão)	Estirpe 14 (Exclusão)	Estirpe 18 (Exclusão)
Estirpe 2 (Exclusão)	Estirpe 9 (Exclusão)	Estirpe 15 (Superpastejo)	Estirpe 19 (Exclusão)
Estirpe 3 (Exclusão)	Estirpe 10 (Exclusão)	Estirpe 16 (Superpastejo)	
Estirpe 4 (Exclusão)	Estirpe 11 (Superpastejo)	Estirpe 17 (Superpastejo)	
Estirpe 5 (Exclusão)	Estirpe 12 (Superpastejo)		
Estirpe 6 (Superpastejo)	Estirpe 13 (Superpastejo)		
Estirpe 7 (Superpastejo)			
7 estirpes	6 estirpes	4 estirpes	2 estirpes

Durante a etapa de autenticação das estirpes selecionadas observou-se que as plantas de feijão-caupi inoculadas com as 19 estirpes selecionadas (Tabela 7) apresentaram folhas com coloração verde intensa em comparação aos controles com ausência conjunta de inoculação e nitrogênio mineral, além da coloração rósea intensa dos nódulos devido a presença de alta concentração de leghemoglobina, demonstrando que uma simbiose eficiente estava estabelecida.

De acordo com a Tabela 7 pode-se observar que os maiores números de estirpes de rizóbios autenticados foram obtidos da Área 1 - Fazenda Aroeira, a qual apresentou sete estirpes isoladas, sendo cinco estirpes provenientes da área de exclusão de animais e dois da área de superpastejo.

O maior número de estirpes rizobianas autenticadas que se associaram a cultura do feijão-caupi obtidas da área de exclusão de animais pode estar relacionado com o manejo em pousio desde o ano 2000 associado a uma vegetação predominante de uma espécie de leguminosa nativa (jurema-preta). Outro aspecto importante a ser ressaltado é que o feijão-caupi é uma espécie não seletiva, ou seja, pode associar-se com praticamente qualquer estirpe rizobiana presente no solo podendo, portanto, ser utilizada como indicadora da existência de

uma população rizobiana nativa e dispersa no solo. Em relação ao menor número de estirpes isoladas e autenticadas na área de superpastejo, esse fato pode estar relacionado ao avanço da degradação do solo (consumo excessivo da vegetação pelos animais e processo erosivo).

Na Área 3 - Fazenda Formigueiro pode-se observar que foram encontradas seis estirpes rizobianas selecionadas e autenticadas para a cultura do feijão-caupi. Dessas, três estirpes foram provenientes da área de exclusão de animais e três da área de superpastejo.

O maior número de estirpes selecionadas e autenticadas para a Área 3 está de acordo a densidade de células rizobianas viáveis encontrada na Tabela 6. Outro fator que pode ter influenciado esse resultado foi o pH da solução do solo, pois o mesmo encontrava-se numa faixa ligeiramente ácida entre 5,0 e 5,2 (Tabela 5). Siqueira; Moreira (2006) relatam que valores de pH abaixo de 5,5 reduzem consideravelmente a simbiose com feijão-caupi, afetando todos os aspectos da nodulação e da fixação biológica de nitrogênio, desde a sobrevivência e a multiplicação do rizóbio no solo até o processo de infecção e desenvolvimento do nódulo, diminuindo a intensidade de fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

Na Área 4 - Fazenda Cacimba Salgada foram selecionadas e autenticadas quatro estirpes nativas, das quais uma foi proveniente da área de exclusão de animais e três da área de superpastejo, ou seja, foram obtidas mais estirpes na área de superpastejo. Esses resultados encontrados para a área de superpastejo não eram os esperados, visto que essa área estava sob um intenso processo de degradação, no qual a vegetação é explorada fortemente através do superpastoreio. Provavelmente esses resultados podem estar relacionados com o histórico de uso da área, vegetação predominante, manejo inadequado do solo, tipo de solo, clima (temperatura, período chuvoso) da região e cultura implantada antes da adoção do sistema de superpastejo.

Pinto *et al.* (2009) relatam que o cenário dessa região muda logo após as primeiras chuvas (período Chuvoso), pois a impermeabilidade dos horizontes subsuperficiais desses solos dificulta a drenagem, favorecendo a permanência de água na superfície e a instalação de um tapete herbáceo-graminóide formando extensas áreas de campos, diferentemente do que ocorre no período de estiagem, no qual a exposição dos solos é completa pois a vegetação é submetida ao superpastejo. Os mesmos autores relatam que os solos do município de Irauçuba-CE apresentam uma grande variedade, embora nos setores onde ocorre maior erosão predominem os Planossolos intercalados com Neossolos litólicos, ocupando os setores mais rebaixados. Todos esses fatores ambientais citados acima podem influenciar no crescimento

das populações nativas de rizóbios e no restabelecimento dos micro-organismos do solo e da vegetação, tanto no período chuvoso e de estiagem.

5.4 Caracterização Morfológica de Estirpes Autenticadas de Rizóbios em Áreas de Exclusão e Superpastejo do Município de Irauçuba - CE.

As características culturais morfológicas de dezenove estirpes de rizóbios (Tabela 7) autenticadas e selecionadas para utilização nos ensaios de avaliações da eficiência simbiótica com feijão-caupi estão listadas na Tabela 8. De acordo com os dados obtidos, pode-se observar que, dos dezenove estirpes rizobianas, somente a de número dezoito apresentou diferença em relação ao meio (básica) diferindo, assim, das demais. Estas, por sua vez, apresentaram características culturais similares (gram negativas, crescimento rápido e acidificação do meio de cultura) durante dozes dias de observação.

As dezenove estirpes rizobianas apresentaram crescimento rápido (3 dias) após a repicagem em placas Petri contendo meio “79” de Allen sólido acrescido com o indicador azul de bromotimol. De acordo com Medeiros *et. al.* (2009) rizóbios de crescimento rápido são comuns nas regiões áridas e semiáridas devido a maior necessidade de uma rápida multiplicação para a perpetuação das espécies nos solos.

Pode-se observar que as estirpes selecionadas (1 a 7) da Área 1 - Fazenda Aroeira sob as condições de exclusão de animais e superpastejo apresentaram similaridade entre si enquanto que a única diferenciação observada foi em relação a coloração, pois as estirpes 1 e 2 apresentaram cor branca. Todas as estirpes apresentaram crescimento rápido e elevada produção de muco, características típicas de estirpes de ambientes com pouca umidade. Possivelmente essas estirpes podem ser da mesma espécie, já que apresentaram características morfológicas similares, embora não se possa afirmar com segurança uma vez que não foram realizados testes moleculares para um definitivo posicionamento taxonômico. Nesse aspecto, é muito importante ressaltarmos que estudos futuros sejam realizados para uma melhor compreensão da ecologia microbiana nessas áreas com o emprego dessas técnicas moleculares.

As estirpes selecionadas da Área 3 - Fazenda Formigueiro de exclusão e superpastejo apresentaram similaridades com as da Área 1 como também entre si, tendo como única diferenciação a característica transparência (branco leitoso), em comparação com as estirpes 8, 9, 10, 11 e 12 dessa mesma área. Já nas Áreas 4 e 5 - Fazenda Cacimba Salgada pode-se observar as mesmas semelhanças entre as estirpes com exceção da estirpe 18, a qual promoveu acidificação do meio de cultivo.

Tabela 8. Caracterização morfológica de estirpes autenticadas de rizóbios em associação com feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE.

Estirpes	Origem	Forma	Borda	Elevação	Cor	Transparência	M: Quantidade	M: Elasticidade	Reação	Gram
1	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Branco	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
2	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Branco	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
3	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
4	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
5	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
6	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
7	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
8	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
9	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
10	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
11	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
12	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
13	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branco leitoso	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
14	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
15	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
16	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
17	Superpastejo	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Translúcida	Abundante	Pouca	Ácida	Negativa
18	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Branca leitoso	Abundante	Pouca	Básica	Negativa
19	Exclusão	Irregular	Inteira	Achatada	Hialino	Amarelada	Abundante	Muito	Ácida	Negativa

T - tempo; M - Muco.

