

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE FLORESTAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**AMBIENTAIS E FLORESTAIS**

**DISSERTAÇÃO**

**Uso de *topsoil* como fonte de inóculo de  
microrganismos simbiotes para leguminosas  
florestais usadas na recuperação de áreas  
degradadas na Caatinga**

**Felipe Ferreira da Silva**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS**

**Uso de *topsoil* como fonte de inóculo de microrganismos simbiotes para  
leguminosas florestais usadas na recuperação de áreas degradadas na  
Caatinga**

**FELIPE FERREIRA DA SILVA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Guilherme Montandon Chaer**

*e Co-orientação do Pesquisador*  
**Ederson da Conceição Jesus**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Ciências**, no  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Ambientais e Florestais,  
Área de Concentração em  
Conservação da Natureza.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2018

**Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**  
**Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico**

S586u Silva, Felipe Ferreira, 1989-  
Uso de topsoil como fonte de inóculo de  
microrganismos simbiotes para leguminosas florestais  
usadas na recuperação de áreas degradadas na Caatinga  
/ Felipe Ferreira Silva. - 2018.  
73 f.: il.

Orientador: Guilherme Montandon Chaer.  
Coorientador: Ederson da Conceição Jesus.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Ambientais e Florestais , 2018.


1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Recuperação de  
áreas degradadas. 3. Exploração de piçarra. 4. Topsoil.  
5. Bioma Caatinga. I. Chaer, Guilherme Montandon,  
1975-, orient. II. Jesus, Ederson da Conceição, 1979-  
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Ambientais e Florestais . IV. Título.

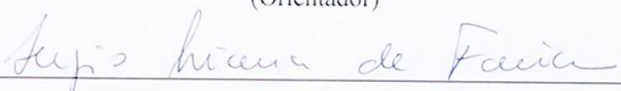
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS

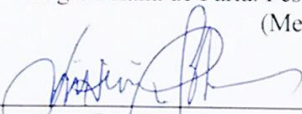
FELIPE FERREIRA DA SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, área de Concentração em Conservação da Natureza.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 22/02/2018

  
\_\_\_\_\_  
Guilherme Montandon Chaer. Pesq. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Sergio Miana de Faria. Pesq. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Membro)

  
\_\_\_\_\_  
Luis Henrique de Barros Soares. Pesq. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Membro)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Altivo José da Silva e Mariulzete Mendes Ferreira da Silva, por todo amor, confiança e investimento em minha formação.

Ao meu irmão, Arthur Ferreira da Silva, pela amizade e companheirismo.

À minha querida avó Zeni da Conceição Cardoso, pelo carinho, amor e dedicação.

À minha companheira e cúmplice, Thainá Alves dos Santos, por me fazer sorrir em momentos difíceis, assumir e encarar todos os desafios ao meu lado e ajudar em todas as etapas experimentais desta pesquisa.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por não somente possibilitar a minha formação em Engenharia Florestal, como o ingresso ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, no qual pude ampliar meus conhecimentos e crescer profissionalmente.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Unidade Agrobiologia, por toda infraestrutura que possibilitou a realização da pesquisa.

Ao orientador e pesquisador, Guilherme Montandon Chaer, por todo o conhecimento transferido, além de paciência, compreensão e parceria.

Ao co-orientador e pesquisador, Ederson da Conceição Jesus, pelo conhecimento transferido e por ser sempre solícito em ajudar, mesmo fora do horário de expediente.

Ao pesquisador Sergio Miana de Faria por sempre estar disposto a solucionar quaisquer dúvidas em relação à pesquisa realizada.

Ao pesquisador Alexander Silva de Resende, pela amizade, conhecimento e boa vontade conferidos.

Aos membros do Laboratório de Micorrizas, Itamar, Orivaldo e Eliane, pela atenção, amizade e conhecimento proporcionados.

Aos funcionários do Campo Experimental Terraço e Casa de vegetação, Alderi, Eugênio, Zé Pedro, Luciano, Edvaldo, Seu Bira, Seu Aurélio, Roberto Carlos e Ernani, por todas as ajudas prestadas, vivência e alto astral.

À equipe do Laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa Agrobiologia (estudantes, técnicos e pesquisadores) e à pesquisadora Janaína Rows, por toda assistência e convívio.

Ao Analista Marcelo Antonioli pela paciência, dedicação e conhecimentos transferidos.

Aos Analistas da Petrobras Frederico e Cristiano, pela atenção, parceria, retorno, participação e troca de conhecimentos ao longo de todas as etapas do presente estudo.

À banca examinadora, pelo aceite na participação desta etapa e no enriquecimento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos e todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

## RESUMO GERAL

SILVA, Felipe Ferreira da. **Uso de *topsoil* como fonte de inóculo de microrganismos simbiotes para leguminosas florestais usadas na recuperação de áreas degradadas na Caatinga.** 2018. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Instituto de Florestas, Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

A piçarra constitui-se em um material mineral composto principalmente de silte, areia e cascalho utilizado como aterro em bases de poços, estradas de acesso e demais estruturas industriais ligadas à exploração de petróleo em terra no estado do Rio Grande do Norte. A retirada deste material ocorre em jazidas de área reduzida, porém causa grande impacto na paisagem devido a remoção da vegetação nativa e das camadas superficiais do solo. Ao final do processo de exploração, as jazidas de piçarra além de locais de exploração de petróleo descomissionadas devem ser recuperadas, o que envolve o plantio de espécies pioneiras e capazes de se estabelecer nesse substrato. Várias espécies da família Leguminosae possuem a capacidade de adaptação a solos degradados e desprovidos de matéria orgânica. Entretanto, essa adaptação depende do estabelecimento de simbioses com bactérias fixadoras de nitrogênio (rizóbios) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA). O primeiro capítulo deste estudo teve como objetivo caracterizar a piçarra e o *topsoil* de áreas adjacentes com vegetação nativa da Caatinga quanto à presença de rizóbios e esporos de FMA. As áreas de estudo constituíram-se de duas jazidas de exploração de piçarra (J1 e J2), uma central de resíduos e uma base de poço, sendo as duas últimas, áreas que receberam aterros com piçarra. Os solos foram amostrados na camada de 0 a 10 cm e caracterizados quanto à fertilidade, textura e presença de rizóbios e FMA. Os esporos de FMA foram resgatados a partir da técnica do peneiramento úmido, contados e identificados. A densidade de rizóbios foi determinada pelo número mais provável (NMP) obtido a partir da inoculação de plantas-isca das espécies *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth. (jurema-preta) e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá). A fertilidade e os teores de matéria orgânica das jazidas de exploração de piçarra foram inferiores aos das áreas de vegetação nativa. A classe textural das amostras coletadas foi predominantemente arenosa. O maior NMP foi obtido na jazida J2 e em vegetação nativa adjacente a esta, especialmente no período chuvoso. O número de esporos de FMA foi superior nas áreas de vegetação nativa especialmente na época seca. O segundo capítulo teve como objetivo avaliar a eficiência do uso de *topsoil*, proveniente de área de vegetação nativa, como inoculante de FMA e rizóbios para a espécie *M. caesalpiniiifolia* Benth. Um experimento foi delineado com os seguintes tratamentos: (1) inoculação de plantas com 10 g de *topsoil* de área nativa anexa à jazida 1; (2) idem T1 com *topsoil* de área nativa anexa à jazida 2; (3) inoculante de rizóbios e (4) rizóbios + FMA produzidos em laboratório; (5) testemunha absoluta (TA); (6) TA com substrato autoclavado; (7) testemunha nitrogenada (TN) e (8) TN + FMA. A dupla inoculação com rizóbio e FMA promoveu o maior crescimento das plantas, massa de nódulos e colonização micorrízica, porém estatisticamente semelhante aos tratamentos com *topsoil*. Os resultados demonstraram a habilidade do *topsoil* em fornecer propágulos de rizóbios e FMA eficientes em promover o crescimento da espécie testada. Estudos adicionais deverão ser realizados visando confirmar esse potencial com outras espécies nativas da Caatinga assim como para avaliar o desempenho do uso do *topsoil* como inoculante em condições de campo.

**Palavras-chave:** exploração mineral de piçarra; fixação biológica de nitrogênio; fungos micorrízicos arbusculares.

## GENERAL ABSTRACT

SILVA, Felipe Ferreira da. **Use of *topsoil* as source of inoculum of symbiotic microorganisms for forest legumes used in the recovery of degraded areas in the Caatinga.** 2018. 73p. Dissertation (Master Science in Environment and Forest Science). Instituto de Florestas, Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The piçarra consists of a subsoil material composed mainly of silt, sand and gravel used as embankment in pump jack bases, access roads and other industrial structures used in the onshore oil exploration in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. The mining of this material occurs in small areas, but causes great impact in the landscape due to the removal of the native vegetation and of the soil upper layers. At the end of the exploration, the piçarra mines and other decommissioned oil exploration locations must be recovered, which involves the planting of pioneer species capable of establishing in the piçarra. Several species of the Leguminosae family have the capacity to adapt to degraded soils without organic matter. However, this adaptation depends on the establishment of symbioses with nitrogen-fixing bacteria (rhizobia) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The first chapter of this study aimed to characterize the piçarra and the topsoil of adjacent areas with native vegetation of the Caatinga biome in relation to the presence of rhizobia and spores of AMF. The study areas consisted of two decommissioned mines of piçarra (J1 and J2), and a waste deposit and a pump jack base, both covered with piçarra. Soils were sampled in the 0 to 10 cm layer and characterized for fertility, texture and presence of rhizobia and AMF. The AMF spores were rescued using the wet-sieving technique, counted and identified. The density of rhizobia was determined by the most probable number (MPN) obtained from inoculation of bait plants of *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth. (jurema-preta) and *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá). The fertility and organic matter contents of the piçarra plots were lower than those of native vegetation. The textural class of the collected samples was predominantly sandy. The highest MPN of rhizobia was obtained in the J2 deposit and in native vegetation adjacent to it, especially in the rainy season. The number of AMF spores was higher in native vegetation areas especially in the dry season. The second chapter aimed to evaluate the efficiency of the use of topsoil, from native vegetation area, as an inoculant of AMF and rhizobia for *M. caesalpiniiifolia* Benth species. An experiment was outlined with the following treatments: (1) inoculation of plants with 10 g of topsoil from a native area nearby J1; (2) idem T1 with topsoil of a native area nearby J2; (3) rhizobium inoculant and (4) rhizobia + AMF produced in the laboratory; (5) absolute control (TA); (6) TA with autoclaved substrate; (7) nitrogenous control (TN) and (8) TN + AMF. The double inoculation with rhizobia and AMF promoted the highest plant growth, nodule mass and mycorrhizal colonization, but statistically similar to treatments with topsoil. The results demonstrated the ability of topsoil to provide propagules of rhizobia and AMF efficient in promoting the growth of the tested species. Further studies should be carried out to confirm this potential with other native Caatinga species as well as to evaluate the performance of topsoil as an inoculant under field conditions.

**Keywords:** mineral exploration of piçarra; biological nitrogen fixation; arbuscular mycorrhizal fungi.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Padrões de tipos de piçarra encontrados nas áreas de estudo. Nota-se a coloração mais clara da piçarra encontrada na jazida J1 e na Central de Resíduos em contraste com a coloração mais avermelhada da jazida J2 e Base de Poço. .... 22
- Figura 2.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação seca, utilizando *Mimosa caesalpinifolia* como planta isca. .... 23
- Figura 3.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação seca, utilizando *Mimosa tenuiflora* como planta isca. .... 24
- Figura 4.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação chuvosa, utilizando *Mimosa caesalpinifolia* como planta isca. .... 24
- Figura 5.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado nas jazidas de exploração de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação chuvosa, utilizando *Mimosa tenuiflora* como planta isca. .... 25
- Figura 6.** Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (unidades/50 cm<sup>3</sup> de solo/substrato) obtidos a partir das coletas na estação seca (A) ou na estação das chuvas (B). (CR: Central de Resíduos; BP: Base de Poço; P: piçarra; MA: *topsoil* da mata nativa do bioma Caatinga). .... 27
- Figura 7.** Aspecto de esporos de *Rhizophagus clarus* (A – 100 a 260µm) e *Glomus macrocarpum* (B – 40 a 80 µm), observados sob microscópio. .... 30
- Figura 8.** Crescimento em altura (cm) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. em função da aplicação de diferentes tipos e composições de inoculantes. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Onde: J1 = *topsoil* de mata nativa de Caatinga adjacente à jazida J1; J2 = *topsoil* de mata nativa de Caatinga adjacente à jazida J2; RZ = mix das estirpes de rizóbio BR 3446 e BR 3407; FMA = fungos micorrízicos arbusculares; TA1 = testemunha absoluta; TA2 = testemunha absoluta e substrato autoclavado; TN = testemunha nitrogenada. .... 39
- Figura 9.** Massa de raízes secas (g) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. segundo a aplicação de diferentes tipos e composições de inóculos empregados. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. .... 43
- Figura 10.** Colonização micorrízica de raízes (%) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. em função da aplicação de diferentes tipos e composições de inoculantes. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade. . 44



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Identificação e localização das áreas de estudo. ....	16
<b>Tabela 2.</b> Características químicas* de amostras provenientes dos substratos de jazidas de piçarra e solo de remanescentes de vegetação nativa do bioma Caatinga – RN, na profundidade de 0-20 cm. ....	20
<b>Tabela 3.</b> Classificação textural e percentuais de areia, silte e argila das amostras de solo/substrato. ....	22
<b>Tabela 4.</b> Espécies de FMA identificadas nas amostras de solo/substrato coletadas na estação seca (junho a dezembro) e chuvosa (janeiro a maio) em áreas de exploração e deposição de piçarra no Rio Grande do Norte. ....	29
<b>Tabela 5.</b> Tratamentos utilizados para avaliar o uso do <i>topsoil</i> proveniente de remanescentes nativos da Caatinga como potenciais inóculos de microrganismos para espécies florestais nativas do bioma. ....	36
<b>Tabela 6.</b> Massa de parte aérea seca (MPAS), massa de nódulos secos (MNS), eficiência e eficácia para as plantas de sabiá ( <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.) após 97 dias da semeadura. ....	40

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
2.1 Geral .....	2
2.2 Específicos.....	2
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
3.1 O bioma Caatinga e suas causas de degradação .....	3
3.2 Exploração de piçarra e transposição de <i>topsoil</i> .....	4
3.3 Uso de leguminosas florestais na recuperação de áreas degradadas .....	6
3.4 Fixação biológica de nitrogênio (FBN) através da simbiose entre bactérias diazotróficas e leguminosas .....	8
3.5 Contribuições dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em associação com leguminosas florestais .....	9
<b>CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E RIZÓBIOS EM SUBSTRATOS DE ÁREAS DEGRADADAS PELA EXPLORAÇÃO DE PETRÓLEO NA CAATINGA ...</b>	<b>11</b>
<b>4 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
5.1 Caracterização das áreas de estudo.....	16
5.2 Coleta e processamento de amostras de solo e substrato.....	16
5.3 Análise de fertilidade.....	16
5.4 Análise textural.....	17
5.5 Caracterização biológica das amostras de piçarra e de solo de remanescentes de vegetação nativa do bioma Caatinga – RN .....	17
5.5.1 Determinação da densidade de rizóbios .....	17
5.5.2 Extração, contagem e identificação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) .....	19
5.6 Análise dos dados .....	19
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
6.1. Características químicas das amostras.....	20
6.2. Caracterização textural das amostras.....	22
6.3 Quantificação de rizóbios nas amostras .....	23
6.4 Contagem e identificação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) .....	26
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>31</b>

<b>CAPÍTULO II - DESEMPENHO DE <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth. INOCULADA COM TOPSOIL PROVENIENTE DE VEGETAÇÃO NATIVA DO BIOMA CAATINGA ....</b>	<b>32</b>
<b>8 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>9 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
9.1 Delineamento experimental.....	36
9.2 Preparo das plântulas e inoculação.....	36
9.3 Avaliações .....	37
9.4 Análise dos Dados .....	38
<b>10 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
10.1 Altura.....	38
10.2 Massa de parte aérea seca (MPAS), massa de nódulos secos (MNS) e eficiência e eficácia da inoculação .....	40
10.3 Massa de raízes secas .....	42
10.4 Colonização micorrízica.....	44
<b>11 CONCLUSÕES.....</b>	<b>46</b>
<b>12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga ocupa uma área de 844.453 km<sup>2</sup>, o equivalente a 11% do território nacional, abrangendo os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o norte de Minas Gerais (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016). Rico em biodiversidade, o bioma abriga 178 espécies de mamíferos, 591 de aves, 177 de répteis, 79 de anfíbios, 241 de peixes e 221 de abelhas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016). Dentre as mais de 30 mil espécies de angiospermas listadas na flora do Brasil (FORZZA et al., 2010), aproximadamente 4500 ocorrem no domínio da Caatinga. Embora isso represente 15% das espécies do país, apenas cerca de 1% da sua vegetação está protegida em unidades de conservação (LEAL et al., 2005; QUEIROZ, 2006).