Geralmente o crescimento rápido, produção de muco elevado e acidificação do meio de cultivo das estirpes de regiões áridas e semiáridas estão relacionados com a estratégia de sobrevivência em ambientes sob condições adversas de estresses bióticos e abióticos, pois essas estirpes apresentam maior tolerância a períodos secos e se multiplicam rapidamente no ambiente, quando encontram condições ideais de temperatura, umidade e pH favoráveis a sua multiplicação. Tan; Broughton (1981) sugerem que essas alterações de pH no meio de cultivo é promovida pela utilização preferencial das estirpes de crescimento rápido pelos açúcares presentes no meio de cultura e pela excreção de ácidos orgânicos após o consumo desse açúcar.

Teixeira *et al.* (2010) ao estudarem rizóbios nativos da caatinga encontraram 61 estirpes de crescimento rápido e 6 de crescimento lento. Tais resultados encontrados reforçam os dados encontrados nesse trabalho, onde 18 estirpes apresentaram crescimento rápido e somente uma apresentou crescimento lento, com acidificação do meio. Santos *et al.* (2007) também encontraram resultados semelhantes ao estudar a diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais.

Os solos do município de Irauçuba-CE apresentam características favoráveis ao desenvolvimento dessas estirpes de crescimento rápido, pois é uma região de clima semiárido com baixa precipitação pluviométrica e elevado índice de desmatamento, proporcionando condições adversas de estresse bióticos e abióticos para essas estirpes de crescimento rápido. Essas condições adversas de estresse podem proporcionar uma maior tolerância dessas estirpes ao ambiente. Segundo Santos *et al.* (2007) as regiões de clima semiárido apresentam características peculiares, estando toda a sua biodiversidade em condições permanente de estresse, seja de temperatura ou de baixa precipitação pluviométrica, podendo afetar diretamente a sobrevivência e a eficiência dos micro-organismos no solo.

5.5 Eficiência Fixadora de Estirpes Nativas de Rizóbios Seleccionadas em Plantas Feijão-Caupi em Áreas de Exclusão de Animais e Superpastejo no Município de Irauçuba - CE.

5.5.1 Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes de rizóbias isoladas da Área 1 - Fazenda Aroeira - Irauçuba – CE

Todas as estirpes rizobianas inoculadas induziram a formação de nódulos nas raízes principais das plantas de feijão-caupi nas áreas analisadas. Como era de se esperar, a adubação nitrogenada mineral produziu os maiores valores de nitrogênio total e de massa da

matéria seca da parte aérea das plantas pois receberam solução nutritiva de Hoagland; Armon (1950) com esse elemento. Os tratamentos controle, não inoculados, não apresentaram nodulação radicular (Tabela 9).

Tabela 9. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Aroeira, Irauçuba – CE.

Área 1 - Fazenda Aroeira	MSPA (g)	Efr (%)	TNPA (g)	MSN (g)
Estirpe 1	1, 6 BC	50 A	73,7 A	0,17 C
Estirpe 2	2, 1 B	64 A	61, 6 A	0, 20 BC
Estirpe 3	1, 9 B	61 A	24, 9 C	0, 23 AB
Estirpe 4	2, 1 B	65 A	22, 8 C	0, 27 A
Estirpe 5	2, 0 B	62 A	23, 5 C	0, 22 B
Estirpe 6	1, 3 C	40 A	20, 1C	0, 08 D
Estirpe 7	2, 0 B	60 A	17,0 C	0, 19 BC
C (+N -R)	3, 3 A	-	68,1 A	Sem nódulos
C (-N -R)	1, 2 C	-	44,8 B	Sem nódulos
CV (%)	17,4%	22,59%	20,9 %	19,6 %

*Valores seguidos por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Legenda: C (+N -R)=controle sem inoculação e com adição de nitrogênio; C (-N -R)= controle sem inoculação e omissão de nitrogênio; TNPA=Teor de nitrogênio na parte aérea; MSPA=matéria seca da parte aérea; Efr (%) = eficiência relativa ao controle adubado com N mineral; MSN= matéria seca dos nódulos.

Na tabela 9 pode-se observar que as estirpes 2, 3, 4, 5 e 7 foram as que mais influenciaram na produção da matéria seca da parte aérea das plantas (MSPA), enquanto as estirpes 1 e 6 foram as que menos contribuíram, não apresentando diferença estatística significativa em relação ao controle absoluto (-N -R). Apesar dessa menor contribuição na produção da MSPA, as estirpes 1 e 6 ainda apresentaram uma eficiência relativa (Efr) ao controle adubado com N mineral variando de 40 a 50 %, respectivamente. Contudo, a estirpe rizobiana 6 também induziu a menor produção da matéria seca de nódulos (MSN), diferindo estatisticamente dos demais isolados, sendo uma das estirpes de menor eficiência relativa ao controle adubado com N mineral.

Cardoso *et al.* (1992) descrevem que quando ocorre uma menor nodulação, usualmente ocorre também uma menor eficiência fixadora de nitrogênio nas plantas associadas com rizóbios, embora alguns pesquisadores tenham obtido resultados que demonstram que essa correlação nem sempre é verdadeira. Freitas *et al.* (2011), avaliando a

nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano, constataram que nenhum dos parâmetros de nodulação avaliados (número e biomassa de nódulos) explicou as proporções de nitrogênio fixado pelas plantas, sugerindo que essas variáveis têm pouca relação com a eficiência simbiótica.

A estirpe rizobiana 4, foi a que mais se destacou entre as demais, pela maior Efr., MSPA e MSN, porém as estirpes rizobianas 1 e 2 foram as que mais acumularam N na parte aérea das plantas avaliadas (Tabela 9), apresentando nódulos bem característicos com distribuição uniforme na raiz principal do feijão-caupi. Lima *et al.* (2005) relatam que populações nativas são constituídas por grande diversidade de estirpes, com eficiência simbiótica variável, algumas das quais podem ser recomendadas para testes de eficiência agronômica.

Rufino *et al.* (2014) relatam que diversos fatores (temperatura, pH, salinidade, umidade dentre outros) podem comprometer a eficiência das estirpes inoculadas em feijão-caupi. Um desses fatores é a capacidade do feijão-caupi nodular com diferentes espécies de rizóbios, embora nem sempre apresentando uma boa eficiência fixadora. Além disso, o processo de fixação biológica de nitrogênio também é influenciado pelas características genótípicas do macro e do microssimbionte, refletindo nas diversas respostas em relação à planta hospedeira, especificidade e eficiência simbiótica das estirpes testadas (COSTA *et al.*, 2011).

É importante ressaltar que o desempenho simbiótico observado pelas estirpes nativas da Área 1 em substrato estéril deve ser confirmado a campo para que essas possam ser selecionadas e recomendadas como inoculante para o feijão-caupi em condições semiáridas. Futuramente essas estirpes poderão ser testadas quanto à sua eficiência por cultivares desenvolvidos em programas de melhoramento de plantas para o feijão-caupi, com o objetivo de maximizar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio.

De acordo com Singh *et al.* (2002) os programas de melhoramento de plantas de feijão-caupi costumam focar o caráter precocidade, resistência a pragas e doenças, armazenamento, produtividade e característica dos grãos produzidos. Geralmente esses programas não visam a melhoria da contribuição da fixação biológica N₂ para o favorecimento do crescimento vegetal e da produção de grãos da cultura de feijão-caupi.

No Brasil, o programa de melhoramento do feijão-caupi, coordenado pela Embrapa Meio-Norte, tem como objetivos principais o desenvolvimento de cultivares com porte adequado para exploração pela agricultura familiar e pela agricultura empresarial; o incremento da produtividade e da resistência a estresse hídrico; o aumento dos teores de

proteína, ferro e zinco e a melhoria da qualidade visual e culinária dos grãos (FREIRE FILHO, 2011) desconsiderando, portanto, o potencial da contribuição da simbiose fixadora do atmosférico N₂.

5.5.2 Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizobianas isoladas Área 3 - Fazenda Formigueiro - Irauçuba - CE.

As estirpes selecionadas e autenticadas da Área 3 de exclusão e superpastejo também foram testadas em relação à eficiência simbiótica relativa fixadora do nitrogênio atmosférico para a cultura do feijão-caupi (Tabela 10).

Tabela 10. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Formigueira, Irauçuba – CE.

Área 3- Fazenda Formigueiro	MSPA (g)	Efr (%)	TNPA (g)	MSN (g)
Estirpe 8	33,65 B	41 A	3,46 A	0,19 A
Estirpe 9	34,32 B	38 A	0,09 D	0,14AB
Estirpe 10	36,40 B	39 A	1,39 B	0,16 A
Estirpe F11	37,52 B	39 A	1,34 B	0,14AB
Estirpe F12	24,42 C	22 B	1,35 B	0,10 B
Estirpe F13	32,55 B	38 A	1,35 B	0,18 A
C (+N -R)	74,07 A	-	0,77 C	Sem nódulos
C (-N -R)	5,82 D	-	1,34 B	Sem nódulos
CV (%)	8,80	5,12	4,52	20,44

*Valores seguidos por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Legenda: C (+N -R)=controle sem inoculação e com adição de nitrogênio; C (-N -R)= controle sem inoculação e omissão de nitrogênio; TNPA=Teor de nitrogênio na parte aérea; MSPA=Matéria seca da parte aérea; Efr (%) = eficiência relativa ao controle adubado com N mineral; MSN= matéria seca dos nódulos.

As seis estirpes rizobianas autenticadas e inoculadas nas plantas de feijão-caupi por ocasião da semeadura contribuíram para a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) com uma eficiência relativa (Efr) da fixação biológica do nitrogênio em relação ao controle adubado com N mineral (100 %), variando de 22 a 41 %.

O isolado 8 foi o que apresentou a maior Efr na fixação biológica de nitrogênio (41 %) e no TNPA, apresentando também maior produção de matéria seca dos nódulos, porém

não apresentou diferença estatística significativa em relação às estirpes 9, 10, 11 e 13 em relação à MSPA e Efr.

O estudo da eficiência fixadora de N₂ nas estirpes nativas das regiões semiáridas para cultura do feijão-caupi tem evidenciado a ocorrência de uma grande variabilidade funcional, fato esse possivelmente relacionado a alta capacidade dessa espécie vegetal em associar-se com diversas espécies de bactérias nativas do grupo rizóbio. Alcantara (2014) também confirmou que, nas leguminosas, a fixação biológica de N₂ é bastante variável e depende das espécies das bactérias simbióticas testadas.

O estudo dessas bactérias simbióticas nativas apresenta grande importância ecológica e econômica, pois proporciona uma seleção de estirpes nativas eficientes e adaptadas às condições ambientais da região semiárida. De acordo com Leite (2011), a prospecção de bactérias simbióticas que nodulam o feijão-caupi representa uma estratégia importante na região semiárida, pois é a etapa inicial para seleção de estirpes eficientes para produção de inoculantes para uso biotecnológico. Esse aspecto é fundamental nos sistemas de produção agrícola onde o aporte de tecnologia é baixo, como ocorre nas áreas de produção familiar.

A associação simbiótica de feijão-caupi com bactérias fixadoras de N₂ pode aumentar a produtividade e diminuir os custos de produção em virtude da redução do uso de fertilizantes nitrogenados Soares *et al.* (2006). No entanto, as estirpes selecionadas em casa de vegetação podem não apresentar o mesmo potencial de fixação no campo em virtude de fatores ambientais adversos, como competição com populações nativas rizobianas, adaptações às condições ambientais locais (temperatura, umidade e pH) e à própria promiscuidade do feijão-caupi. Santos *et al.* (2007) descreve que condições ambientais adversas (temperatura ou baixa precipitação) podem afetar a sobrevivência e a eficiência dos rizóbios em ambientes de clima semiárido

5.5.3 Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizobianas isoladas da Área 4 - Fazenda Cacimba Salgada - Irauçuba - CE.

Em relação à Área 4, a adubação nitrogenada mineral produziu os maiores valores de matéria seca da parte aérea das plantas (Tabela 11). Todas as estirpes rizobianas induziram a formação de nódulos nas raízes principais das plantas de feijão-caupi inoculadas.

Tabela 11. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba – CE.

Área 4 Fazenda Cacimba Salgada	MSPA (g)	Efr (%)	TNPA (g)	MSN (g)
Estirpe 14	1,33B	38 A	37,72 B	0,10A
Estirpe 15	1,20B	34 A	36,70 B	0,12A
Estirpe 16	1,20B	34 A	36,67 B	0,12A
Estirpe 17	0,76C	22B	31,62 C	0,11 A
C (+N -R)	3,46A	-	74,27 A	Sem nódulos
C (-N -R)	0,09D	-	5,67 D	Sem nódulos
CV (%)	7,66	11,36	3,78	34,54

*Valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Legenda: C (+N -R)=controle sem inoculação e com adição de nitrogênio; C (-N -R)= controle sem inoculação e omissão de nitrogênio; TNPA=Teor de nitrogênio na parte aérea; MSPA=Massa seca da parte aérea; Efr (%) = eficiência relativa ao controle adubado com N mineral; MSN=Massa seca dos nódulos.

O tratamento controle não inoculado e não adubado com N mineral não apresentou nodulação radicular, resultado esse corroborado pelos baixos valores de nitrogênio total e massa seca da parte aérea. O tratamento controle não inoculado adubado com nitrogênio mineral também não apresentou nodulação radicular, embora tenha apresentado os maiores valores de MSPA e TNPA.

As quatro estirpes rizobianas autenticadas e inoculadas nas plantas de feijão-caupí por ocasião da semeadura contribuíram de forma variável para a produção de MSPA com uma Efr, variando de 22 a 38 a % em relação ao controle adubado com N mineral (100 %). Nascimento *et al.* (2010) obtiveram isolados de rizóbios nativos capazes de promover crescimento em feijão-caupi equivalente àquele apresentado por plantas que recebiam adubação com N mineral ou mesmo inoculação com estirpes comercialmente recomendadas.

As estirpes 14, 15 e 16 foram os que mais contribuíram para a produção de MSPA, um maior TNPA e Efr., enquanto a estirpe 17 foi a que menos contribuiu, apresentando diferença estatística significativa em relação ao controle absoluto não adubado e não inoculado com rizóbio como também com as demais estirpes (14, 15 e 16).

Em relação a MSN podemos observar que as estirpes 14, 15, 16 e 17 se diferenciaram estatisticamente. Outro aspecto relevante na avaliação da eficiência dos isolados rizobianos nativos foi o posicionamento dos nódulos, os quais estavam formados nas raízes principais das plantas hospedeiras. A distribuição dos nódulos ao longo das raízes

principais aumenta a correlação das estirpes 14, 15 e 16 com um maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea, uma vez que apresentaram uma distribuição nodular na raiz mais caracterizada para uma maior eficiência fixadora do N₂.

5.5.4 Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes rizobianas isoladas da Área 5 - Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba - CE.

Na Área 5 foram testadas duas estirpes pois, no isolamento de estirpes dessa área, foram autenticadas e selecionadas somente 2 estirpes da área de exclusão. De acordo com os resultados pode-se observar que a adubação nitrogenada mineral produziu os maiores valores de MSPA das plantas. Os tratamentos controle, não inoculados, não apresentaram nodulação radicular (Tabela 12).

Tabela 12. Matéria seca da parte aérea, eficiência da fixação simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico, teor de nitrogênio da parte aérea e matéria seca de nódulos e em feijão-caupi inoculado com estirpes de rizóbios provenientes de áreas de exclusão de animais e superpastejo. Fazenda Cacimba Salgada, Irauçuba – CE.

Área 5 Fazenda Cacimba Salgada	MSPA (g)	Efr (%)	NPA (g)	MSN (g)
Estirpe 18	1,65B	56A	39,16B	0,96A
Estirpe 19	1,44C	49B	29,26C	0,14 B
C (+N -R)	2,95A	-	40,18A	Sem nódulos
C (-N -R)	0,96D	-	10,92D	Sem nódulos

*Valores seguidos por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Legenda: C (+N -R)=controle sem inoculação e com adição de nitrogênio; C (-N -R)= controle sem inoculação e omissão de nitrogênio; TNPA=teor de na parte aérea; MSPA=matéria seca da parte aérea; Efr (%) = eficiência relativa ao controle adubado com N mineral; MSN= matéria seca dos nódulos.