Dentre as famílias botânicas presentes no bioma, destaca-se a Fabaceae (Leguminosae), estando representada por 86 gêneros e 361 espécies, com um alto grau de endemismo (FLORA DO BRASIL, 2018). Conforme Araújo et al. (2002), as leguminosas ocorrem abundantemente no bioma sendo bem representadas tanto nos estratos arbóreo e arbustivo, como no herbáceo, o que realça sua elevada importância ecológica.

Apesar da relevância das funções ambientais desempenhadas pela Caatinga enquanto bioma, do ponto de vista ambiental, os maiores problemas são o elevado grau de degradação e o baixo conhecimento quantitativo e qualitativo de sua biodiversidade. O bioma Caatinga é, provavelmente, o menos estudado dentre os biomas brasileiros, e é um dos mais degradados em virtude do uso desordenado em toda sua história (ARAÚJO, 2007).

Segundo Campello (1998) e Resende et al. (2013), a extração de minérios como bauxita e piçarra caracterizam uma causa evidente de degradação do bioma. No Estado do Rio Grande do Norte, áreas de extração de piçarra são comuns. A piçarra constitui-se em um material de subsolo composto principalmente por silte, areia e cascalho, o qual é usado para a terraplanagem de novas locações de exploração e produção de petróleo em terra, aterros, construção de barragens, etc. A recuperação dessas áreas, nas quais todo o horizonte superficial foi retirado, é um desafio que demanda a intervenção humana para auxiliar o ecossistema degradado a recuperar sua capacidade de resiliência (RESENDE; CHAER, 2010; LIMA et al., 2015).

A técnica de reposição da camada superior do solo (*topsoil*) como fonte de diásporos e propágulos para o estabelecimento das espécies vegetais funciona como um catalisador do processo de regeneração natural (CUSATIS, 2001). Por esse motivo, o uso do *topsoil* vem sendo amplamente indicado em projetos de recuperação de áreas degradadas. No entanto, verifica-se que ainda existem poucos estudos envolvendo esta técnica de recuperação em áreas degradadas pela atividade mineradora de piçarra na Caatinga (LIMA, 2012).

Segundo Franco et al. (2008), uma técnica usual para a recuperação de áreas degradadas em solos de baixa fertilidade é a utilização de leguminosas associadas a bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares. Estas espécies vegetais em associação com tais grupos microbianos promovem benefícios físico-químicos ao solo como a recomposição dos estoques de N e C, o controle de erosão e a estabilidade de taludes, dentre outros benefícios.

Em virtude da escassez de informações sobre espécies arbóreas capazes de se desenvolver em ambientes degradados por extração de piçarra e do pouco conhecimento acerca da potencialidade do uso do *topsoil* proveniente de remanescente florestal nativo da Caatinga, este conhecimento torna-se de fundamental importância na adoção de técnicas de recuperação de áreas degradadas que melhor se enquadrem na região semiárida.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Caracterizar o substrato de áreas impactadas pela exploração de petróleo na Caatinga e avaliar o desempenho de uso de *topsoil* de áreas com vegetação nativa como fonte de inóculo de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares para leguminosas arbóreas usadas na recuperação de áreas degradadas.

### 2.2 Específicos

- Caracterizar a fertilidade, a textura e quantificar esporos de fungos micorrízicos arbusculares e estirpes de rizóbios eficientes em fixar nitrogênio em substratos de piçarra e em áreas adjacentes com vegetação nativa;
- Avaliar o desempenho de leguminosas florestais frente ao uso de *topsoil* proveniente de áreas de mata nativa adjacentes a jazidas de exploração de piçarra na Caatinga.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O bioma Caatinga e suas causas de degradação

O bioma Caatinga compreende um tipo de vegetação estacional que cobre a maior parte da área com clima semiárido da região Nordeste do Brasil (PRADO, 2003). Este tipo de vegetação compreende uma área de 844.453 km<sup>2</sup> sendo o terceiro maior ecossistema brasileiro, representando 70% da região Nordeste e 11% do território nacional (CASTELLETTI et al., 2003).

Segundo Queiroz (2006a), as Caatingas podem ser caracterizadas em geral, como florestas de porte baixo, compreendendo principalmente árvores e arbustos que geralmente apresentam espinhos e microfilia, com presença de plantas suculentas e um estrato herbáceo efêmero, presente somente durante a curta estação chuvosa. Algumas famílias, como Fabaceae, Euphorbiaceae, Bignoniaceae e Cactaceae são muito importantes por representarem a maior parte da diversidade florística. Dentre estas, Fabaceae é a mais diversa, com 361 espécies, das quais 201 são endêmicas (FLORA DO BRASIL, 2018).

Na Caatinga, as leguminosas destacam-se como recurso alimentar, sendo importantes economicamente para o sustento das famílias sertanejas que as consomem e as utilizam em diversas outras atividades, como na alimentação dos animais de criação, no fornecimento de energia através do uso da lenha, como material para construção, recurso medicinal, entre outros (QUEIROZ, 2009).

Segundo Kill et al. (2009) e Queiroz (2009), a Caatinga é o único bioma de distribuição exclusivamente brasileira, significando que grande parte do patrimônio biológico desse ecossistema não é encontrada em nenhum outro lugar do mundo, denotando a necessidade de sua conservação, tendo em vista a manutenção do seu alto grau de endemismo e riqueza de espécies.

Entretanto, a biodiversidade da Caatinga tem sido progressivamente perdida. O bioma é um dos mais agredidos do Brasil, além de pouco conhecido, estudado e protegido (ABÍLIO, 2010). Trata-se de um dos biomas brasileiros mais alterados pelas atividades antrópicas.

Segundo dados do IBAMA (2016), aproximadamente 80% dos ecossistemas originais do bioma já foram modificados. A falta de políticas públicas adequadas e a ausência do componente ambiental nos planos de desenvolvimento regionais têm contribuído ainda mais para o agravamento da situação, além da imagem de pobreza extrema que se criou em relação ao bioma ao longo do tempo (SILVA et al., 2003).

A exploração dos recursos naturais neste bioma ocorre de forma incorreta, com ausência de estudos e análises da capacidade de suporte dos ambientes. Fato esse devido à falta de estratégias ou iniciativas por parte de órgãos públicos, sociedade civil e comunidades em geral, para a conservação dos ecossistemas (PEREIRA; ALMEIDA, 2011).

O manejo inadequado da caatinga, geralmente iniciado pela remoção da cobertura florestal, tem sido responsável pela degradação e a perda de solos férteis. Estima-se que existam 200 mil quilômetros quadrados de terras degradadas no semiárido brasileiro e que, em muitos locais, estas áreas já estejam imprestáveis para a agricultura (BARBOSA, 2013).

O uso indiscriminado de madeira, lenha e carvão, o pastejo intensivo de animais, o fogo, o uso e o manejo irracional das terras pela agricultura, a mineração, além do baixo nível de renda e cultural da população têm sido apontados como fatores determinantes do desequilíbrio ambiental, indutores de processos de desertificação da região semiárida brasileira (OLIVEIRA-GALVÃO; SAITO, 2003).

É comum verificar nesse ecossistema profundas interferências antrópicas que resultam em severa degradação ambiental, com conseqüente redução na fertilidade dos solos, tornando-os pouco produtivos ou improdutivos (LEITE et al., 2011). O processo de desertificação é acelerado quando ocorre intervenção antrópica associada a fatores naturais, bem como com o uso de métodos agrícolas inapropriados à exploração dos recursos naturais (SOUZA et al., 2004; ARAÚJO; SOUSA, 2011).

Segundo Campello (1999), a degradação do solo pode ser caracterizada pela perda de seus horizontes superficiais e por alterações na sua estrutura. Designadamente, a degradação do solo em áreas onde há exploração ocorre também a remoção da cobertura vegetal e das camadas de solo fértil superficial, o que causa grande impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o número de bactérias, fungos solubilizadores de fosfato e a atividade microbiana do solo (SCHIAVO, 2005).

### **3.2 Exploração de piçarra e transposição de *topsoil***

A mineração é uma das atividades humanas que mais contribui para alteração da superfície terrestre, afetando o local de mineração e ao redor, provocando impactos sobre a água, o ar, o solo, o subsolo e a paisagem como um todo, os quais são sentidos por toda população (GRIFFITH, 1980). A atividade industrial referente à extração de bens de origem mineral no Rio Grande do Norte é muito extensa e variável, onde destacam-se as explorações de areia, argila, argilito, água mineral, calcários sedimentares e metamórficos, caulim, diatomita, espodumênio, feldspato, gemas, gipsita, minério de ferro, pedra britada, rochas ornamentais como granito e rochas afins, mármore, metaconglomerado, granito pegmatoide, scheelita, ouro e talco (ANP, 2012).

Enquanto estas atividades de mineração causam degradação de pequenas áreas em comparação com o desmatamento para a agricultura ou exploração insustentável madeireira, o impacto ambiental local é muito maior, pois o ecossistema sofre alterações drásticas. A perda da biodiversidade do solo através da erosão, as emissões de poeiras, assoreamento e contaminação dos rios e outros corpos de água estão entre os impactos causados pela atividade de mineração (CHAER et al. 2011).

No entanto, a produção de petróleo em terra firme (“*on shore*”) é uma das principais atividades econômicas do Estado do Rio Grande do Norte (ANP, 2012). Segundo o Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural publicado pela ANP (2017), o estado do Rio Grande do Norte apresenta 75 campos de extração de Petróleo e Gás Natural, representando 33% da produção de petróleo em terra do Brasil.

A produção de petróleo em terra no Brasil está concentrada nas áreas semiáridas do Nordeste (bioma Caatinga), sendo um dos principais impactos ambientais desta atividade, causado pela extração de piçarra. O processo de mineração consiste na retirada da vegetação nativa e extração de piçarra a uma profundidade de 2 a 10 m. Ao fim da atividade de mineração, a topografia da área escavada deve ser suavizada e os aterros devem ser revegetados (CHAER, et al., 2011).

As etapas que compõem o processo de abertura de locação de poço de petróleo consistem em uma demarcação do centro da área a ser alocada com um piquete, pelos geólogos responsáveis e, a partir dele e com auxílio de teodolito e trena, a equipe de abertura de alocação, demarca um retângulo com 66 m x 46 m, com acessos de 8 m de largura e comprimento variável em função da distância do ponto de alocação à estrada de acesso. A partir dessa demarcação, o trator de esteira (normalmente um D4 ou D5) retira a vegetação, removendo pequena quantidade de *topsoil* e, em seguida, esse mesmo trator, com auxílio dos topógrafos, aplaina a paisagem a partir da movimentação do terreno do próprio local. Após aplainada, a piçarra é

trazida de jazidas próximas, com o objetivo de elevar a cota da alocação cerca de 30 cm acima da cota do terreno após compactação (LIMA, 2012).

Segundo Vieira et al. (2007), a piçarra é um dos principais componentes do revestimento de estradas. Consiste de crostas ferruginosas que se desenvolvem sobre diferentes estratos rochosos, sendo também empregadas na área da construção civil como componente de argamassa, apresentando valor de mercado em torno de R\$ 38,00/ m<sup>3</sup>.

No estado do Rio Grande do Norte, a extração da piçarra é originária de inúmeras jazidas e promove alterações na paisagem e nos fluxos hidrológicos, além da eliminação da diversidade biológica e a degradação do solo (BATISTA et al., 2009; SHRESTHA; LAL, 2011).

Segundo Resende e Chaer (2010), a piçarra constitui-se em um material de subsolo composto principalmente por silte, areia e cascalho, o qual é usado para a terraplanagem de novas locações de exploração e produção de petróleo em terra, estradas de acesso, aterros, construção de barragens, etc. A recuperação dessas áreas, nas quais todo o horizonte superficial (parte mais fértil do solo e rica em propágulos) foi retirado, é um desafio que na maioria das vezes demanda a intervenção humana para auxiliar o ecossistema degradado a recuperar sua capacidade de resiliência. Para a sua recuperação, normalmente é necessário o plantio de espécies florestais nativas para reativar os processos ecológicos que sustentam as funcionalidades ecossistêmicas e o equilíbrio ambiental dessas áreas degradadas.

Segundo os mesmos autores, dentre as estratégias empregadas para a melhoria das condições do substrato durante os estágios iniciais do processo de recuperação de áreas degradadas por mineração, destaca-se a aplicação de resíduos orgânicos, fertilizantes e solo superficial. A aplicação de solo superficial em áreas que sofreram a retirada dos horizontes superficiais do solo, além de matéria orgânica, pode fornecer sementes, propágulos e material biológico que favorecem o processo de sucessão natural (LIMA, 2012).

De acordo com Figueiredo et al. (2012) e Soliveres et al. (2012), ao final da atividade de mineração, o sítio degradado deve ser condicionado a uma condição não degradada. No entanto, esses ambientes possuem baixa resiliência decorrente da baixa densidade de propágulos, baixa qualidade físico-química do substrato e baixa oferta de chuvas, características da região semiárida.

Segundo Lima et al. (2015), o pouco conhecimento disponível sobre a resistência e o crescimento das espécies nativas da Caatinga tem sido um obstáculo ao delineamento de projetos de restauração adequados as condições do semiárido brasileiro.

De acordo com Andrade et al. (2003), áreas com avançado processo de degradação, que apresentam o subsolo exposto, onde os horizontes superficiais foram removidos, seja pela erosão ou por explorações minerais, necessitam de um rápido recobrimento do solo. Dentre as técnicas utilizadas para revegetação de áreas degradadas com ênfase no manejo da serapilheira, pode-se destacar a extração de serapilheira de remanescentes florestais e posterior colocação sobre o sítio degradado. Dessa forma, busca-se recobrir a superfície erodida o mais rápido possível, minimizando os impactos causados pela enxurrada, e também incorporar propágulos que ficam adormecidos nesta camada e que podem vir a se estabelecer, dependendo das condições ambientais.

Nas áreas de extração de piçarra, a degradação do solo é oriunda da remoção da cobertura vegetal e das camadas de solo fértil superficial (*topsoil*), além da compactação do solo pelo tráfego de máquinas. Nessas condições, o retorno natural da vegetação na área degradada é extremamente limitado e dependente de intervenção antrópica. Essas intervenções normalmente englobam melhorias das condições físico-químicas do substrato seguida da introdução de comunidades vegetais (BENDFELDT et al., 2001).

A técnica de reposição da camada superior do solo (*topsoil*) como fonte de diásporos e propágulos para o estabelecimento das espécies vegetais funciona como um catalisador do



processo de regeneração natural (CUSATIS, 2001). Por esse motivo, o uso do *topsoil* vem sendo amplamente indicado em projetos de recuperação de áreas degradadas.