As estirpes testadas induziram a formação de nódulos nas raízes principais das plantas inoculadas com interior apresentando coloração rósea intensa pela presença da leghemoglobina, substância responsável pelo transporte de oxigênio para os micro-organismos simbióticos (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006).

A estirpe 18 autenticada e inoculada nas plantas de feijão-caupi por ocasião da semeadura contribuiu para uma eficiência relativa de 56 % em relação ao controle adubado com N mineral (100 %) e, ainda, na fixação de N₂ nas plantas de feijão-caupi coletadas aos 45 dias após a semeadura. Essa mesma estirpe também induziu um acréscimo na produção de MSPA e MSN, diferindo estatisticamente da estirpe 19.

Estes resultados são similares aos obtidos por Fernandes *et al.* (2003), onde os mesmos autores isolaram estirpes de rizóbios nativas capazes de promover o crescimento vegetativo, aumentar o teor de nitrogênio total na parte aérea e a nodulação nas raízes em feijão-caupi. Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com os encontrados por Nascimento *et al.* (2010), na avaliação da eficiência biológica de 21 estirpes nativas na fixação de N₂ atmosférico também em feijão-caupi.

A eficiência biológica do nitrogênio (FBN) atmosférico apresenta um papel importante para o suprimento e complemento de nitrogênio durante o ciclo do feijão-caupi, principalmente no período de desenvolvimento da cultura, pois é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura. De acordo com Rumjanek *et al.* (2006) a FBN é reconhecidamente eficiente em feijão-caupi, pois quando associado a estirpes de rizóbios eficientes pode atingir níveis mais elevados de produtividade. Os mesmos autores observaram que, com a inoculação da estirpe BR 3267 para a cultura do feijão-caupi, houve um incremento de até 40 % em condições de campo e de até 52 % em áreas de agricultores experimentadores.

5.5.5 Avaliação da eficiência simbiótica relativa do nitrogênio atmosférico de estirpes selecionadas com feijão-caupi e inoculadas em plantas de sabiá (Mimosa caesalpiniaefolia Benth.).

As estirpes 2, 11, 14 e 18 provenientes dos testes de eficiência relativa em plantas de feijão-caupi não foram capazes de estabelecer uma relação simbiótica eficiente com as plantas de sabiá. Provavelmente essas estirpes não apresentam afinidade para o estabelecimento de uma associação simbiótica eficiente com essa espécie, a qual exige rizóbios mais específicos. De acordo com Santos; Oliveira; Junior (2013) nas regiões tropicais, para leguminosas tropicais arbóreas como o sabiá, não há muitos estudos sobre as especialidades do processo de fixação biológica de nitrogênio e muito menos de micro-organismos que apresentam capacidade e eficiência fixadora.

Barea; Azocón-Aguilar (1993) comentaram que leguminosas micotróficas são incapazes de fazer uso eficiente da simbiose com rizóbios se não estiverem devidamente micorrizadas, principalmente em solos pobres, como os encontrados no semiárido. Esse fato pode ter contribuído para os resultados experimentais obtidos nesse trabalho, visto que o substrato utilizado foi uma areia lavada e autoclavada, tendo como única fonte de nutrientes a solução nutritiva. Mesmo com essa adubação, talvez as plantas de sabiá tivessem tido um

melhor aproveitamento dos nutrientes, principalmente do P aplicado em solução, se uma associação micorrízica arbuscular estivesse bem consolidada em suas raízes, o que bem pode caracterizar uma dependência micorrízica. Almeida; Freire; Vasconcelos (1987) constataram uma maior efetividade na associação de sabiá com *Rhizobium* sp e *Glomus macrocarpum* na presença das doses 40 e 60 % de fosfato de rocha.

Segundo Caldas *et al.* (2009) a maioria das espécies arbóreas, em sua fase inicial de desenvolvimento, precisam de um maior suprimento de fósforo em consequência do seu reduzido sistema radicular no solo. Por isso, as leguminosas dependem da simbiose como fonte de nitrogênio e necessitam de elevados níveis de fósforo no solo para suprir a necessidade dos nódulos. Maia (2012) também afirma que a associação simultânea entre sabiá - rizóbios - fungos micorrizicos arbusculares favorece o processo de nodulação e, conseqüentemente, fixa elevada quantidade de N₂ em virtude do fungo micorrízico prover uma maior quantidade de fósforo para a planta a partir da solução do solo. Mendes *et al.* (2013) relatam da importância ecológica dessa associação, pois essa relação simbiótica das leguminosas com os micro-organismos edáficos proporcionam uma melhor utilização e conservação dos nutrientes presentes no sistema solo - planta, que conseqüentemente permitem uma maior adaptação ao ecossistema, principalmente em áreas sob processos de degradação, como é o caso dos solos do município de Irauçuba-CE.

Outro aspecto relevante a ser considerado é a pouca disponibilidade de trabalhos científicos que abordem a dupla associação da espécie vegetal sabiá com fungos micorrizicos arbusculares-rizóbios e o seu grau de dependência micorrizica, outros estudos seriam necessários para entender o grau de associação e dependência da dupla associação na espécie vegetal sabiá.

5.6 Estudo da Diversidade de Fungos Micorrizicos Arbusculares (FMA) em Áreas de Exclusão de Animais e Superpastejo.

Os sistemas de manejo e o uso intenso das áreas avaliadas afetaram a densidade de esporos de FMA no solo das áreas de exclusão e superpastejo. De acordo com a tabela 13 pode-se observar que as áreas de exclusão de animais apresentaram maiores densidades de esporos de FMA no solo em comparação as de superpastejo. Esses resultados eram esperados uma vez essas áreas de exclusão permaneceram em repouso desde o ano de 2000, proporcionando uma regeneração da vegetação nesses locais, principalmente de jurema-preta e estilosantes.

Tabela 13. Densidades de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em 100 g de solo das áreas de exclusão de animais e superpastejo do município de Irauçuba-CE.

Densidade de esporos de FMA em 100 g de solo	Área 1	Área 3	Área 4	Área 5
Exclusão	1,43B ^{**}	1,57 B ^{**}	3,73 A ^{**}	2,11A ^{**}
Superpastejo	753,0A ^{**}	630,00 A ^{**}	1,56 B ^{**}	1,29 B ^{**}
CV	7,47	22,80	1,34	3,24

FMA= fungos micorrízicos arbusculares. ^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade (p <.01)

Assim, é possível que o maior número de esporos de FMA nas áreas de exclusão de animais esteja relacionado com a densidade e o tipo de cobertura vegetal presentes nas áreas (jurema-preta, estilosantes). Carneiro *et al.* (1999), estudando o comportamento de forrageiras associadas com fungos micorrízicos arbusculares em áreas degradadas, constataram que a leguminosa estilosantes apresentou uma maior capacidade multiplicadora de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo. Essa alta capacidade multiplicadora de esporos de FMA dessa espécie vegetal pode ser atribuída ao fato da sua elevada dependência micorrízica constatada por Vilela *et al.* (2014).

Outro fator relacionado para a maior ocorrência de esporos de FMA nas áreas de exclusão de animais poderia ser a época de amostragem do solo (período chuvoso) e a presença de raízes de leguminosas principalmente na camada de 0 - 20 cm, pois é o local de maior predominância de esporos em consequência da obrigatoriedade de um hospedeiro para a sua multiplicação e finalização do seu ciclo de vida, caracterizando a associação obrigatória (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006). De acordo com Souza *et al.* (2010) os FMA estabelecem relação simbiótica mutualística com raízes de angiospermas, gimnospermas, além de alguns representantes das briófitas e pteridófitas, pois eles dependem da simbiose com plantas compatíveis para sua multiplicação e perpetuação das espécies no solo. Mello *et al.* (2012) descrevem que essa variação no número de propágulos de FMA reflete diferenças não apenas na comunidade vegetal e de fungos mas, principalmente, em relação à composição química e uso do solo.

Em relação a menor densidade de esporos encontrados nas áreas de superpastejo, pode-se observar que mudanças intensas no uso do solo ocasionaram prejuízos nas características químicas e biológicas do solo, além de favorecer os processos erosivos da camada superficial. Almeida *et al.* (2012), ao estudarem essas áreas do município de Irauçuba-CE, registraram uma maior perda de solo nas áreas de superpastejo em comparação com as áreas de exclusão de animais. Neste caso, atribui-se a menor densidade de esporos de

FMA nas áreas de superpastejo à perda da camada superficial do solo pelos processos erosivos e a ausência da cobertura superficial, a qual apresenta-se como o principal reservatório de esporos de FMA que, no caso de erosão, são perdidos juntamente com o solo (DAY *et al.*, 1987).