Leal Filho et al. (2006) avaliando o efeito a médio prazo da aplicação de “*topsoil*” sobre o estabelecimento de espécies provenientes do banco de sementes durante um período de cinco anos, bem como a influência da utilização do mesmo no processo de recuperação de pequenas áreas degradadas pela atividade de exploração de argila, para a construção de estradas em Urucu/AM verificaram que o uso de “*topsoil*” aplicado sobre solo com boas características físicas e químicas, favoreceu a um melhor desenvolvimento de indivíduos quando comparado à área sem adição deste. Almeida (2006), avaliando o efeito da adição de “*topsoil*” sobre camada de material estéril proveniente da exploração de granito, no município de Aimorés/MG, sobre o desenvolvimento de uma espécie indicadora (*Joannesia princeps* Vell.), verificou que a adição de 10 cm de “*topsoil*” favoreceu a um melhor desenvolvimento da espécie em relação à área sem adição do mesmo.

No entanto, verifica-se que ainda existem poucos estudos envolvendo esta técnica de recuperação de áreas degradadas pela atividade mineradora de extração de piçarra na Caatinga (LIMA, 2012).

### **3.3 Uso de leguminosas florestais na recuperação de áreas degradadas**

A família botânica Leguminosae Juss. possui grande riqueza de espécies, sendo considerada a terceira maior família entre as Angiospermas, com 727 gêneros e 19.325 espécies, tradicionalmente distribuídas em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (LEWIS, SCHRIRE; LOCK, 2005). Contudo, estudos recentes utilizando filogenia molecular reconheceram seis subfamílias dentro da família Fabaceae: Duparquetioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae (LPWG, 2017).

De acordo com Lima et al. (2016), as espécies pertencentes à família possuem diversas formas de vida, podendo se caracterizar como arbusto, árvore, erva, liana e subarbusto. Em relação ao substrato em que vivem podem ser classificadas como aquática, epífita, rupícola e terrícola.

Com uma distribuição cosmopolita, a família Fabaceae está bem representada desde os trópicos até regiões mais frias e temperadas, ocorrendo desde desertos a florestas ombrófilas, de planícies a elevadas altitudes (DOYLE; LUCKOW, 2003; FLORES; RODRIGUES, 2010; LEWIS; SCHRIRE; LOCK, 2005). No Brasil, a família é considerada a mais diversa entre as Angiospermas, com cerca de 2.803 espécies e 222 gêneros, presentes nos diferentes domínios fitogeográficos do país (LIMA et al., 2016).

As leguminosas possuem também grande importância econômica, sobretudo na alimentação humana. Além disso, vários outros produtos e substâncias são extraídos das leguminosas, como medicamentos, óleos, combustível, madeira, fibras e diversos componentes químicos (LAVIN; HERENDEEN; WOJCIECHOWSKI, 2005).

O sucesso no uso de leguminosas em programas de reflorestamento é devido, em grande parte, à estratégia de nutrição dessas plantas. A maioria das leguminosas possui a capacidade de se associar com microrganismos capazes de incrementar o crescimento vegetal: as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Com a formação dessa simbiose tripartite, surgem propriedades emergentes ou sistemas funcionais que antes da associação eram inexistentes (SOUZA; SILVA, 1996). Essas associações permitem uma melhor assimilação de compostos nitrogenados, fundamentais ao crescimento das plantas, facilitando a sua colonização em ambientes com solos pouco férteis (QUEIROZ, 2009).

Estas plantas compreendem não só o papel de interromper o processo de degradação, como também ajudam a reativar os mecanismos de regeneração natural (RESENDE et al.,

2005). Além disso, algumas espécies de leguminosas apresentam boa produção de biomassa, com relação carbono-nitrogênio favorável à mineralização, o que proporciona rápido incremento de carbono ao substrato. O uso de leguminosas possibilita a menor intensidade de intervenção futura no sistema e, devido ao melhor condicionamento do substrato, facilitam o estabelecimento de outras plantas no processo sucessional (GRIFFITH et al., 2000).

Conforme Campello (1999), dentre outras vantagens, o plantio de leguminosas arbóreas atende às necessidades de rápido estabelecimento de uma cobertura vegetal conjugado com efeitos de maior duração, como oferta contínua de nitrogênio, elevada deposição de materiais orgânicos de rápida decomposição, além de mudanças microambientais (sombra, retenção de umidade, redução de temperatura).

Esta família botânica apresenta alta capacidade de adaptação aos mais diferentes biomas brasileiros, com seus mais distintos usos. Sua associação com bactérias fixadoras de nitrogênio permite que em solos pobres em nutrientes, espécies capazes de obter significativas contribuições da fixação biológica de nitrogênio (FBN) possam se estabelecer e completar seu ciclo com bons níveis de produtividade (URQUIAGA; ZAPATA, 2000; RESENDE et al., 2003). Neste trabalho, os gêneros citados de bactérias fixadoras de nitrogênio serão indistintamente denominados “rizóbio”.

Desta forma, o uso de leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio inoculadas com estirpes de rizóbio e FMA tem se mostrado eficiente, possibilitando a melhoria do solo através da adição de matéria orgânica ao sistema, com um reduzido investimento financeiro (FRANCO et al., 2008).

Na recuperação de ambientes degradados por mineração é desejável a introdução de espécies com altas taxas de crescimento e sobrevivência que permitam promover o rápido recobrimento do solo, alta produção de matéria orgânica e proteção do solo contra erosão, propiciando o restabelecimento de outras espécies vegetais durante o processo sucessional (CHAER et al., 2011). Os mesmos autores destacam que várias espécies de leguminosas arbóreas se associam a bactérias fixadoras de nitrogênio e FMA, atuando positivamente na recuperação de áreas degradadas por atividade de mineração.

Segundo Franco e Faria (1997), algumas espécies de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas, por se desenvolverem em solos cuja fertilidade é fator limitante para a maioria das espécies vegetais, têm sido empregadas com o objetivo de fornecer nutrientes para espécies em consórcio ou para recuperar os níveis de matéria orgânica de solos degradados. Esta técnica tem sido empregada como alternativa de baixo custo para revegetar e formar uma camada de serapilheira sobre a área degradada (ANDRADE et al., 2003).

Em estudo realizado pela Embrapa Agrobiologia a respeito da recuperação de áreas de estéril e de tanques de rejeito da lavagem da bauxita, produzida pela Mineração Rio do Norte (MRN), em Porto Trombetas, PA, foram testadas diferentes espécies de leguminosas arbóreas nodulantes e não-nodulantes e outras espécies não-leguminosas. Após 22 meses, as espécies de leguminosas fixadoras de nitrogênio apresentaram maior crescimento e produção de biomassa aérea em relação às outras espécies, mostrando seu potencial para se desenvolver em substratos pobres (FRANCO; FARIA, 1997).

Campello (1998) avaliou a influência da revegetação com cinco espécies arbóreas no processo de sucessão vegetal em uma área recuperada por mineração de bauxita. Dentre estas, apenas duas espécies se associavam com bactérias fixadoras de nitrogênio. Após 10 anos do plantio foi constatado que a regeneração natural de espécies nativas foi beneficiada pelos plantios de leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio, sendo a regeneração natural sob estas mais abundante e com maior diversidade de espécies.

Em ambos os casos, a utilização de leguminosas arbóreas com associação de bactérias fixadoras de nitrogênio favoreceu a cobertura vegetal destas áreas em curto prazo, com custos inferiores aos de projetos anteriormente desenvolvidos para o local.

### 3.4 Fixação biológica de nitrogênio (FBN) através da simbiose entre bactérias diazotróficas e leguminosas

O nitrogênio é o nutriente mais abundante na atmosfera, correspondendo a aproximadamente 78% da fração gasosa do ar atmosférico na forma de  $N_2$ , um gás inerte, que não reage quimicamente nas condições naturais. Sua entrada nos sistemas biológicos ocorrem de três formas distintas: (1) através do arraste pela chuva de óxidos de nitrogênio produzidos na atmosfera por descargas elétricas, o que representa cerca de 10% da contribuição global; (2) através da produção de adubos nitrogenados pela indústria de fertilizante pelo processo industrial Haber-Bosch de transformação de  $N_2$  em  $NH_3$ , o qual contribui com 25% da contribuição global e (3) a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (BACA, et al., 2000; SOUZA; FERNANDES, 2006).

A contribuição global da FBN corresponde a 60% do nitrogênio disponível nos solos para a nutrição de plantas, ocorrendo em algumas células procarióticas, as quais são capazes de transformar o N molecular ( $N_2$ ) em amônio ( $NH_4^+$ ) (BACA, et al., 2000; KRAISER et al., 2011), sendo denominados diazotróficos.

Este processo é possível porque esses microrganismos possuem a enzima nitrogenase (DÖBEREINER, 1992), responsável pela quebra da ligação tríplice do gás  $N_2$  usando energia celular na forma de adenosina trifosfato (ATP) (REIS; TEIXEIRA, 2005).

Segundo Rosa et al. (2009), as principais reações bioquímicas que ocorrem nas plantas envolvem a presença do nitrogênio (N), elemento constituinte de vários compostos vegetais, como os aminoácidos, os ácidos nucleicos e a clorofila. Pela grande versatilidade nas reações de oxirredução, estando presente em vários estados de oxidação, desde formas reduzidas como o  $NH_4^+$  até oxidadas como o  $NO_3^-$ , o N possui especial importância nos ciclos biogeoquímicos e no metabolismo das plantas.

A fixação biológica de nitrogênio é comum em plantas da família das leguminosas, e identificada pela presença de uma estrutura peculiar resultante da associação planta-bactéria, o nódulo. Embora comum nas raízes, nódulos também podem ser encontrados no caule (MARTINS et al., 2001).

Nos nódulos ocorre a redução do nitrogênio atmosférico que será transferido para as plantas na forma de amônia, ao mesmo tempo que a bactéria recebe fotossintatos da planta hospedeira (SOUZA, 2003).

Segundo o mesmo autor, inúmeras espécies da família Fabaceae são infectadas por bactérias de alguns gêneros, como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Ensifer* (antigamente denominado *Sinorhizobium*) e *Mesorhizobium*. Todavia, é preciso destacar que gêneros de beta-proteo-bactérias como *Paraburkholderia* e *Cupriavidus* também formam nódulos em fabáceas, sendo chamados de beta-rizóbios (BARRETT; PARKER, 2006).

A escolha da estirpe de bactéria fixadora de nitrogênio é de fundamental importância porque algumas delas apresentam especificidade para plantas leguminosas. É comum encontrar bactérias que têm uma elevada capacidade para FBN quando associada a uma determinada leguminosa, sendo incapazes de nodular ou fixar  $N_2$  com outras espécies (FRANCO; FARIA, 1997).

A seleção das estirpes de rizóbio inicia-se com a identificação no campo de espécies de leguminosas capazes de nodular em condições naturais. Nódulos destas plantas são então recolhidos e, no laboratório, bactérias dentro dos nódulos são isoladas, purificadas e armazenadas em coleções de culturas. Após a fase de isolamento, vários testes são executados para identificar as estirpes mais eficientes no que diz respeito a produção de biomassa vegetal e o N acumulado em relação ao controle sem inoculação (RESENDE et al., 2010).

Dentro do nódulo, a bactéria fixa o nitrogênio e disponibiliza-o para a planta. A energia necessária para a fixação do nitrogênio atmosférico pela bactéria é fornecida pela planta a partir

de compostos de carbono derivados do processo de fotossíntese. A simbiose, então, é caracterizada pela troca de C e N entre a planta e a bactéria (LEITE, 2011).

Bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas podem influenciar a estrutura da comunidade de plantas de várias formas. Por exemplo, o aumento do suprimento de nitrogênio promovido pela FBN estimula o crescimento e competitividade das leguminosas nodulíferas ao mesmo tempo em que estimula o crescimento de outras espécies de plantas, através da transferência do nitrogênio fixado (VAN DER HEIDJEN et al., 2006).

O processo de FBN pode ser afetado por fatores biológicos, químicos e físicos que interferem na simbiose mutualista. Dessa forma, a ausência de nodulação ou nodulação ineficiente em determinada espécie sob determinadas condições edáficas e ambientais pode indicar fatores que limitam o estabelecimento, desenvolvimento e funcionamento da simbiose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Nas leguminosas, os fatores limitantes da simbiose estão relacionados às características intrínsecas da espécie hospedeira, aos fatores climáticos, às condições edáficas e à população nativa de rizóbios (ALCANTARA et al., 2007).

A associação entre planta e rizóbio apresenta grande importância no ponto de vista econômico e ecológico, podendo dispensar total, ou parcialmente o uso de fertilizantes nitrogenados, viabilizando o plantio das espécies com a redução de custos com esse insumo (BARBERI et al., 1998). Segundo Andrade et al. (2003), através da fixação biológica do nitrogênio ( $N_2$ ), plantas leguminosas tornam-se autossuficientes neste elemento e, com a colonização de fungos micorrízicos, suas raízes aumentam a área de contato com o solo, promovendo uma maior absorção de água e de nutrientes, principalmente o fósforo, facilitando assim o estabelecimento e o desenvolvimento vegetal.

Existem estimativas de que, no mundo, o processo de fixação biológica de nitrogênio contribua com  $32 \text{ Tg ano}^{-1}$  de N em áreas cultivadas. No Brasil, a FBN contribui com cerca de  $7,3 \text{ Tg ano}^{-1}$  de N, ou seja, quase três vezes a quantidade de N de fertilizantes industriais ( $2,5 \text{ Tg ano}^{-1}$ ), sendo que só a cultura da soja representa  $3,2 \text{ Tg ano}^{-1}$  de N (FILOSO et al., 2006). Um caso de extremo sucesso relatado na literatura é o da *Sesbania* sp., que chegou a fixar  $286 \text{ kg ha}^{-1}$  em 56 dias, podendo teoricamente suprir a necessidade de nitrogênio de muitas culturas agrícolas (DOMMERGUES et al., 1999).

### **3.5 Contribuições dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em associação com leguminosas florestais**

A associação simbiótica não patogênica entre os fungos micorrízicos e raízes de plantas é conhecida como micorriza (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A maioria das angiospermas, gimnospermas, pteridófitas e numerosas briófitas formam micorrizas. Entretanto, as micorrizas formadas por combinações de diferentes filos de fungos com diferentes grupos de plantas hospedeiras são distinguíveis morfológicamente, formando tipos anatômicos e funcionais de micorrizas conhecidas como micorrizas arbusculares, ectomicorrizas, ectendomicorrizas, micorrizas arbutóides, micorrizas ericóides e micorrizas orquidóides (SAGGIN JUNIOR; SILVA, 2005).

As micorrizas arbusculares são simbioses entre raízes de plantas e fungos do solo do filo Glomeromycota (SCHÜBLER et al., 2001) caracterizadas pela presença endógena de arbúsculos nas células do córtex radicular. As micorrizas arbusculares são encontradas na maioria das plantas e dos ecossistemas terrestres, desde os polares até os tropicais úmidos ou desérticos (SAGGIN JUNIOR; SILVA, 2005).

Conforme Ying Chu (2005), a planta, através do processo fotossintético, fornece carbono e energia para a sobrevivência e multiplicação dos fungos, ao passo que estes absorvem nutrientes minerais e água do solo, transferindo-os para as raízes da planta. O acréscimo em absorção de nutrientes, especialmente os menos móveis como o fósforo, cobre e zinco, resulta

em plantas mais vigorosas e nutridas, apresentando maior resistência às adversidades ambientais. Assim sendo, a micorriza possui importante papel no crescimento e sobrevivência de plantas nos trópicos, locais estes com predominância de solos com carência de fósforo e baixa fertilidade.

O fósforo é o mais importante nutriente que os fungos micorrízicos auxiliam na absorção para fornecer à planta, devido, especialmente, a sua baixa disponibilidade na maioria dos solos e sua lenta difusão (STURMER; SIQUEIRA, 2005), embora também haja um aumento substancial na absorção dos demais elementos (RESENDE et al., 2006).