Lima *et al.* (2007) observaram os efeitos negativos do aumento da degradação do solo em propágulos de FMA, principalmente nas camadas superficiais (0 - 7,5 cm) em áreas semiáridas do nordeste brasileiro. Carneiro *et al.* (2010) relacionam a quantidade de esporos nativos de micorrizas arbusculares com qualidade da cobertura vegetal existente na área, com os tipos de solo (arenosos ou argilosos) e com as práticas agrícolas empregadas no solo. Os mesmos autores reforçam que os menores números de esporos de FMA têm sido encontrados em solos com vegetação degradada, fato ocorrido nas áreas de superpastejo (degradadas) desse estudo. Barea *et al.* (2011) afirmam que o manejo e uso intenso do solo nos ecossistemas semiáridos pode influenciar de forma negativa a densidade populacional e a diversidade de espécies de FMA nativas no solo.

Outro aspecto importante observado durante esse estudo foi a predominância dos gêneros *Glomus* e *Scutellospora*, ressaltando-se a ocorrência de esporocarpos do gênero *Glomus* no solo, principalmente nas áreas de superpastejo. O gênero *Glomus* apresentou o maior número de esporos nos solos das quatro áreas em estudo. O histórico das áreas, o uso intenso do solo e a baixa diversidade da cobertura vegetal pode ter proporcionado a predominância dos gêneros *Glomus* e *Scutellospora* nas áreas de exclusão de animais e de superpastejo, ocasionando uma baixa diversidade de esporos de outras espécies de FMA, motivado pela pressão de seleção, considerando-se o ambiente peculiar da Caatinga e o uso intenso do solo.

Vários trabalhos relatam a dominância de *Glomus* em solos do semiárido brasileiro (PEREIRA; MAIA, (2008); BEZERRA *et al.* (2010b); MELLO *et al.* (2012)), reforçando os resultados encontrados nesse estudo, uma vez que *Glomus* foi o gênero com mais densidade de esporos, caracterizando sua maior capacidade de adaptação em solos submetidos a estresses bióticos e abióticos. De acordo com Mello *et al.* (2012) os FMA são componentes comuns da microbiota edáfica na região semiárida brasileira, com espécies de *Glomus* sempre predominando neste ambiente.

Os esporos de *Glomus* observados nesse estudo apresentavam geralmente coloração variando de amarelo claro, castanho-claro a marrom-escuro, com formação globosa e sub-globosa e parede espessa, apresentado tamanho variando de 272,4 a 359,07 μm . Em relação a formação de esporocarpos deve ser ressaltado que a predominância de ocorrência foi nas áreas

de superpastejo, com uma média de 27 esporos de *Glomus* por esporocarpos, apresentando coloração marrom-escuro e parede espessa. O gênero *Scutellospora* apresentava-se com a coloração variando de laranja-marrom a vermelho-marrom, com formação globosa, escudo germinativo e parede espessa, com tamanho variando entre 149 a 204 μm .

5.7 Respirometria Basal do Solo (RBS) nas Áreas de Exclusões de Animais e de Superpastejo, Irauçuba-CE.

Na tabela 14 são apresentados os valores de respiração basal do solo, em que observa-se a ausência de diferença estatística significativa ($p > 0,01$) entre as áreas de exclusão de animais e superpastejo para cada área de estudo.

Tabela 14. Médias da produção de C-CO₂ microbiano em amostras de solo em áreas de exclusão de animais e superpastejo. Irauçuba-CE.

mg C-CO ₂ 100 g solo ⁻¹ .	Área 01	Área 03	Área 04	Área 5
Exclusão	12,00 A	9,79 A	10,68 A	11,01 A
Superpastejo	8,72 A	9,11 A	9,72 A	9,54 A
CV	17,56	20,56	14,31	20,23

* Valores seguidos por letras iguais na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$); CV: coeficiente de variação; mg C-CO₂ 100 g solo⁻¹ = respiração basal do solo

As áreas de superpastejo apresentaram uma produção de C-CO₂ próximas a das áreas de exclusão de animais, ao contrário das expectativas. Isso possivelmente pode ser explicado pelas áreas de superpastejo estarem submetidas a um estresse intenso e contínuo (processos erosivos, radiação solar, pisoteio e esgotamento da vegetação pelo consumo intenso dos animais) e, dessa maneira, estimulando a biomassa microbiana do solo a degradar mais rapidamente a pouca matéria orgânica existente no solo.

De acordo com Nunes *et al.* (2009) deve-se ter cuidado na interpretação dos resultados da respiração do solo, uma vez que elevados valores de C-CO₂ tanto podem ser resultantes de acúmulo de matéria orgânica no solo, suscetível à decomposição e com consequente liberação de nutrientes para as culturas, como pode ser reflexo de um consumo intenso de carbono oxidável pela população microbiana para a sua manutenção, o que pode ocorrer quando a biomassa microbiana encontra-se sob condições críticas de estresse biótico e abiótico. Parkin *et al.* (1996) também relatam os cuidados com a interpretação dos dados de C-CO₂ pois, segundo os autores, elevados valores de respiração nem sempre indicam condições desejáveis, pois a curto prazo pode significar liberação de nutrientes para as plantas

e, a longo prazo, perda de C orgânico do solo para a atmosfera. Dessa forma, elevados valores de C-CO₂ podem indicar tanto situações de distúrbio quanto de alto nível de produtividade do sistema (ISLAM; WEIL, 2000). Entretanto, Fialho *et al.* (2006) encontraram resultados diferentes ao observarem uma maior produção de C-CO₂ em área de mata natural em relação à área de cultivo. Provavelmente tais diferenças estão associadas às críticas e distintas condições climáticas e de degradação às quais o solo das áreas de estudo estavam submetidos. Yong-Zhong *et al.* (2006) observaram que as propriedades biológicas do solo, incluindo algumas atividades enzimáticas e respiração basal do solo, melhoraram após dez anos de exclusão de animais das áreas de pastejo, sugerindo que essas áreas degradadas estejam sendo recuperadas lentamente.

Apesar da existência de poucos trabalhos (CUNHA FILHA, 2011) de monitoramento biológico do solo das áreas de Irauçuba-CE, pode-se sugerir que, inicialmente, mudanças nas práticas de manejo do solo nessas áreas de exclusão e animais e superpastejo influenciam a quantidade, a qualidade e a liberação de nutrientes da matéria orgânica para o sistema, o que influencia na produção de C-CO₂ nessas áreas.

Outro aspecto a ser considerado é a qualidade e quantidade do material orgânico depositado nas áreas avaliadas, tendo em vista que nas áreas de exclusão de animais o aporte do material orgânico em sua maioria é proveniente de deposições variadas (raízes, folhas, caules e flores) da leguminosa jurema-preta, a qual tem potencial tanífero (BEZERRA *et al.*, 2010), pois o taninos compreendem uma classe de compostos orgânicos complexos de difícil degradação, cuja concentração química difere consideravelmente entre as espécies de plantas. De acordo com Kraus *et al.* (2003) as consequências ecológicas de níveis elevados de taninos podem incluir respostas alelopáticas, alterações na qualidade do solo, redução da produtividade do ecossistema e afetar os tipos e distribuição de micro-organismos presentes no solo. Já nas áreas de superpastejo, o aporte de matéria orgânica está relacionado principalmente aos excrementos dos animais presentes na área, o qual vai contribuir para a ciclagem de nutrientes no solo, favorecendo a fertilidade e a disponibilidade de nutrientes para as plantas e micro-organismos presentes nas áreas pastejadas (KUZT; O'REILLY; TUNNEY, 2006).

6 CONCLUSÕES

As atuais práticas de manejo do solo empregadas nas áreas de exclusão de animais (pousio) favoreceram a presença de propágulos de fungos micorrízicos arbusculares no solo em decorrência da preservação da vegetação e da conservação da camada superficial do solo.