Além da vantagem da absorção de nutrientes, os FMAs produzem em suas hifas, a glomalina, uma glicoproteína que contribui para a formação e estabilização de agregados do solo (RILLIG; MUMMEY, 2006).

Os FMAs têm papel significativo também na absorção de nitrogênio, particularmente na forma do íon  $\text{NH}_4^+$ , menos móvel no solo. As interações que existem na formação da simbiose tripla ocorrem em termos do padrão nutricional da planta e seu fornecimento de energia para os simbiossitos, e em termos da interação direta entre os simbiossitos na formação, desenvolvimento e funcionamento da simbiose tripla. O benefício nutricional dos FMAs permite que as plantas estejam melhor nutridas com P e micronutrientes essenciais para a formação dos nódulos e para o funcionamento da fixação biológica de  $\text{N}_2$  (SAGGIN JUNIOR; SILVA, 2005).

Alguns estudos como o de Franco e de Faria (1997) evidenciam estes benefícios. Os autores observaram que espécies leguminosas arbóreas fixadoras de  $\text{N}_2$ , quando na presença de fungos micorrízicos, têm sua habilidade de absorção de água e nutrientes ampliada, predominantemente de fósforo. Jesus, Schiavo e de Faria (2005) notaram que a presença de FMA pode ser estritamente necessária para uma nodulação satisfatória e crescimento das leguminosas arbóreas *P. gonoacantha* e *P. paniculata*.

De acordo com Gupta et al. (2000), a planta micorrizada obtém várias vantagens, como o alívio do estresse hídrico; proteção contra patógenos da raiz como nematóides, fungos e bactérias; tolerância a metais tóxicos, a condições de altas ou baixas temperaturas, à salinidade elevada no solo e a extremos de pH, além da melhoria da agregação de partículas do solo.

**CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E RIZÓBIOS EM SUBSTRATOS DE ÁREAS DEGRADADAS PELA EXPLORAÇÃO DE PETRÓLEO NA CAATINGA**

## RESUMO

O objetivo deste capítulo foi quantificar esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e estirpes de rizóbios eficientes em fixar nitrogênio presentes em jazidas de piçarra e locações de exploração de petróleo descomissionadas, no bioma Caatinga no estado do Rio Grande do Norte. Foram coletadas amostras de piçarra (0 a 10 cm) tanto no período seco (junho a dezembro) quanto no período chuvoso (janeiro a maio) provenientes de duas jazidas de piçarra, uma base de poço e uma central de resíduos. Em paralelo, foram também coletadas amostras de *topsoil* de áreas anexas com vegetação nativa. Foram determinados os teores de macronutrientes, matéria orgânica e a classe textural das amostras. Um ensaio utilizando amostras provenientes do período seco e um com amostras do período chuvoso foram conduzidos em casa de vegetação, visando obter o número mais provável (NMP) de células viáveis de rizóbio. As unidades experimentais consistiram de garrafas de vidro de 600 mL com tiras de feltro inseridas em solução nutritiva de Norris isenta de nitrogênio. Foram utilizadas como plantas isca as leguminosas arbóreas *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth. (jurema-preta) e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá), sendo suas sementes pré-germinadas inoculadas com diluições seriadas das amostras das áreas de estudo. Após 40 dias do processo de inoculação, cada planta foi retirada da garrafa e referida como “positiva”, quando houve presença de um ou mais nódulos, e “negativa”, quando não observou-se nenhum nódulo formado. Os esporos de FMA foram extraídos das amostras pelo método de peneiramento úmido e posteriormente quantificados e identificados em lupa estereoscópica. A caracterização química das amostras revelou menores teores de nutrientes e matéria orgânica nas amostras de piçarra em relação às provenientes de remanescentes de vegetação nativa. Todas as amostras apresentaram percentuais de areia superiores a 50%, sendo classificadas com textura franca ou arenosa. O NMP de rizóbios se mostrou relativamente baixo em todas as áreas com densidade inferior a  $10^2$  células/g solo. Os valores de NMP também foram irregulares quanto ao sítio e período analisado, sendo muito baixos no período seco e maiores no período chuvoso. Também não foi possível identificar uma maior densidade de rizóbios no *topsoil* em relação à piçarra, com base no método do NMP. Em geral, a maior quantidade e diversidade de esporos de FMA foi obtida a partir das amostras provenientes de áreas de vegetação nativa coletadas no período seco, com predomínio de *Glomus* sp. O número médio de esporos, entretanto, foi inferior a 100 esporos/50 cm<sup>3</sup> de solo. Os resultados desse estudo demonstram que tanto o substrato de piçarra quanto o *topsoil* de áreas com vegetação nativa possuem baixa densidade de células viáveis de rizóbios e de esporos de FMA. Estudos adicionais devem ser conduzidos para verificar se essa baixa densidade de propágulos irá refletir em baixa taxa de colonização de plantas nativas introduzidas na revegetação de áreas degradadas da Caatinga.

**Palavras-chave:** exploração de piçarra, fixação biológica de nitrogênio, fungos micorrízicos arbusculares.

## ABSTRACT

The objective of this chapter was to quantify spores of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and rhizobia strains efficient in fixing nitrogen present in piçarra mines and decommissioned oil exploration locations in the Caatinga of the state of Rio Grande do Norte. Piçarra samples (0 to 10 cm) were collected both in the dry period (june to december) and in the rainy season (january to may) from two mines, a pump jack base and a waste deposit. In parallel, *topsoil* samples were also collected from adjacent areas with native vegetation. The contents of macronutrients, organic matter, and the textural class of the samples were determined. An assay using samples from the dry period and one with samples from the rainy season were conducted in greenhouse to obtain the most probable number (MPN) of viable rhizobial cells. The experimental units consisted of 600 mL glass bottles, with felt strips inserted in a Norris nitrogen-free nutrient solution. The tree legumes *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth. (jurema-preta) and *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá) were used as bait plants. Pre-germinated seeds were inoculated with serial dilutions of the samples from the study areas. After 40 days of inoculation, each plant was removed from the bottle and referred to "positive" when there was the presence of one or more nodules, and "negative" in the absence of nodules. The AMF spores were extracted from samples using the wet sieving method and then quantified and identified in a stereoscopic microscope. The chemical characterization of the samples revealed lower contents of nutrients and organic matter in the piçarra in relation to topsoil from remnants of native vegetation. All samples presented sand percentages higher than 50%, being classified with a sandy texture. The rhizobium MPN was relatively low in all areas with a density of less than 102 cells/g soil. MPN values were also irregular regarding the site and period analyzed, being lower in the dry period than in the rainy season. It was also not possible to identify a higher density of rhizobia in the topsoil relative to the piçarra, based on the MPN method. In general, the greatest amount and diversity of AMF spores was found in samples from native vegetation areas collected during the dry period, with predominance of species of the *Glomus* genus. The average number of spores, however, was less than 100 spores / 50 cm<sup>3</sup> of soil. The results of this study demonstrate that both the substrate of piçarra and topsoil of areas with native vegetation have low density of viable cells of rhizobia and spores of AMF. Additional studies should be conducted to verify if this low density of propagules will reflect in low rate of colonization of native plants introduced for the revegetation of the Caatinga degraded areas.

**Keywords:** piçarra exploration, biological nitrogen fixation, arbuscular mycorrhizal fungi.



## 4 INTRODUÇÃO

A produção de petróleo em terra firme (“*on shore*”) é uma das principais atividades econômicas do Estado do Rio Grande do Norte. Segundo o Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural publicado pela ANP (2017), o Estado apresenta 75 campos de extração de petróleo e gás natural, sendo o quarto maior produtor do Brasil.

Um dos principais impactos ambientais da exploração e produção de petróleo em terra decorre da exploração de piçarra em diversas jazidas de tamanho que normalmente varia de 2 a 10 ha. A piçarra constitui-se em um material de subsolo composto principalmente por silte, areia e cascalho, o qual é usado para a terraplanagem de locações de exploração e produção, aterros e construção de estradas de acesso às instalações (CHAER et al., 2011). O processo de mineração consiste na retirada da vegetação nativa e extração de piçarra a uma profundidade de 2 a 10 m. Ao fim da atividade de mineração, a topografia da jazida escavada deve ser suavizada e a área revegetada com vegetação nativa. Da mesma forma, áreas que receberam a piçarra e foram descomissionadas, como bases de poço e centrais de resíduos, devem ser revegetadas. Nessas áreas a intervenção antrópica se faz necessária para a melhoria do ambiente químico, físico e biológico do solo, como também pela seleção e introdução de espécies adaptadas, capazes de restabelecer os processos de sucessão natural.

A avaliação da qualidade do solo através do comportamento dos atributos físicos e químicos em diferentes situações e práticas de manejo constitui a base para a identificação de alternativas sustentáveis ajustadas à condição semiárida, bem como métodos para estimar a atividade microbiana em solos destas áreas são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas (PEREIRA et al., 2004; DANTAS, 2012).

Estudos têm demonstrado que a Caatinga está entre os biomas menos conhecidos da América do Sul, o que por si só justifica a necessidade de se ampliar rapidamente o conhecimento sobre a distribuição dos organismos e sua organização em comunidades dentro deste sistema (FERREIRA, 2010). Segundo Neto (2013), a importância da realização das análises de atributos químicos, físicos e biológicos, deve-se ao conhecimento necessário das suas potencialidades e limitações. Dessa forma pode-se garantir o bom desempenho do solo no propósito ao qual foi designado: a produção vegetal. Doran e Parkin (1994) afirmam que a qualidade desses atributos propicia condições adequadas para o crescimento e o desenvolvimento das plantas e para a manutenção da diversidade de organismos que habitam o solo.

Estudos como os de Macedo et al. (2008) e Chaer et al. (2011) evidenciam o êxito na utilização de espécies de leguminosas arbóreas, associadas a bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares (FMA), na recuperação de áreas degradadas por atividade de mineração. A utilização destes organismos que se associam simbioticamente a plantas leguminosas tem sido recomendada para serem introduzidas em áreas com problemas edáficos de ordem física, química e biológica (RODRIGUES et al., 2006).

Atualmente há carência de informações sobre a recuperação de áreas que tiveram o horizonte superficial removido por atividades de mineração no bioma Caatinga. Lima (2012) avaliou espécies que melhor se adaptam à condição de substrato de jazidas de piçarra em ambiente semiárido após a adição de solo superficial e esterco bovino. Contudo, pouco se sabe sobre o a influência do uso de solo superficial sobre o componente microbiológico do sistema, refletindo em maior vigor de plantas destinadas à recuperação de áreas degradadas por extração de piçarra.

Desta forma, o objetivo deste capítulo foi caracterizar a fertilidade e a textura do substrato de áreas degradadas por extração de piçarra e do solo de áreas de remanescente

florestal nativo do bioma Caatinga, bem como quantificar nas áreas estudadas bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares que se associam a duas espécies de leguminosas arbóreas nativas do bioma. Os resultados deste estudo poderão gerar informações acerca da potencialidade do material advindo da remoção de horizontes superficiais para extração de piçarra, como fonte de inóculos para a revegetação de áreas degradadas por esta atividade.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Caracterização das áreas de estudo

As áreas de estudo constituíram-se de quatro localidades descomissionadas sendo duas jazidas de exploração de piçarra, uma base de poço e uma central de resíduos (Tabela 1). As bases de poço constituem-se em áreas com 3.000 a 4.000 m<sup>2</sup> terraplanadas com piçarra, onde é feita a perfuração do poço e a instalação da estrutura de bombeamento do petróleo. As centrais de resíduos compreendem áreas escavadas e impermeabilizadas com manta destinadas à recepção do cascalho de perfuração (material de subsolo contaminado com óleo e cloreto de bário). Quando cheias, as cavas recebem uma camada de 2 a 3 m de piçarra para posterior revegetação.

O clima da região é do tipo BSw<sup>h</sup> (quente e seco com estação chuvosa de janeiro a maio e estação seca de junho a dezembro) de acordo com a classificação de Köppen (1948). A temperatura média anual é de 27,4 °C, apresentando precipitação anual média de 673 mm, com clima seco durante 7 a 8 meses (CARMO FILHO; OLIVEIRA, 1995). Destaca-se que os últimos cinco anos apresentaram precipitação abaixo da média histórica, variando entre 400 mm e 450 mm. A descrição das áreas de estudo apresenta-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Identificação e localização das áreas de estudo.

Área	Coordenadas Geográficas	Município
Central de Resíduos	5°24'S; 36°54'O	Açu
Base de poço	5°21'S; 36°54'O	Açu
Jazida J1	5°24'S; 36°53'O	Açu
Jazida J2	5°15'S; 36°34'O	Alto do Rodrigues

### 5.2 Coleta e processamento de amostras de solo e substrato

As amostragens foram realizadas nas áreas de estudo identificadas na Tabela 1 e em áreas adjacentes a estas contendo vegetação nativa de Caatinga. Em cada local foram coletadas três amostras compostas, cada uma obtida em um transecto de aproximadamente 30 m. Ao longo de cada transecto foram coletadas seis amostras simples da camada de 0 a 10 cm de profundidade para as análises biológicas, e 0 - 20 cm para as análises químicas e físicas. As coletas foram realizadas em novembro de 2016 (estação seca) e abril de 2017 (estação chuvosa).

As amostras foram peneiradas no ato da coleta em peneira com malha de 4 mm, acondicionadas em sacos plásticos identificados e encaminhadas para o Laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa Agrobiologia. As amostras destinadas às análises biológicas foram mantidas sob refrigeração a 4 °C.

### 5.3 Análise de fertilidade

A análise de fertilidade das amostras foi realizada no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia. Os nutrientes Ca e Mg foram analisados segundo o método de absorção atômica; Al e H+Al por titulação; K por fotometria de chama; N pelo método Kjeldahl; P pelo método colorimétrico; pH por potenciometria e MO pelo método de Walkey e Black (NOGUEIRA; SOUZA, 2005).

## 5.4 Análise textural

A análise textural dos solos e substratos coletados foi realizada conforme metodologia adaptada de Ruiz (2005). Inicialmente as amostras foram peneiradas em peneira de malha de 4 mm, visando a remoção de partículas grosseiras e restos vegetais. De cada amostra de solo/substrato, foram pesados aproximadamente 10 g de TFSA, com aproximação de 0,01 g. Após, acrescentou-se 50 mL de solução dispersante de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e 150 mL de água destilada, agitando-se a suspensão com auxílio de bastão de vidro, deixando-a posteriormente em repouso por 12 horas.

Em seguida, as amostras foram transferidas para um agitador de Wagner, sendo dispersadas por agitação a 60 rpm por um período de 16 horas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em provetas de 500 mL, sendo este volume completado com água destilada. Para obter o tempo de sedimentação das amostras utilizou-se a Lei de Stokes, a qual determina este tempo em função da temperatura das suspensões das provetas. Com temperatura aferida em 29 °C, as suspensões (fração silte + fração argila) foram agitadas nas próprias provetas e colocadas em sedimentação por 3 horas e 15 minutos.

Decorrido esse tempo, foram pipetados e adicionados a um Becker 20 mL da suspensão (fração argila) coletada nos 5 cm superficiais da proveta. O Becker por sua vez, foi levado à estufa por 24 horas a uma temperatura de 105 °C. Em seguida, estes foram pesados em balança analítica com quatro casas decimais, obtendo-se o peso da fração argila. A suspensão restante na proveta foi peneirada com malha de 0,053 mm, lavada e transferida para cadinho de alumínio. Estes foram colocados em estufa a 105 °C por 24 horas, para a determinação da fração areia. O peso da fração silte foi determinado por diferença.