As estirpes de rizóbios nativas isoladas e testadas das Áreas 1 e 5 estabeleceram simbiose com o feijão-caupi, demonstrado uma eficiência fixadora do N₂ razoável, podendo ser utilizadas em futuros ensaios de competição.

Evidencia-se a necessidade de que mais estudos em relação as propriedades químicas e biológicas dos solos de Irauçuba-CE sejam realizadas, para que se possa buscar alternativas para a redução dos efeitos negativos do processo de degradação observados nas áreas em estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M. I. de. *et al.* Perdas de solo, água e nutrientes em sistemas agroflorestais no município de Sobral, CE. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p.270-278, 2006.

AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J. Evolução das atividades lavoureira e pecuária nos Cerrados. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). **Integração lavoura-pecuária**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p.25-58, 2003.

ALCANTARA, R. M. C. M. de. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 1-9, 2014.

ALMEIDA, C. L. de.; OLIVEIRA, J. G. B. de.; ARAÚJO, J. C. de. Impacto da recuperação de área degradada sobre as respostas hidrológicas e sedimentológicas em ambiente semiárido. **Water Resources and Irrigation Management**, v.1, n.1, p.39-50, 2012.

ALMEIDA, C. L. de. **Impacto da recuperação de área degradada sobre as respostas hidrológicas e sedimentológicas em ambiente semiárido**. 132.f, 2011. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia Agrícola, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Fortaleza, 2011.

ALENCAR, V. B. de ; CRUZ, M. L. B. da. Impactos sócio- espaciais oriundos do processo de desertificação: a dinâmica das unidades geoambientais e suas consequências no município de Irauçuba-ce. **Revista Geonorte**, v.1, n.4, p.721 - 729, 2012.

ALEXANDDER, M. Most probable number method for microbial populations. In: BLACK, C. A.; **Methods of Soil analysis - Chemical and microbiological properties**. Madison, American Society of Agronomy, v.2, 1965, p.1467-1472.

ALEF, K. Soil Respiration. In: ALEF, K.; NANNPIERI, P. (Ed.) **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**, 1995, p.234-245.

ALLEN, O. N. **Experiments in Soil Bacteriology**, 3 ed., 1957, 177p.

ALENCAR, V. B. de; CRUZ, M. L. B. da. V. Impactos sócio- espaciais oriundos do processo de desertificação: a dinâmica das unidades geoambientais e suas consequências no município de Irauçuba-CE. **Revista geonorte**, v.1, n.4, p.721 - 729, 2012.

ALI, S. F.; RAWAT, L. S.; MEGHVANSI, M. K.; MAHNA, S. K. Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of Rajasthan, India. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v.4, p.13-18, 2009.

ANDRADE, A. G. DE; TAVARES, S. R. DE L.; COSTA, C. H. L. da. Contribuição da serapilheira para recuperação de áreas degradadas e para manutenção da sustentabilidade de sistemas agroecológicos. **Informe agropecuário**, v.24, n.220, p.5563,2003.

ARAÚJO FILHO, J. A. de. **Manejo pastoril sustentável da caatinga**. 200 p. 2013.

- ARAÚJO FILHO, J. A. de. *et al.* Avaliação de leguminosas arbóreas, para recuperação de solos e repovoamento em áreas degradadas, Quixeramobim-CE. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.1-4, 2007.
- AZEVEDO, R. L.; RIBEIRO, G. T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão Guandu: Uma Planta Multiuso. **Revista da Fapese**, v.3, n. 2, p. 81-86, 2007.
- BALBINO, L. C. *et al.* Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. **Pesquisa agropecuária brasileira**.v.46, n.10, 2011.
- BARRETT, C.F.; PARKER, M. A.; Coexistence of Burkholderia, Cupriavidus, and Rhizobium sp. nodule Bacteria on two Mimosasp. in Costa Rica. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.1198-1206, 2006.
- BAREA, J. M. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. **Journal of Arid Environments**, v.75, p.1292-1301, 2011.
- BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUIAR, C. Micorrizas and their significance in nodulating-fixing plants. **Advances in Agronomy**, v.36, p.1-54, 1993.
- BASTOS, V. J. *et al.* Avaliação da fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi submetido a diferentes manejos da vegetação natural na savana de Roraima. **Revista Agro@ambiente**, v. 6, n. 2, p. 133-139, 2012.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. de A. *et al.* **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais**, 2008, p. 7-16.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In. FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de planta**. Sociedade brasileira de ciência do solo, 2006, p.53-88.
- BEZERRA, F. G. S. Distribuição espacial do superpastejo de ovinos e caprinos no Brasil. **Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. 16p. 2009.
- BERTONI, J; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do Solo**, 7 ed., Editora Ícone, 2008, 355p.
- BEZERRA, A. K. P. *et al.* Rotação cultural feijão-caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1075-1082, 2010a.
- BEZERRA, M. E. de J. *et al.* Biomassa, atividade microbiana e FMA em rotação cultural milho/feijão-de-corda utilizando-se águas salinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 562-570, 2010b.
- BEZERRA, F. G.S. *et al.* Distribuição espacial do superpastejo de ovinos e caprinos no Brasil. In. SOBER 47º CONGRESSO-SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA,

- ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, p.1-16, 2009, **Resumo...** Porto Alegre, p.1-16, 2009.
- CALDAS, G. G. *et al.* Efeito da fertilização fosfatada na produção de raízes, liteira e nodulação de *Mimosa caesalpinifolia* benth. **Revista Árvore**, v.33, n. 2, p.237-244, 2009.
- CARNEIRO, R. F. V. *et al.* Doses de fósforo e inoculação micorrízica no cultivo de estilosantes em solo sob condições naturais. **Archivos de zootecnia**, v. 59, n. 227, p. 416.
- CARNEIRO, M. A. C. *et al.* Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e da aplicação de fósforo no estabelecimento de forrageiras em solo degradado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.9, p.1669-1677, 1999.
- CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. In: CARDOSO, E. J. B. N.; SAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Editora: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 1. Ed., 1992, 360p.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. *et al.* Eficiência da inoculação combinada de rizóbio e *Trichoderma* spp. em diferentes cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) no cerrado (Savana Brasileira). **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.1, p.20-28,2014.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 4, p. 709-714, 2010.
- CIRILO, A. J. *et al.* Políticas públicas de recursos hídricos para o semi-árido. **Estudos avançados**. v. 63, p.22, 2008.
- COELHO, V. H. R. Dinâmica do uso e ocupação do solo em uma bacia hidrográfica do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.18, n.1, p.64-72, 2014.
- CONCOSTRINA-ZUBIRI . L. *et al.* Biological soil crusts greatly contribute to small-scale soil heterogeneity along a grazing gradient. **Soil Biology e Biochemistry**, n.64, p.28-36, 2013.
- COSTA, E. M. da. Atividade biológica e caracterização de estirpes rizobianas de feijão-caupi isoladas de solo do município de Irauçuba/CE. 2013, 39. Monografia (Graduação em agronomia) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- COSTA, G. S. *et al.* Aporte de nutrientes pela serapilheira em uma área degradada e revegetada com leguminosas arbóreas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.28, p.919-927, 2004.
- COSTA, E. M. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2011.
- CUNHA FILHA, L. S. da. **Efeitos da aplicação de tortas de pinhão manso e ma no crescimento do feijão-caupi e nas propriedades químicas e biológica de um solo degradado de Irauçuba-CE**. 2011, 66p. Dissertação, (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

D'ANDREA, A. F. *et al.* Análise exploratória de atributos do solo em sistemas de manejo na bacia do rio Cuiá, em João Pessoa-PB, empregando análise de componentes principais (PCA). **VII CONNEPI**, 8.p, 2012.

DAY, L. D.; SYLVIA, D. M.; COLLINS, M. E. Interactions Among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil, and landscape position. **Soil Sciencia Sociedade Ambiental**, v.51, p.635-639, 1987.

DIAS, R. L. F. **Intervenção Públicas e Degradação Ambiental no Semi-Árido Cearense (O Caso de Irauçuba)**. Dissertação, (Mestrado no Programa Regional de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente - PRODEMA), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

DIEL, D. *et al.* Distribuição horizontal e vertical de fósforo em sistemas de cultivos exclusivos de soja e de integração lavoura-pecuária-floresta. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v.49, n.8, p.639-647, 2014.

DÖBEREINER, J. A importância da fixação biológica de nitrogênio para agricultura sustentável. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 1, n. 01, 1997. Disponível em:<www.biotecnologia.com.br/revista/bio01/1hp_15.pdf>. Acesso em: 2012.

EMBRAPA - Empresa brasileira de agropecuária. **Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) Árvore de Múltiplo uso no Brasil**, n.104,4p, 2003. (Comunicado técnico-EMBRAPA).

EMPRAPA - Empresa brasileira de agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. 2. Ed., 1997, 212p.

FERREIRA, R. L. C. *et al.* Deposição e acúmulo de matéria seca e nutrientes em serapilheira em um bosque de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.). **Revista Árvore**, v. 31, n.1, p.7-12, 2007.

FIALHO, J. S. *et al.* Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi-CE. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n.3, p.250-257, 2006.

FOGEL, G. F. *et al.* Efeitos da adubação com dejetos suínos, cama de aves e fosfato natural na recuperação de pastagens degradadas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 66 -71, 2013.

FOLHA EDUCATIVA DE IRAUÇUBA. **Irauçuba ameaçada pela desertificação**. v. 1, 2009. <http://comcultura.org.br/wp-content/uploads/2012/07/folha-educativa-irauçuba-ameaçada-pela-desertificacao.pdf>. Acesso em março de 2012.

FERNANDES, M. F. *et al.* Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, v. 38, n. 7, p. 835-842, 2003.

FREITAS, A. D. S. de. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1856-1861, 2011.

FREITAS, A. D. S. de *et al.* Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.9, p.1856-1861, 2011.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 46, p. 235-244, 1963.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v.65, p.151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.819-830, 1997.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. EMBRAPA,1994, 552.p.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I.; **The water culture method of growing plants without soil**, 32p, 1950.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal 2012 Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?lang=&codmun=230610&idtema=121&search=ceara|iraucuba|pecuaria-2012> >. Acesso em: abril. 2014.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ- IPECE. Perfil Básico Municipal – Irauçuba. Secretaria do Planejamento e Coordenação. Fortaleza- CE. 2011.

INVAM, International Culture Collection of (vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Morgantow, EUA: West Virginia University, 1998. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em maio, 2012.

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.79, p.9-16, 2000.

JEDDI, K.; CHAIEB, M. Changes in soil properties and vegetation following livestock grazing exclusion in degraded arid environments of South Tunisia. **Flora**, v.205, p.184-189, 2010.

JOHN, W. P.; KARL, F.; DEAN, D. R. Nitrogenase Structure and Function: A Biochemical-Genetic Perspective Department of Biochemistry and Anaerobic Microbiology, **Magazine Microbiology**, v.49, p.33-66,1995.

- KOTZÉ, E. *et al.* Rangeland management impacts on the properties of clayey soils along grazing gradients in the semi-arid grassland biome of South Africa. **Journal of Arid Environments**, n. 97, p.220-229, 2013.
- KIRIACHEK, S. G. *et al.* Regulação do desenvolvimento de micorrizas Arbusculares. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.33, p.1-16, 2009.
- KRAUS, T. E. C.; DAHLGREN, R. A.; ZASOSKI, R. J. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. **Plant and Soil**, n. 256, p.41-66, 2003.
- KURZ, I.; O'REILLY, C. D., TUNNEY, H. Impact of cattle on soil physical properties and nutrient concentrations in overland flow from pasture in Ireland. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, n.113, p.378-390, 2006.
- LANDIM, R. B. T. V.; SILVA, D. F. DA.; ALMEIDA, H. R. R. DE C. Desertificação em Irauçuba (CE): Investigação de Possíveis Causas Climáticas e Antrópicas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.01, p.01-21, 2011.
- LEITE, J. **Caracterização de bactérias nativas de solos do semiárido brasileiro isoladas de nódulos de feijão-caupi**. 2011, 51p. Dissertação, (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.
- LIU, R.T. *et al.* Effects of Cultivation and Grazing Exclusion on the Soil Macro-faunal Community of Semiarid Sandy Grasslands in Northern China. **Arid Land Research and Management**, v. 27, n. 4, 2013.
- LIMA, A. A. de *et al.*, Diversidade e capacidade simbiótica de rizóbios isolados de nódulos de mucuna-Cinza e mucuna-Anã. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v.36, p.337-348, 2012.
- LIMA, B. G. de. **Caatinga: espécies lenhosas e herbáceas**, 2012, p.222-225.
- LIMA, A. S. *et al.* Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Regionas indicated by nodulation of siratro (*Macropodium atropurpureum*). **Plant Soil**, v. 319, p.127-145, 2009.
- LIMA, C. J. G. S. *et al.* Resposta do feijão-caupi a salinidade da água de irrigação. **Revista Verde Agroecologia Desenvolvimento Sustentavel**. v. 2, n.2, p.79-86, 2007.
- LIMA, R. L. F. De A. *et al.* Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares em solos deficientes em fósforo sob diferentes usos, da região semi-árida no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, v. 31, n.2, p.257-268. 2007.
- LOPES, J. *et al.* Nodulação e produção de raízes do *estilosantes* mineirão sob efeito de calagem, silicatagem e doses de fósforo. **Ciência agrotécnica**, v. 35, n. 1, p. 99-107, 2011.

LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. Í.; MELO, W. J. DE. Recuperação de solos degradados na exploração mineral de cassiterita: biomassa microbiana e atividade da desidrogenase. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p.132-138, 2011.

LIMA, A. S.; PEREIRA, J. P. A. R.; MOREIRA, F. M. S. Diversidade fenotípica e eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium spp.* de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.1095-1104, 2005.

LI, X. R.; JIA, X. H. DONG, G. R. Influence of desertification on vegetation pattern variations in the cold semi-arid grasslands of Qinghai-Tibet Plateau, North-west China. **Journal of Arid Environments**, v. 64, p.505-522. 2006.

LOPES, A. S. **Manual de fertilidade do solo**. São Paulo: ANDA/POTAFOS, 1989, 153 p.

LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. Í.; MELO, W. J. de; Recuperação de solos degradados na exploração mineral de cassiterita: biomassa microbiana e atividade da desidrogenase. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p.132-138, 2011.

MAIA, G. N. **Caatinga árvores e arbustos e suas utilidades**. 2 .ed, 2012, p.333-341.

MARTINS, A. F. *et al.* Diversidade genética, tolerância aos fatores de acidez e eficiência simbiótica de rizóbios para cornichão de solos do rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 35, p.1855-1864, 2011.

MARTINS, L. M. V. *et al.* Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biol Fertil Soils**, v. 38, p. 333-339. 2003.

MELLO, C. M. A. de. *et al.* Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.4, p.938-943, 2012.

MEDEIROS, E. V. de *et al.* Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do estado do Rio Grande do Norte. **Acta Scientiarum**, v. 31, n. 3, p. 529-535, 2009.

MENDES, M. M. C. *et al.* Crescimento e sobrevivência de mudas de sabiá (*mimosa caesalpiniaefolia* benth.) inoculadas com micro-organismos simbiotes em condições de campo. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 2, p. 309-320, 2013.

MENDES FILHO, P. F. Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através da revegetação e do manejo microbiano. 2004, 89 p, Tese de doutorado, da Escola de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

MOREIRA, F. M. S. SIQUEIRA, J. O. Fixação biológica do nitrogênio. In: MOREIRA, F. M. S. SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed., 2006, p.501-529.

MOREIRA, F. M. de S. *et al.* Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. n.1, v.2, p. 74-99, 2010.

NASCIMENTO, L. R. S. *et al.* Eficiência de isolados de rizóbios nativos do agreste paraibano em caupi. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 36-42, 2010.

NUNES, L. A. P. L. *et al.* Impacto da queimada e de enleiramento de resíduos orgânicos em atributos biológicos de solo sob caatinga no semi-árido nordestino. **Revista Caatinga**, v. 22, n.1, p.131-140, 2009.

OLIVEIRA, J. J. F.; ALIXANDRE, T. F. Parâmetros biométricos de mudas de sabiá micorrizadas sob níveis de fósforo em Latossolo Amarelo. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 74, p. 158-167, 2013.