## 5.5 Caracterização biológica das amostras de piçarra e de solo de remanescentes de vegetação nativa do bioma Caatinga – RN

A caracterização biológica das amostras foi realizada com a finalidade de quantificação da densidade da microbiota do solo composta por fungos micorrízicos arbusculares (FMA's) e bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas, aqui generalizadas como rizóbios.

A determinação da densidade de rizóbios presentes nas amostras de substratos de piçarra e solos de remanescentes florestais nativos da Caatinga em estudo foi realizada através da metodologia do número mais provável (NMP), e a avaliação da presença de FMA nos solos e substratos coletados foi realizada através da extração, contagem e identificação taxonômica dos esporos de fungos.

### 5.5.1 Determinação da densidade de rizóbios

O número mais provável (NMP) de células viáveis de rizóbios nas amostras de substratos de piçarra e nas amostras de solo dos remanescentes de vegetação nativa de Caatinga foi estimado pela inoculação de leguminosas hospedeiras (plantas isca) crescendo em meio estéril inoculado com alíquotas de diluições seriadas de amostras de cada solo/substrato (VINCENT, 1970; BROCKWELL, 1982). O método NMP parte da suposição de que, existindo pelo menos uma célula viável de rizóbio, ocorrerá a sua multiplicação no sistema radicular com formação de nódulos na planta hospedeira (ANDRADE; HAMAKAWA, 1994).

As leguminosas arbóreas utilizadas como plantas isca foram a *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth. (jurema-preta) e a *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (sabiá). Inicialmente, as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%) por 5 e 6 minutos respectivamente (ARAÚJO, 1983; PASSOS et al., 2007) e esterilizadas com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) por 2 minutos, sendo posteriormente lavadas

abundantemente com água esterilizada. Após este processo, as sementes foram dispostas em caixas plásticas de germinação do tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio (NaClO 0,5%), contendo areia autoclavada como substrato. Em seguida, as caixas contendo areia e sementes foram umedecidas com água estéril e incubadas em câmara germinadora à 30°C.

Para a acomodação e crescimento das sementes pré-germinadas, foram preparadas garrafas de vidro com duas tiras de papel feltro (absorvente) inseridas em seu interior, sendo fixadas às bordas das garrafas com auxílio de fita crepe, de modo que estas encostassem no fundo da garrafa. A cada garrafa foi adicionado 300 mL de solução nutritiva de Norris, isenta de nitrogênio (GRUZMAN; DOBEREINER, 1968). Uma pequena porção de algodão foi utilizada para melhor acomodação das sementes pré-germinadas na porção superior das garrafas, de modo a favorecer o crescimento da plântula entre as duas folhas do papel. Posteriormente, os gargalos das garrafas foram cobertos com folha de alumínio, sendo as garrafas autoclavadas a 121°C por 30 minutos para a esterilização do material.

Após o preparo destas, preparou-se uma solução diluente de NaCl 0,85%, utilizada para o preparo da suspensão de inóculo. Colocou-se 90 mL da solução diluente em oito frascos Erlenmeyer de 250 mL juntamente com pérolas de vidro, sendo um frasco para cada amostra de solo/substrato estudada. Também foram preparados tubos de ensaio de 20 mL de volume, com 9 mL da solução diluente, sendo fechados e autoclavados posteriormente, para serem usados nas diluições seriadas.

Com o material preparado para a realização das diluições seriadas, foram adicionados 10 g de cada uma das oito amostras de substrato/solo nos frascos Erlenmeyer contendo a solução diluente. Estes frascos Erlenmeyer consistiram então da primeira diluição ( $10^{-1}$ ). Em seguida, agitou-se a suspensão por 30 minutos em agitador vortex, sendo 1 mL do sobrenadante transferido para um tubo de ensaio contendo 9 mL da solução diluente esterilizada (diluição  $10^{-2}$ ). O tubo foi agitado em agitador vortex por 30 segundos, sendo 1 mL transferido para outro tubo e assim sucessivamente de modo a obter diluições até  $10^{-6}$  para as amostras de solo coletadas na estação seca e  $10^{-7}$  para amostras de solo coletadas na estação chuvosa. Para os substratos provenientes das áreas de exploração de piçarra as diluições foram até a base  $10^{-3}$  na estação seca, e  $10^{-4}$  na estação chuvosa, pressupondo baixa concentração de células de rizóbios.

Para a realização de todas as transferências de suspensão entre tubos para as diferentes diluições, foram utilizadas pipetas automáticas e ponteiras autoclavadas, sendo estas trocadas a cada diluição.

A inoculação das plântulas foi realizada dois dias após seu estabelecimento em casa de vegetação. Foram transferidas alíquotas de 1 mL das diluições por plântula para a região da radícula estabelecida sobre o algodão. As diluições de cada material foram avaliadas em triplicata.

Após 40 dias do processo de inoculação, as plantas foram retiradas das garrafas e referidas como positivas ou “sucesso”, quando houve presença de um ou mais nódulos e negativas ou “insucesso”, quando não observou-se nenhum nódulo formado. Assim, a partir da ocorrência de casos positivos ou negativos em cada uma das diluições das suspensões inoculadas, estimou-se o NMP de células viáveis por grama de solo/substrato de cada amostra utilizando o *software* NMPES, que obtém tais resultados de forma computadorizada e automática.

Segundo Cochran (1950), o método NMP baseia-se em duas premissas para estimar a densidade de células viáveis de rizóbios: 1- os organismos na solução têm distribuição homogênea e aleatória e; 2- não existe interação entre os mesmos. Além destas premissas, duas condições devem ser assumidas para a validação do método: ao menos em um caso deve ocorrer desenvolvimento microbiano e ao menos em um caso não deve ocorrer desenvolvimento microbiano.

### **5.5.2 Extração, contagem e identificação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)**

A partir de cada amostra de solo/substrato, foram retirados 50 cm<sup>3</sup> de terra para a extração, contagem e identificação taxonômica dos esporos dos FMA's, seguindo a técnica de peneiramento úmido (GERDERMANN; NICOLSON, 1963).

Inicialmente, as amostras foram peneiradas em peneira com malha de 2 mm e secas ao ar por 12 horas. Em seguida, as mesmas foram transferidas para recipientes plásticos e lavadas quatro vezes, sendo o sobrenadante resultante de cada lavagem passado em peneiras de malhas 0,71, 0,25 e 0,053 mm, consecutivamente. O material retido na peneira de malha mais fina foi acondicionado em tubos do tipo "falcon", tendo seus volumes equilibrados com água destilada, sendo posteriormente centrifugados por 3 minutos a 706 RCF.

Após a centrifugação dos tubos, o sobrenadante dos mesmos foi removido cuidadosamente, sendo adicionada a estes uma solução de sacarose a 50% (JENKINS, 1964), sendo homogeneizado o conteúdo dos tubos com auxílio de um bastão de vidro. Posteriormente, as suspensões formadas foram centrifugadas por 2 minutos a 314 RCF, sendo o sobrenadante resultante contendo os esporos drenado e lavado cuidadosamente com água destilada na peneira de menor malha (0,053 mm).

Imediatamente após o procedimento da extração dos esporos de FMA, cada amostra foi transferida para placas de Petri canaletadas sendo então realizada a contagem dos esporos de fungos com auxílio de lupa estereoscópica.

Após a contagem, os esporos foram transferidos para uma placa de Petri onde foram separados e divididos em dois grupos: um grupo disposto em lâmina com álcool polivinil em lactoglicerol (PVLG) sob uma lamínula, e o outro grupo disposto na mesma lâmina, porém com reagente de Melzer sob outra lamínula.

Os esporos foram observados em microscópio binocular com iluminação de campo claro. A identificação das espécies de FMAs foi realizada de acordo com Schenck e Perez (1988) e utilizando a descrição morfológica disponível na internet, na página da International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<http://invam.caf.wvu.edu/>). Os caracteres taxonômicos observados foram: número e tipo de camadas das paredes dos esporos e sua reação ao reagente de Melzer; características das paredes internas, quando presentes; morfologia da hifa de sustentação do esporo; e variação da cor e tamanho dos esporos.

Na estrutura das comunidades de FMA's nas diferentes jazidas estudadas e nas áreas adjacentes de vegetação nativa considerou-se a abundância e a riqueza de espécies. A abundância de esporos para cada espécie foi medida através de contagem direta dos esporos extraídos das amostras de campo, e a riqueza de espécies foi estimada através da contagem do número de espécies presentes em cada amostra.

### **5.6 Análise dos dados**

Os teores de macronutrientes das amostras estudadas foram analisados de modo qualitativo, assumindo os limites estabelecidos pelas recomendações de adubação e calagem para o estado do Ceará, elaborado por Fernandes (1993) e para o estado de Pernambuco, por Cavalcanti (1998).

As análises texturais foram realizadas segundo o triângulo textural da Embrapa (1997).

A aplicação da técnica do número mais provável para a análise de densidade de rizóbios compreendeu as coletas realizadas na estação seca (junho a dezembro) e chuvosa (janeiro a maio), sendo estimado o número de células viáveis por grama de solo/substrato estudado, bem como calculado os intervalos de confiança para as estimativas a 95% de probabilidade.

Os fungos micorrízicos arbusculares foram analisados de forma quantitativa mediante a contagem direta dos esporos obtidos em cada área de estudo e por época de amostragem.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Características químicas das amostras

Os resultados da análise de fertilidade são apresentados na Tabela 2. Em geral, a fertilidade foi inferior na piçarra em relação ao solo das respectivas áreas adjacentes com vegetação nativa, como indicado pelos menores valores de bases trocáveis, nitrogênio e matéria orgânica nas amostras de piçarra. Esse padrão é esperado em função da piçarra se tratar de material de subsolo, praticamente desprovido de matéria orgânica.

**Tabela 2.** Características químicas\* de amostras provenientes dos substratos de jazidas de piçarra e solo de remanescentes de vegetação nativa do bioma Caatinga – RN, na profundidade de 0-20 cm.

Área	Material	pH	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	N	MO
		(H <sub>2</sub> O)	-----mg/L-----		-----cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> ----		%	%	
Central de Resíduos	piçarra	6,95	1,86	522,54	6,03	1,53	0,00	0,03	0,20
	solo	7,78	24,46	362,57	8,23	1,07	0,00	0,17	1,73
Base de Poço	piçarra	4,94	2,00	44,31	0,61	0,43	0,02	0,02	0,24
	solo	5,68	6,98	74,80	2,57	0,74	0,00	0,08	0,80
Jazida J1	piçarra	8,10	9,58	126,12	5,52	2,41	0,00	0,01	0,20
	solo	7,47	26,71	236,17	9,45	1,35	0,00	0,14	1,11
Jazida J2	piçarra	4,56	1,51	138,09	3,86	6,23	2,26	0,06	0,44
	solo	6,77	3,68	146,84	3,41	1,08	0,00	0,10	0,86

\*pH (potenciometria), P (colorimetria), K (fotometria de chama), Ca e Mg (absorção atômica), Al (titulação) e N (Kjedahl) (EMBRAPA, 2005).

Deve ser observado, entretanto, que apenas nas jazidas (J1 e J2) a piçarra é autóctone, enquanto que na Base de Poço e na Central de Resíduo a piçarra é proveniente de outros sítios, muito provavelmente de alguma das jazidas de piçarra das proximidades. Logo, os resultados para a piçarra na Base de Poço e na Central de Resíduos não devem ser interpretados como alterações decorrentes da extração de material da área, mas, ao contrário, de deposição de material alóctone na área.

Os resultados também demonstram uma grande variação da fertilidade da piçarra das diferentes áreas. Por exemplo, a piçarra da jazida J2 e da Base de Poço (BP) apresentam pH ácido e presença de Al disponível, enquanto que na jazida J1 e na Central de Resíduos (CR) o pH varia de neutro a alcalino e ausência de Al. Este fato está possivelmente relacionado ao tipo de material que compõe a piçarra encontrada nessas áreas.

Os resultados corroboram com os de Artur et al. (2014), que encontraram em seu estudo teores de Al trocável muito baixos; fato associado a solos de clima semiárido, em que os teores deste cátion não são expressivos, bem como valores de pH do solo acima de 5,5, típico de solos de origem calcária. Segundo Corrêa et al. (2003), valores de pH variando de neutro a alcalinidade baixa possivelmente estão relacionados aos altos teores de bases trocáveis e a quase ausência de H+Al, sendo frequentemente observados em solos de regiões semiáridas.

Segundo Fernandes (1993), os níveis de K e Mg são classificados como altos ou muito altos em todas as áreas amostradas (superiores a 91 mg/L para K e maiores que 1 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>

para Mg), com exceção da jazida Base de Poço e sua vegetação nativa ajacente. Já os teores de Ca variaram de baixo a alto, sendo os valores mais elevados encontrados na Central de Resíduos e J1.

Araújo e Oliveira (2003), estudando a variabilidade espacial de cálcio, magnésio, fósforo e potássio em solos das regiões oeste do baixo Açu também observaram elevadas concentrações de cálcio e magnésio.

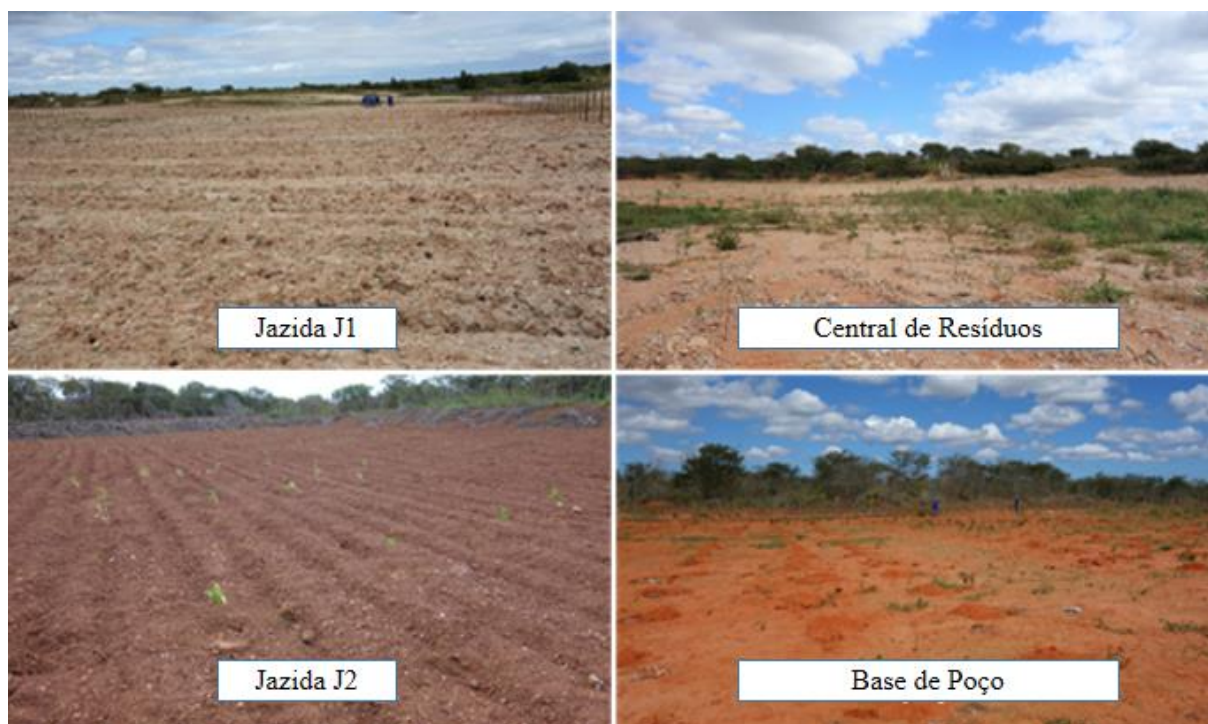
A piçarra das jazidas Central de Resíduos e J1 é notavelmente mais clara, com cor tendendo para o bege, e podem ser encontradas rochas calcárias na forma de fragmentos ou afloramentos (Figura 1). Também é muito comum a presença de seixos na composição da piçarra destas jazidas. Em contraste, a piçarra da Base de Poço e da J2 é avermelhada em função da abundância de material ferruginoso, sendo a fração pedregosa de gramatura inferior e irregular comparada à CR e à J1, não havendo a presença de seixos ou calcário (Figura 1).

Em estudo sobre variabilidade espacial dos atributos químicos do solo associada ao microrrelevo na Chapada do Apodi em Limoeiro do Norte - CE, Artur et al. (2014) constataram que a reação alcalina do solo destes locais se deve à presença de carbonatos provenientes do material de origem. Os autores relataram que solos de origem calcária têm como característica valores elevados de pH e alto teor de cálcio.

Os teores de P foram notadamente elevados nos solos da CR e da J1 (entre 21 e 40 mg/L), porém baixos nos demais solos e nas áreas de piçarra. Em termos gerais, os teores de P das jazidas se mostraram inferiores aos encontrados nas áreas de vegetação nativa, tornado este nutriente potencialmente limitante ao desenvolvimento vegetal. A deficiência de P é apontada como uma das principais limitações encontradas nos solos do semiárido (FRANCELINO et al., 2005). Solos com concentrações de fósforo inferiores a  $9 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo são considerados de baixa disponibilidade, com base nos critérios de recomendações de adubação para o estado de Pernambuco; aqueles entre  $9\text{-}25 \text{ mg P dm}^{-3}$  são classificados como médios e aqueles com concentrações superiores a  $25 \text{ mg P dm}^{-3}$ , como altos (Cavalacanti, 1998). No que concerne ao ciclo do fósforo, a condição de semiaridez impõe restrições na intensidade e alcance dos processos que atuam nessa ciclagem, mas não necessariamente na natureza dos mesmos, em relação às regiões com maior disponibilidade de água (SALCEDO, 2006).

Os resultados obtidos por Fraga e Salcedo (2004) corroboram com os do presente estudo, mostrando claramente a situação de deficiência generalizada de P disponível nos solos da região semiárida, que associada a longos períodos com deficiência hídrica, compromete a acumulação de matéria orgânica.





**Figura 1.** Padrões de tipos de piçarra encontrados nas áreas de estudo. Nota-se a coloração mais clara da piçarra encontrada na jazida J1 e na Central de Resíduos em contraste com a coloração mais avermelhada da jazida J2 e Base de Poço.

Esses resultados mostram que as piçarreiras comparadas ao solo de área nativa apresentam menor estoque de MO, N e P. Logo, a retirada da camada fértil das áreas a serem exploradas tem influência direta na fertilidade do solo, como pôde-se observar através das diferenças nos teores dos atributos químicos das áreas mineradas ou de deposição de sedimentos residuais em relação a áreas de vegetação nativa.

## 6.2. Caracterização textural das amostras

A caracterização física das amostras estudadas foi realizada através de análises dos teores de areia, silte e argila. A partir desses resultados pôde-se classificar a textura das mesmas conforme o triângulo textural da Embrapa (1997), evidenciado na Tabela 3.

**Tabela 3.** Classificação textural e percentuais de areia, silte e argila das amostras de solo/substrato.

Área	Material	% Areia	% Silte	% Argila	Textura
Central resíduos	piçarra	55,43	20,09	24,47	Franca
	solo	87,40	11,85	0,74	Arenosa
Base de Poço	piçarra	85,67	8,43	5,89	Arenosa
	solo	91,87	6,29	1,85	Arenosa
Jazida J1	piçarra	86	6,15	7,84	Arenosa
	solo	79,96	15,21	4,82	Arenosa
Jazida J2	piçarra	53,77	17,42	28,79	Franca
	solo	82,71	9,56	7,72	Arenosa

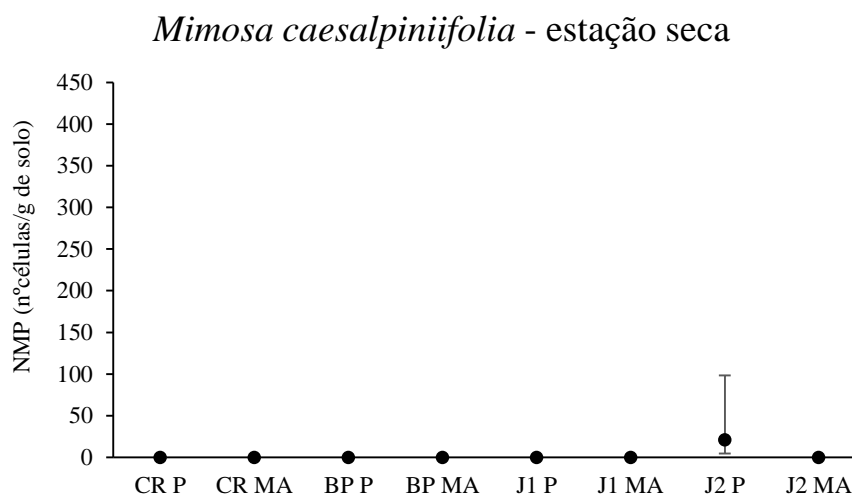
Todas as amostras apresentaram percentuais de areia superiores a 50%, sendo classificadas com textura franca ou arenosa. Os percentuais de argila foram muito baixos em

todas as amostras à exceção da piçarra da CR e da J2 que foram de 24,5% e 28,8%, respectivamente. Espera-se que maiores teores de argila nestes locais possam influenciar o desenvolvimento vegetal e a revegetação dessas áreas, uma vez que podem proporcionar maior retenção e armazenamento de água, fator de maior importância na região semiárida.

### 6.3 Quantificação de rizóbios nas amostras

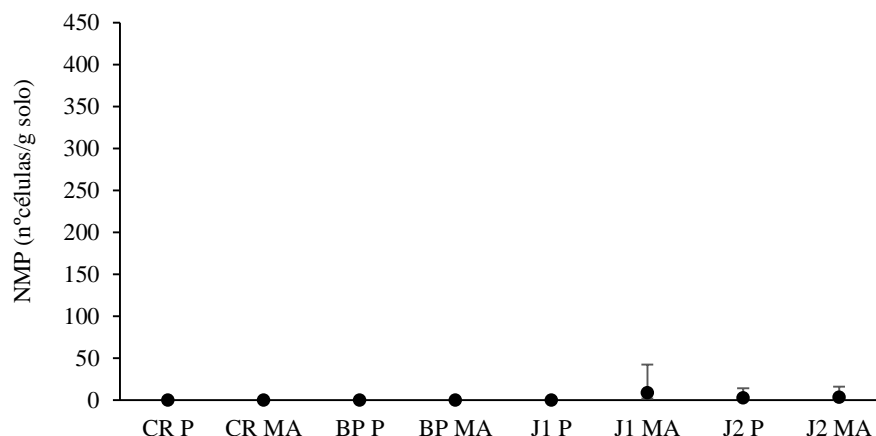
Não foram detectados rizóbios na Central de Resíduos e na Base de Poço, bem como nas áreas de vegetação nativa adjacentes a estas durante a estação seca, com base na utilização de jurema-preta (*M. tenuiflora*) e sabiá (*M. caesalpiniiifolia*) como plantas isca (Figuras 2 e 3). Para esta estação, também não foram encontradas células de rizóbios quando inoculadas amostras de solo provenientes de vegetação nativa adjacente à jazida J1 quando usado o sabiá como planta isca (Figura 2), sendo estimadas apenas 9 células/g de solo quando usada a jurema-preta (*M. tenuiflora*) (Figura 3).

A maior densidade de rizóbios para a estação seca foi observada na jazida J2 quando utilizado o sabiá como planta isca, sendo encontradas 21 células/g (Figura 2). Entretanto, o NMP foi de apenas 3 células/g quando utilizada a jurema-preta (Figura 3).



**Figura 2.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação seca, utilizando *Mimosa caesalpiniiifolia* como planta isca.

### *Mimosa tenuiflora* - estação seca

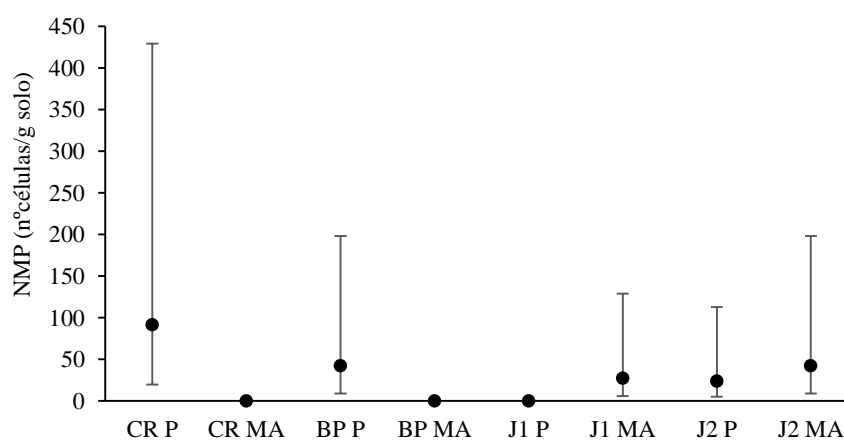


**Figura 3.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação seca, utilizando *Mimosa tenuiflora* como planta isca.

Observa-se pela sobreposição dos intervalos de confiança que não existem diferenças significativas entre as estimativas obtidas para as jazidas que apresentaram contagem de rizóbios. Os valores encontrados em J2 podem ser considerados baixos, indicando uma baixa carga de bactérias do grupo rizóbio nas amostras coletadas na estação seca quando utilizada a jurema-preta como planta isca. Apesar desses resultados serem coerentes para as amostras de piçarra, em razão de se tratar de material de subsolo e ainda pouco exposto à colonização vegetal, os baixos valores obtidos para as amostras de solo coletadas em áreas com vegetação nativa foram inesperados para esta época de coleta.

Os dados obtidos a partir das amostras coletadas no período das chuvas apresentaram em geral valores de NMP maiores em relação aos da época seca. Entretanto, nas áreas Central de Resíduos e Base de Poço observou-se presença de rizóbio apenas em amostras de piçarra tendo o sabiá como planta isca.

### *Mimosa caesalpinifolia* - estação chuvosa



**Figura 4.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado em áreas de exploração e deposição de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação chuvosa, utilizando *Mimosa caesalpinifolia* como planta isca.

Nos resultados de NMP para a jazida J1, nas duas épocas de amostragem (seca e chuvosa), observa-se a ocorrência de nodulação apenas de amostras de solo coletado em áreas de remanescente florestal nativo, indicando assim carga microbiana diminuta ou ausente na área de exploração mineral. Os resultados indicam que para as duas espécies de leguminosas utilizadas, a estação chuvosa interferiu positivamente no aumento do potencial de fornecimento de inóculo das áreas de mata nativa adjacente à jazida J1, como observado nas Figuras 4 e 5.

De acordo com Schiavo (2005), a degradação do solo em áreas de extração mineral advém da remoção da cobertura vegetal e das camadas de solo fértil superficial causando forte impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o número de bactérias, fungos solubilizadores de fosfato e a atividade microbiana do solo. Desta forma, esperava-se encontrar menor carga bacteriana em áreas cujos remanescentes florestais foram removidos, fato este que corrobora com os resultados obtidos para a jazida J1.

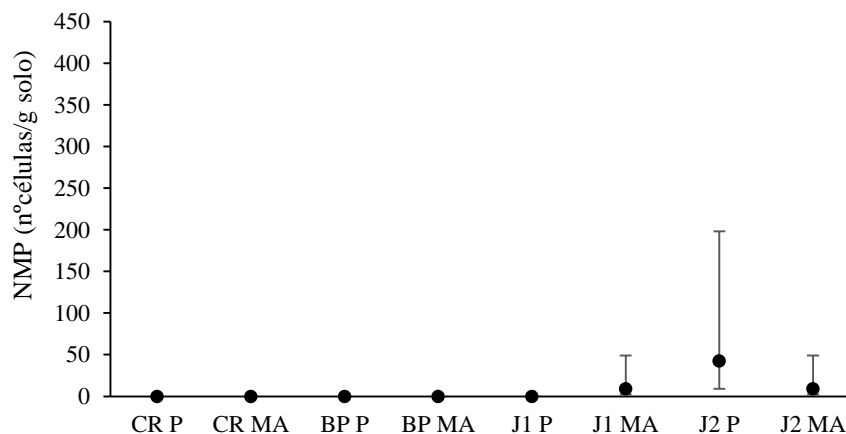
O comportamento das estimativas de rizóbios para a jazida J1 em ambas as épocas de coleta justifica-se devido à carência hídrica intensa da época seca, estágio em que a carga microbiana pode estar reduzida ao mínimo em razão da falta de umidade, reduzido aporte de biomassa ao solo, elevada temperatura do *topsoil*, normalmente exposto aos raios solares.

Além da sazonalidade de chuvas, outros fatores podem influenciar nas estimativas de densidade de rizóbios. Segundo Lobo Junior et al. (2004) diferentes espécies da microbiota do solo respondem de modo distinto a eventos como adição de matéria orgânica, revolvimento, cobertura do solo com palhada, compactação e aplicação de insumos, que estressam ou estimulam os microrganismos.

Compant et al. (2010) ao estudarem a influência das mudanças climáticas sobre a interação entre plantas e microrganismos, concluíram que as condições ambientais podem influenciar o número de bactérias presentes em condições de restrição hídrica, sendo a comunidade afetada em períodos ou regiões mais secas.

Para a jazida J2 observou-se maior resgate de rizóbios por parte da leguminosa *M. caesalpinifolia* Benth. (sabiá) na captura de rizóbios com inóculo produzido a partir de amostras de áreas de Caatinga nativa (J2 MA) coletadas na estação chuvosa em relação à área de piçarra (J2 P) (Figura 4), e *M. tenuiflora* (Mart.) (jurema-preta) apresentando maior resgate de rizóbios com inóculo produzido a partir de área de exploração de piçarra com coletas da estação chuvosa (Figura 5).

#### *Mimosa tenuiflora* - estação chuvosa



**Figura 5.** Número mais provável (indicado pelos pontos no gráfico) de células de bactérias por grama de solo/substrato coletado nas jazidas de exploração de piçarra (P) e em áreas de mata nativa adjacentes a estas (MA) na estação chuvosa, utilizando *Mimosa tenuiflora* como planta isca.

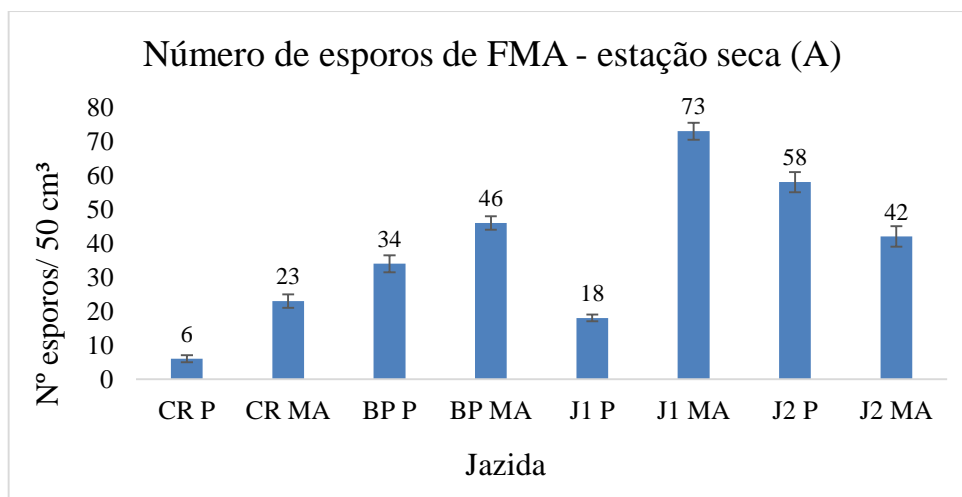
De acordo com Sousa (2007) a densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio varia em função de características edáficas e climáticas específicas de cada ambiente. Segundo Silva (2015), diversos fatores podem justificar a ausência de fixação biológica de nitrogênio em leguminosas nodulantes, que vão da ausência de rizóbios nativos competitivos e eficientes a limitações ambientais, que restringem a nodulação ou a eficiência da simbiose. O mesmo autor salienta que informações sobre as respostas das leguminosas nativas da Caatinga a variações ambientais, em termos de desempenho simbiótico, são escassas na literatura tornando limitada a compreensão dos diversos fatores que podem interferir no processo de FBN na Caatinga.