PAM/ IRAUÇUBA - Plano de ação municipal de combate a desertificação de Irauçuba. Irauçuba, CE. v. 2, 40p., 2009.

PARKIN, T. B.; DORAN, J.W.; FRANCO-VIZCAINO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J.W.; JONES, A., eds. **Method for assessing soil quality**. Madison, Soil Science Society of America, 1996. p.231-245.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Ciências Solo**, v. 32, n.3, p. 911-920, 2008.

PEI, S; FU, H. WAN, C. Changes in soil properties and vegetation following enclosure and grazing in degraded Alxa desert steppe of Inner Mongolia, China. **Agriculture, Ecosystems and Environmet**, p.1-7, 2007.

PEREIRA, C. M. R.; MAIA, L. C. Estudos da atividade microbiana do solo e da diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas nativas do semi-árido utilizando métodos taxonômicos tradicionais. **Anais..., Congresso de Iniciação Científica de Pernambuco**, 4p, 2008.

PINTO, R. M. da S. Mapas de variabilidade temporal do uso e cobertura da terra do núcleo de desertificação de Irauçuba (CE) para utilização em modelos meteorológicos. **Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal, Brasil, p. 6077-6083, 2009.

PROFFITT, A. P. B.; JARVIS, R. J.; BENDOTTI, S. The impact of sheep trampling and stocking rate on the physical properties of a red duplex soil with two initially different structures. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 46, p.733-47, 1995.

QUEIROZ, L. P. de. **Leguminosas da caatinga**. 2009, 914p.

YOKOTA, K., HAYASHI, M. Function and evolution of nodulation genes in legumes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.68, p. 1341-1351, 2011.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (ed.) **Nutrição Mineral de Plantas**. SBCS, Viçosa, 2006. 154-194p.

RILLIG, M. C. *et al.* Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant and Soil**, v. 233, p. 167-177, 2001.

ROSOLEM, C.A.; MARUBAYASHI, O. M. Seja o doutor do seu feijoeiro. Informações Agronômicas, n.68, p.1-16, 1994. (Encarte).

RUFINI, M. *et al.* Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutradox. **Biol Fertil Soils**, v. 50, p.115- 122, 2014.

RUMJANEK, N. G. *et al.* Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: Avanços tecnológicos**, cap. 8, 2006, p.279-335.

RUMJANEK, N. G. *et al.* Feijão-caupi tem uma nova estirpe de rizóbios, BR3267, recomendada como inoculante. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. EMBRAPA-Agrobiologia, n.15, 2006.

SALCEDO, I. H.; SAMPAIO; E. V. S. B. Matéria orgânica do solo no Bioma Caatinga. In: SANTOS, G. de A. *et al.* **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais e subtropicais**, 2008, p. 7-16.

SALES, M. C. L.; OLIVEIRA, J. G. B. de. Análise da degradação ambiental no núcleo de Irauçuba. In: SILVA, J. B.da *et al.* Litoral e sertão, natureza e sociedade no nordeste brasileiro, p. 201-209, 2006.

SAMPAIO, E. V. S. B. *et al.* Impactos ambientais da agricultura no processo de desertificação no Nordeste do Brasil. **Revista de Geografia do Departamento de Ciências Geográficas da UFPE**, v. 22, n. 01, p. 93-113, 2005.

SAMPAIO, D. B. *et al.* Colonização micorrizicas arbuscular e tolerância ao mal-do-panamá em mudas de banana-maçã. **Revista ciência agrônômica**, p.1-8, 2012.

SANTOS, M. P. dos. Fixação de N₂, solubilização de fosfato e produção de AIA por estirpes de *Bradyrhizobium* simbióticas em Angico vermelho e tamboril. 2013,70p. Dissertação, (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola) – Centro de ciências agrárias, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2013.

SANTOS, Í. A. F. M.; OLIVEIRA, C. S. DE; JUNIOR, M. DE A. L. Avaliação do potencial simbiótico de 42 isolados rizobianos de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.). XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX – UFRPE, 3p, 2013.

SANTOS, G. de A. *et al.* Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. In: BAYER, C.; JOÃO MIELNICZUK. **Dinâmica da matéria orgânica**. 2008, p. 1-5.

SANTOS, C. E. de R. E S *et al.* Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 2, n.4,f p.249-256, 2007.

SCHNEIDER, J. *et al.* Espécies tropicais de pteridófitas em associação com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p.709-714, 2012.

SCHENCK, N. C.; PEREZ, Y. **A manual of identification of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi**, 2 ed, 1990. 241p.

SENE, G. *et al.* The abundance and diversity of legume-nodulating rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungal communities in soil samples from deforested and man-made forest systems in a semiarid Sahel region in Senegal. **European Journal of Soil Biology**, v. 52, p. 30-40, 2012.

SILVA, A. B. Estoque de serapilheira e fertilidade do solo em pastagem degradada de *brachiaria decumbens* após implantação de leguminosas arbustivas e arbóreas forrageiras. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.37, p.502-511, 2013.

SILVA JÚNIOR, E. B. da. *et al.* Eficiência agrônômica de nova formulação de inoculante rizobiano para feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.1, p.138-141, 2012.
SIQUEIRA, O. J.; ANDRADE, A. T.; FAQUIN, V. O papel dos micro-organismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas as plantas. In.YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. **Fósforo na agricultura brasileira**. Associação brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato, 2004, p.117-156.

SINGH, B. B.*et al.* **Advances in Cowpea Research**. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria and Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba, Ibaraki, Japan. JIRCAS 1997.

SINGLETON, P.W; BOHLOOL, B. B; NAKAO, P.L. **Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: myths and realities**. In: Lal R, Sanchez PA (eds) *Myths and science of soils of the tropics*. Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, Madison, Wis., 1992, p.135-155.

SINGH, B. B. *et al.* Recent progress in cowpea breeding. In: FATOKUN, C. A.; TARAWALI, S. A.; SINGH, B. B.; KORMAWA, P. M.; TAMO, M. (Ed.). *Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production*. Ibadan: IITA, 2002. p. 22-40.

SOUSA, C. DA S. *et al.* Influências da temperatura de armazenamento e de extratores na determinação de glomalina em solos Paraibanos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 837-841, 2011.

SOUZA, F. A. *et al.* Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O. *et al.* **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**, 2010, p. 15-73.

SOUSA, F. P. de. Degradação de solos por atividades agropastoris em áreas sob processo de desertificação: o caso de Irauçuba, Ceará. 89p, 2009. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Ciências do Solo, Fortaleza, 2009.

SOARES, A. L. de L. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em perdões (MG). I – caupi. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.30, p.795-802, 2006.

TAVARES, R. C. *et al.* Colonização micorrízica e nodulação radicular em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 3, p. 409-416, 2012.

TAN. K. P.; BROUGHTON W. J. Rhizobia in tropical legumes-xiii. Biochemical basis of acid and alkali reactions. HYPERLINK "<http://www.sciencedirect.com/science/journal/00380717>" \o "Go to Soil Biology and Biochemistry on ScienceDirect", v.13, p.389-393, 1981.

TEIXEIRA, F. C. P. *et al.* Characterization of indigenous rhizobia from Caatinga. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.41, p. 201-208, 2010.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Micro-organismos e processos microbiológicos como indicadores de qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V; COSTA, L. M (Eds.) **Tópicos em ciência do solo**. v. 2, 2002, p.195-276.

TRESEDER, K. K.; TURNER, K. M. Glomalin in Ecosystems. **Soil Science Society of America**, v. 71, p. 1257-1266, 2007.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford, Blackwell Scientific, (International Biological Programme Handbook), 1970,164p.

VARGAS, M. A. T., HUNGRIA, M. Fixação biológica do N₂ na cultura da soja. In: Vargas, M.A.T., Hungria, M. (Eds.), **Biologia dos Solos de Cerrados**. EMBRAPA-CPAC, 1997, p. 297-360.

YONG-ZHONG, S. *et al.* Influences of continuous grazing and live stock exclusion on soil properties in a degraded sandy grassland, Inner Mongolia, northern China. **Catena**, n.59, p.267-278, 2005.

ZILLI, J. É. *et al.* Dinâmica de rizóbios em solo do cerrado de Roraima durante o período de estiagem. **Acta Amazonia**, v.43, n.2, p. 153-160, 2013.