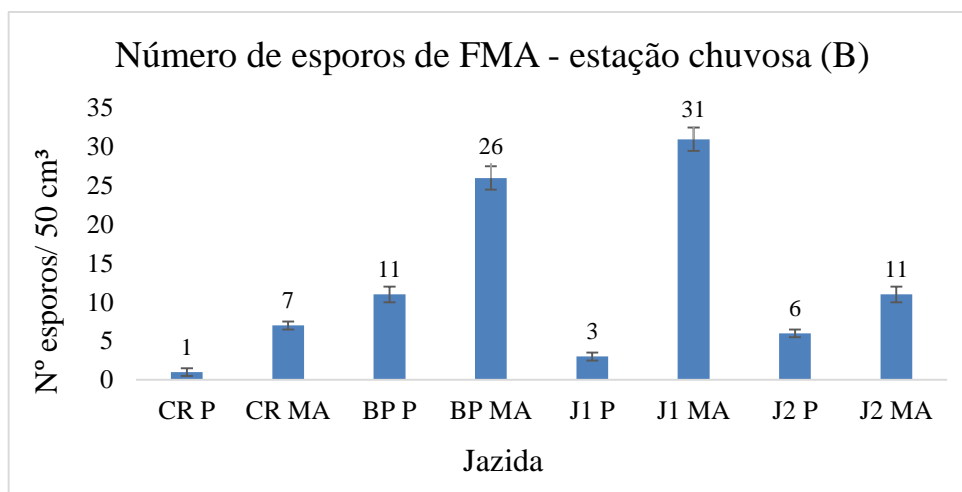
Ferreira et al. (2012), ao avaliar o NMP de células da comunidade nativa de rizóbio e a eficiência simbiótica de estirpes de *Cupriavidus necator* tolerantes a zinco, cádmio, cobre e chumbo em leucena, dormideira e sabiá, verificaram que somente as plantas com suspensão de solo até à diluição  $10^{-3}$  apresentaram nódulos em seu sistema radicular. A população de rizóbios, calculada pelo método das diluições sucessivas variou de:  $9,1 \times 10^1$  a  $1,9 \times 10^3$  rizóbios  $g^{-1}$  de solo com *L. leucocephala*;  $1,96 \times 10^2$  a  $4,3 \times 10^3$  rizóbios  $g^{-1}$  com *M. pudica*; e  $1,58 \times 10^2$  a  $3,5 \times 10^3$  rizóbios  $g^{-1}$  com *M. caesalpinifolia*. Os mesmos autores relataram que as populações nativas apresentaram um grande número de células e foram eficientes em fixar N atmosférico, diferente do presente estudo onde encontrou-se baixo quantitativo de células de rizóbio  $g^{-1}$  de solo.

Em geral, a espécie sabiá apresentou maiores valores de NMP em relação à jurema-preta, nodulando, na maioria dos casos, provavelmente com bactérias do gênero *Burkholderia*. Em estudo recente sobre isolados de *M. caesalpinifolia* Benth. de diferentes origens do Nordeste do Brasil, foi constatado *Burkholderia* como o principal gênero de bactéria simbiote nodulante nestas leguminosas (MARTINS et al., 2015). Segundo Santos et al. (2007), algumas leguminosas restringem alguns grupos de rizóbios e selecionam outros, indicando diferentes níveis de especificidade das associações planta x bactéria.

#### 6.4 Contagem e identificação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

O quantitativo de esporos de FMA obtidos a partir das amostras coletadas nas épocas seca e chuvosa é apresentado na Figura 6. Os resultados demonstram que para todas as áreas, exceto na J2 na época seca, o número de FMA foi superior nas áreas de vegetação nativa adjacente às áreas de exploração mineral de piçarra. A menor densidade de esporos foi encontrada na piçarra da Central de Resíduos e a maior foi encontrada na mata adjacente à jazida J1, em ambas as estações avaliadas.





**Figura 6.** Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (unidades/50 cm<sup>3</sup> de solo/substrato) obtidos a partir das coletas na estação seca (A) ou na estação das chuvas (B). (CR: Central de Resíduos; BP: Base de Poço; P: piçarra; MA: *topsoil* da mata nativa do bioma Caatinga).

Melo et al. (2011), ao avaliarem os efeitos da degradação do solo em áreas de extração de argila, constataram que a remoção dos horizontes superficiais do solo foi considerada um dos pontos mais críticos da degradação para estas áreas, devido aos problemas causados na estrutura e na atividade biológica do solo. Estudos em regiões perturbadas pela extração mineral mostraram que, em várias dessas áreas, os FMA foram reduzidos ou eliminados (ALLEN, 1991).

Rodrigues et al. (2006) constataram que a retirada da camada de matéria orgânica diminui a capacidade produtiva da área, uma vez que nela se encontra a reserva de nutrientes, os microrganismos promotores da ciclagem de nutrientes e os inóculos dos microrganismos que vivem em simbiose com as plantas, resultando em um substrato praticamente estéril.

Ao estudarem os impactos da extração mineral sobre o potencial de infectividade de fungos micorrízicos em área de Caatinga na Bahia, Silva et al. (2001) constataram que a atividade mineradora causou sérios danos ao local, o que foi observado pelas baixas diversidades vegetal e quantidade de esporos de FMA, quando comparado com área de vegetação nativa. Segundo Melloni et al. (2003), a mineração de bauxita causa grande impacto nas populações de FMAs devido à intensa movimentação e empilhamento de solo e à remoção da vegetação. Hart e Reader (2002), constataram que solos degradados apresentam baixo potencial de inóculo de FMA, porém isso pode ser revertido com o tempo, em função da alta capacidade adaptativa desses microrganismos.

Pôde-se observar ainda uma consistente redução do número de esporos da estação seca para a chuvosa (Figura 6). Esse padrão pode estar relacionado à indução de esporulação por parte dos FMA em períodos de estresse hídrico e favorecimento à germinação destes em épocas chuvosas (CAPRONI, 2001).

De acordo com Mohammad et al. (2003), a quantidade de esporos de FMA pode ser influenciada por fatores inerentes ao solo, fenologia das plantas hospedeiras e pela irregularidade das chuvas, característica marcante de ambientes áridos e semiáridos. Souza et al. (2003) estudando a diversidade de FMA em área de Caatinga do estado de Alagoas, também registraram maior diversidade no período de estiagem em comparação ao chuvoso.

Segundo Bashan et al. (2000), a baixa densidade de esporos é típica de regiões áridas e semiáridas devido à presença de espécies de FMA com baixa capacidade de esporulação nestes ambientes. Em solos com baixos teores de P, há maior tendência de associação destes

organismos com leguminosas visando a absorção deste nutriente, sendo então os FMA, encontrados sob outras formas de vida como hifas.

Após estudar a ecologia e diversidade de FMA em área de Caatinga, Ferreira (2010) constatou aumento de colonização micorrízica no período chuvoso, estimulado pela condição de maior precipitação pluviométrica no mês da coleta das amostras, e maiores índices de esporulação nos meses de estiagem. O mesmo autor ressalta que as flutuações climáticas contribuem para alterações nas comunidades de FMA, com o período de estiagem estimulando a esporulação.

Observa-se que para todas as jazidas, exceto em J2, o número de fungos micorrízicos arbusculares foi superior nas áreas de mata nativa anexa as áreas de exploração, sendo a maior quantidade encontrada na mata anexa a jazida J1. De acordo com Carneiro et al. (1997), solos que perderam sua camada fértil apresentam reduzidas quantidades de propágulos de FMA e outros microrganismos, tornando importante a introdução de inóculos nestes solos do ponto de vista ecológico e de grande interesse tecnológico.

A análise qualitativa dos esporos revelou a presença de seis espécies de FMA nas áreas avaliadas, incluindo representantes dos gêneros *Glomus*, *Rhizophagus*, *Gigaspora* e *Ambispora* (Tabela 4). A maior diversidade foi encontrada na época seca, fato que coincide com o maior quantitativo de esporos obtidos a partir das coletas nessa época. Na época chuvosa, as espécies encontradas foram *Glomus macrocarpum*, *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora* sp. Na época seca adicionam-se a estas as espécies *Ambispora leptoticha*, *Glomus clavisporum* e *Glomus tortuosum*.

**Tabela 4.** Espécies de FMA identificadas nas amostras de solo/substrato coletadas na estação seca (junho a dezembro) e chuvosa (janeiro a maio) em áreas de exploração e deposição de piçarra no Rio Grande do Norte.

Área	Material	Espécies de FMA (estação seca)	Espécies de FMA (estação chuvosa)
Central Resíduos	piçarra	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>
	solo	<i>Glomus macrocarpum</i> ; <i>Glomus tortuosum</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>
Base de Poço	piçarra	<i>Glomus macrocarpum</i>	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>
	solo	<i>Gigaspora sp.</i> ; <i>Glomus clavisorum</i>	<i>Glomus macrocarpum</i> ; <i>Gigaspora sp.</i>
Jazida J1	piçarra	<i>Rhizophagus clarus</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>
	solo	<i>Glomus macrocarpum</i> ; <i>Ambispora leptoticha</i>	<i>Glomus macrocarpum</i> ; <i>Gigaspora sp.</i>
Jazida J2	piçarra	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>
	solo	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>	<i>Rhizophagus clarus</i> ; <i>Glomus macrocarpum</i>

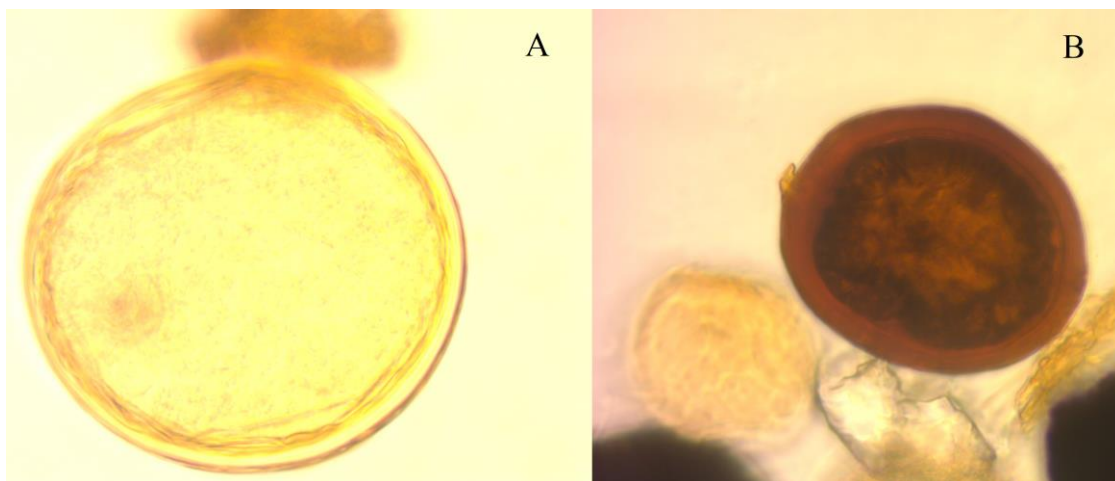
A ocorrência de maior número de espécies pertencentes ao gênero *Glomus* corrobora com os resultados de outros trabalhos realizados em regiões semiáridas (SOUZA et al., 2003; AGUIAR, 2004; SILVA et al., 2005). De acordo com Maia et al. (2006), em regiões semiáridas do mundo é comum a predominância do gênero *Glomus* em relação aos demais, sendo esse um dos gêneros com maior número de espécies descritas. Carrenho (1998), ao estudar a influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de FMA, relatou que o gênero *Glomus*, apresenta alta capacidade de adaptação a solos submetidos a diferentes variações e perturbações ambientais.

Em estudo sobre a ecologia e diversidade de FMA em área de Caatinga, Ferreira (2010) também observou maior diversidade de esporos de FMA no período de estiagem, sendo encontrados diversos gêneros, dentre os quais se encontravam *Gigaspora* e *Glomus*. Os resultados de Ferreira (2010) evidenciam ainda que, apesar das limitações ambientais da Caatinga, este bioma possui alta diversidade de FMA, havendo possivelmente um grande número de novas espécies a serem descobertas no semiárido brasileiro.

Medeiros (2016), ao avaliar comunidades micorrízicas em tratamentos de restauração ecológica da Caatinga, constatou que o tratamento que proporcionou maior benefício à comunidade de FMAs foi a transposição de serapilheira de uma área conservada.

A Figura 7 mostra o aspecto dos esporos de *Rhizophagus clarus* (A) e *Glomus macrocarpum* (B), vistos sob microscópio binocular.





**Figura 7.** Aspecto de esporos de *Rhizophagus clarus* (A – 100 a 260  $\mu\text{m}$ ) e *Glomus macrocarpum* (B – 40 a 80  $\mu\text{m}$ ), observados sob microscópio.

## 7 CONCLUSÕES

A exploração mineral de piçarra contribui para a redução do teor nutricional nas jazidas e áreas de deposição desse material em relação ao solo com vegetação nativa das áreas adjacentes a estas.

O fornecimento de propágulos de rizóbios por parte das amostras coletadas nas jazidas de exploração de piçarra e em áreas de vegetação nativa adjacentes a estas se mostrou dependente do sítio analisado.

A época de coleta de amostras (seca e chuvosa) influenciou diretamente no número de células viáveis de rizóbios, bem como no quantitativo de esporos averiguados por este trabalho. Assim, a escassez hídrica da estação seca reduziu os rizóbios e, ao contrário, induziu a esporulação dos FMA identificados nas áreas.

**CAPÍTULO II - DESEMPENHO DE *Mimosa caesalpinifolia* Benth. INOCULADA  
COM *TOPSOIL* PROVENIENTE DE VEGETAÇÃO NATIVA DO BIOMA  
CAATINGA**

## RESUMO

O objetivo deste capítulo foi avaliar o potencial de uso do *topsoil* proveniente de áreas de vegetação nativa de Caatinga como fonte de inóculo de microrganismos simbiotes (rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares - FMA) para leguminosas arbóreas utilizadas no reflorestamento de jazidas de piçarra com exploração encerrada. Conduziu-se um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e seis repetições, em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia, Seropédica – RJ. Sementes pré-germinadas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. foram plantadas em vasos de 980 mL preenchidos com 1,5 Kg de piçarra. Os vasos foram então submetidos aos seguintes tratamentos: (T1) inoculação com 10 g *topsoil* de área com vegetação nativa adjacente à jazida J1; (T2) inoculação com 10 g de *topsoil* de área com vegetação nativa adjacente à jazida J2; (T3) inoculante produzido em laboratório contendo duas estirpes de rizóbios indicadas para *M. caesalpiniiifolia*; (T4) inoculante de rizóbios + inóculo de FMA; (T5) controle não inoculado (testemunha absoluta 1); (T6) controle não-inoculado com substrato autoclavado (testemunha absoluta 2); (T7) testemunha nitrogenada e (T8) testemunha nitrogenada + inóculo de FMA. Após 97 dias foram avaliadas as variáveis altura, massa de nódulos secos (MNS), massa de parte aérea seca (MPAS), massa de raízes secas (MRS) e colonização de raízes por FMA. Todos os tratamentos inoculados e as testemunhas nitrogenadas produziram plantas saudáveis e vigorosas apresentando altura, MPAS e MSR estatisticamente similares, mas superiores às testemunhas absolutas (teste Scott-Knott;  $p < 0,5$ ). As maiores massas de nódulos ocorreram nos tratamentos com dupla inoculação (T4) e com *topsoil* da jazida J2 (T1), embora não tenham apresentado diferença estatística para os demais tratamentos à exceção de T7. Cerca de 90% das raízes das plantas dos tratamentos com inoculação de FMA apresentaram colonização micorrízica e entorno de 55% das raízes de plantas inoculadas com *topsoil*. A colonização micorrízica, entretanto, não ultrapassou 20% nos demais tratamentos e foi igual a zero em T7. Os resultados do presente estudo evidenciaram o potencial da aplicação de *topsoil* advindo de remanescentes de vegetação nativa da Caatinga como técnica promissora para a recuperação de áreas degradadas por exploração de piçarra.

**Palavras-chave:** *topsoil*; recuperação de áreas degradadas por mineração; simbiose tripartite.

## ABSTRACT

The objective of this chapter was to evaluate the potential of topsoil, collected from areas of native vegetation of Caatinga, as a source of inoculum of symbiotic microorganisms (rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi - AMF) for nitrogen-fixing legume trees used in the reforestation of decommissioned piçarra mines. The experiment was conducted in a completely randomized design, with eight treatments and six replications, under greenhouse conditions at Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brazil. Pre-germinated seeds of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. were planted in 980 mL pots filled with 1.5 kg of piçarra. The pots were then submitted to the following treatments: (T1) inoculation with 10 g topsoil of a native vegetation area adjacent to the J1 mine; (T2) inoculation with 10 g topsoil of a native vegetation area adjacent to the J2 mine; (T3) inoculant produced in laboratory containing two strains of rhizobia indicated for *M. caesalpiniiifolia*; (T4) rhizobium inoculant + FMA inoculum; (T5) uninoculated control (absolute control 1); (T6) uninoculated control with autoclaved substrate (absolute control 2); (T7) control with application of a mineral N source, and (T8) control with nitrogen + FMA inoculum. After 97 days, the variables height, mass of dry nodules, dry shoot mass, dry root mass, and root colonization by AMF were evaluated. All inoculated treatments and nitrogenated controls produced healthy and vigorous plants presenting height, shoot and root masses statistically similar, but superior to the absolute controls (Scott-Knott test,  $p < 0.5$ ). The largest mass of nodules occurred in treatments with double inoculation (T4) and with topsoil (T1), although they did not differ from other treatments, except T7. Approximately 90% of the roots of the treatments with inoculation of AMF showed mycorrhizal colonization and about 55% of the roots of plants inoculated with topsoil. Mycorrhizal colonization, however, did not exceed 20% in the other treatments and was equal to zero in T7. The results of the present study evidenced the potential of topsoil from native vegetation of the Caatinga as a promising technique for the recovery of degraded areas by piçarra exploration.

**Keywords:** topsoil; recovery of degraded areas by mining; tripartite symbiosis.

## 8 INTRODUÇÃO

A degradação do solo em áreas de extração mineral advém da remoção da cobertura vegetal e das camadas de *topsoil* (solo superficial) fértil causando um forte impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o número de bactérias, fungos solubilizadores de fosfato e a atividade microbiana do solo (SCHIAVO, 2005).

No Estado do Rio Grande do Norte, áreas de extração de piçarra são comuns. A piçarra constitui-se em um material de subsolo composto principalmente por silte, areia e cascalho, o qual é usado principalmente para a terraplanagem de novas locações de exploração e produção de petróleo em terra, aterros e construção de estradas de acesso. A recuperação dessas áreas, nas quais todo o horizonte superficial (parte mais fértil do solo e rica em propágulos) foi retirado, é um desafio que na maioria das vezes demanda a intervenção humana para auxiliar o ecossistema degradado a recuperar sua capacidade de resiliência (RESENDE; CHAER, 2010).

Segundo Rivera et al. (2012), a aplicação de *topsoil* apresenta-se como uma técnica propícia para a recuperação de ambientes que tiveram seus horizontes superficiais removidos, permitindo a reposição de parte da camada de solo fértil, rica em propágulos perdida durante o processo de exploração mineral. Em áreas de exploração de piçarra no estado do Rio Grande do Norte, a disponibilidade deste material é grande, podendo este ser aplicado em área total a ser revegetada, minimizando custos em relação à aplicação de inoculantes produzidos em laboratório e o uso de fertilizantes químicos.

Além do uso de *topsoil* para a recuperação de áreas degradadas, o uso de microrganismos simbiotes como fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e bactérias fixadoras de nitrogênio, associados simbioticamente a leguminosas arbóreas, tem sido utilizada como ferramenta biotecnológica para auxiliar a revegetação de ambientes degradados (FRANCO et al., 1995; RODRIGUES et al., 2006; CHAER et al., 2011). De acordo com Franco e Faria (1997), a presença de fungos FMA aumenta a capacidade de absorção de nutrientes por espécies de leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio, principalmente fósforo e água do solo.

Atualmente, há carência de informações sobre a recuperação de áreas que tiveram o horizonte superficial removido por atividades de mineração no bioma Caatinga. Embora já haja certo conhecimento acumulado sobre a revegetação de áreas de mineração em outros biomas brasileiros, pouco se pode afirmar sobre as espécies que melhor se adaptam a condição de substrato de jazidas de piçarra em ambiente semiárido, assim como sobre a eficiência de tratamentos como o de adição de *topsoil*, normalmente empregado em outras regiões, para a revegetação dessas áreas (LIMA, 2012).

Desta forma, este capítulo tem como objetivo comparar o efeito da dupla inoculação de FMA e bactérias fixadoras de nitrogênio em relação à adição de *topsoil* proveniente de remanescentes florestais nativos do bioma Caatinga, sobre o crescimento, nodulação e colonização de raízes por fungos micorrízicos em *M. caesalpinifolia* Benth. Os resultados deste trabalho poderão contribuir com informações acerca da eficiência do uso de *topsoil* proveniente de remanescente florestal nativo da Caatinga em relação a inóculos produzidos em laboratório, visando o seu uso para promover o estabelecimento e crescimento de espécies vegetais utilizadas em operações de restauração de áreas degradadas nesse bioma.

## 9 MATERIAL E MÉTODOS

### 9.1 Delineamento experimental

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Agrobiologia, localizada no município de Seropédica, Rio de Janeiro (22°45'18.48"S, 43°40'4.50"O).

Um experimento foi instalado visando avaliar o potencial de uso do *topsoil* de remanescente florestal nativo da Caatinga como indutor da promoção da simbiose tríplice planta-rizóbio-micorriza, utilizando neste uma espécie nativa do bioma Caatinga, em substrato proveniente de jazida de exploração de piçarra no estado do Rio Grande do Norte.

As unidades experimentais consistiram de 48 tubetes de 280 cm<sup>3</sup> acoplados à copos plásticos de 700 mL, sendo cada unidade (tubete + copo plástico) preenchida com 1,5 Kg de substrato e semeado com a espécie *M. caesalpinifolia* Benth. O substrato foi coletado na Base de Poço, localizada no município de Açu, RN. O mesmo foi selecionado por apresentar baixa concentração de propágulos de FMA e rizóbios, conforme averiguado no capítulo 1.

Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos, seis repetições, totalizando portanto 48 unidades experimentais. Dois dos tratamentos consistiram do uso do *topsoil* coletado de áreas adjacentes às jazidas de exploração de piçarra J1 (T1) e J2 (T2). Os demais tratamentos foram: (T3) inóculo misto composto de duas estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio (rizóbios) indicadas para a espécie vegetal estudada; (T4) T3 + inóculo misto de FMA produzido a partir de esporos multiplicados em vasos sob condições controladas; (T5) controle não-inoculado; (T6) controle não-inoculado em substrato autoclavado; (T7) controle nitrogenado (testemunha nitrogenada) e (T8) inóculo misto de FMA + N (testemunha nitrogenada + FMA) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Tratamentos utilizados para avaliar o uso do *topsoil* proveniente de remanescentes nativos da Caatinga como potenciais inóculos de microrganismos para espécies florestais nativas do bioma.

Tratamento	Descrição
T1 (J1)	<i>Topsoil</i> de mata nativa adjacente à jazida J1
T2 (J2)	<i>Topsoil</i> de mata nativa adjacente à jazida J2
T3 (RZ)	Inóculo misto de rizóbios indicados para a espécie vegetal
T4 (RZ + FMA)	Inóculo misto de rizóbios indicados para a espécie vegetal + inóculo misto de FMA
T5 (TA1)	Controle não inoculado 1 (Testemunha absoluta 1)
T6 (TA2)	Controle não-inoculado 2 em substrato autoclavado (Testemunha absoluta 2)
T7 (TN)	Testemunha nitrogenada (solução de NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )
T8 (TN + FMA)	Testemunha nitrogenada + FMA (solução de NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> + FMA)

### 9.2 Preparo das plântulas e inoculação

Sementes de *M. caesalpinifolia*, previamente coletadas na região de Caatinga do estado do Rio Grande do Norte, passaram por escarificação com ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%) por 5 minutos (PASSOS, 2007) e desinfestação com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) por 2 minutos, sendo posteriormente lavadas abundantemente com água esterilizada. Em seguida, as sementes foram dispostas em caixas plásticas de germinação do tipo “gerbox”, também previamente esterilizadas, com hipoclorito de sódio (NaClO 0,5%), contendo areia

autoclavada como substrato. A areia e sementes foram molhadas com água esterilizada e as caixas de germinação incubadas em câmara germinadora à 30°C.

Após a germinação das sementes, três sementes foram dispostas em cada unidade experimental, sofrendo desbaste aos 45 dias deixando apenas uma planta por recipiente.

Nos tratamentos com inoculante de rizóbios (T3 e T4), as sementes pré-germinadas tiveram suas radículas revestidas com inoculante em turfa produzidos no Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agrobiologia, sendo usadas as estirpes BR 3446 e BR 3407 (FARIA; UCHÔAS, 2007).

A inoculação com FMA (T4 e T8) foi realizada no momento do plantio, colocando-se 10 gramas de inoculante misto, distribuídos de forma homogênea no terço superior de cada unidade experimental em quantidade de cerca de 150 esporos por recipiente. Os inoculantes de FMA foram produzidos no Laboratório de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia em vasos com cultura isca de gramíneas, sendo utilizada uma mistura das seguintes espécies de fungos: *Acaulospora foveata*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora cândida*, *Glomus formosanum*, *Rhizophagus clarus* (anteriormente denominado *Glomus clarum*), *Scutellospora calospora* e *Scutellospora pelúcida*.

Os tratamentos que continham inóculo com *topsoil* proveniente das áreas de remanescentes florestais nativos da Caatinga receberam 10 gramas de *topsoil* de cada área adjacente às jazidas estudadas no presente estudo (J1 e J2), em cada unidade experimental sendo dispostas nos orifícios de plantio das sementes.

Após a preparação das unidades experimentais com seus devidos tratamentos, os recipientes foram cobertos com uma camada de 1 cm de areia autoclavada com a finalidade de “isolar” o substrato de possíveis fontes externas de rizóbios e FMA.

As unidades experimentais foram regadas com 50 mL de água filtrada em dias alternados, sendo aplicado semanalmente 50 mL de solução nutritiva de Hoagland modificada, isenta de nitrogênio e com um quinto da dose original de fósforo (HOAGLAND; ARNON; 1950) em todos os tratamentos. Os tratamentos T7 e T8 receberam também doses crescentes de solução nutritiva de nitrato de amônio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) (15 mL no primeiro mês, 20 mL no segundo e 25 mL no terceiro mês).

### 9.3 Avaliações

Após 97 dias de plantio das sementes pré germinadas nas unidades experimentais, foram avaliadas as variáveis altura (H), com auxílio de vara graduada em centímetros, massa de nódulos secos (MNS), massa de parte aérea seca (MPAS) das plantas, massa de raízes secas (MRS), eficiência e eficácia, e colonização de raízes por FMA (CM).

Para a determinação da massa de parte aérea seca, massa de nódulos secos e massa de raízes secas, os materiais foram acondicionados em sacos de papel e secos em estufa à 65°C por 72 horas.

Para o cálculo da eficiência foram utilizados os dados de massa de parte aérea seca de cada tratamento inoculado, seja com rizóbios ou com inóculo proveniente do *topsoil* das jazidas, em comparação com a massa seca da testemunha absoluta 1 (T5), segundo a fórmula descrita por Laste, Gonçalves e Faria (2008): [(matéria seca do tratamento inoculado/matéria seca da testemunha absoluta) x 100]. Para calcular a eficácia foi utilizada a massa de parte aérea seca de cada tratamento inoculado, seja com rizóbios ou com inóculo proveniente do *topsoil* das jazidas, em comparação com a testemunha nitrogenada (T7), segundo a fórmula: [(matéria seca do tratamento inoculado/matéria seca da testemunha nitrogenada) x 100].

A avaliação de colonização por FMA foi realizada tomando-se amostras de 0,5 grama de raízes finas de todas as plantas, lavadas e clarificadas com solução de KOH 2,5% por 12



horas, e em seguida aquecidas em banho maria a 90 °C por 30 minutos (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). Após, as mesmas foram lavadas abundantemente em água e acidificadas com HCl 1% por 12 horas, sendo posteriormente coloridas com azul de metila 0,05% em glicerol 50%, acidificado, procedendo-se posteriormente a avaliação da colonização com auxílio de lupa estereoscópica, através da percentagem do comprimento de raízes colonizadas pelo método da intersecção em placa quadriculada (GIOVANETTI; MOSSE, 1980).

A colonização micorrízica foi abordada de modo qualitativo, visto a finalidade de relatar apenas a ocorrência de FMAs nas raízes da leguminosa arbórea estudada. Os dados de colonização micorrízica foram classificados segundo Carneiro et al. (1998), onde a colonização micorrízica é considerada baixa quando inferior a 20%, média quando variando de 20 a 50% e alta quando superior a 50%.

#### **9.4 Análise dos Dados**

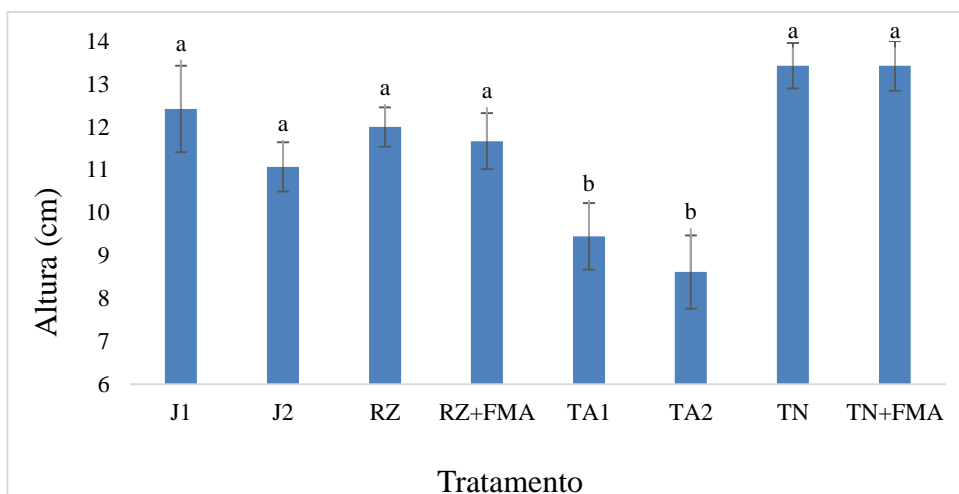
Os dados referentes a massa de parte aérea seca, massa de raízes secas e altura foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, após atenderem os preceitos estatísticos de homocedasticidade e normalidade. Averiguada a diferença estatística entre os tratamentos, realizou-se o teste de comparação de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os dados referentes à massa de nódulos secos e colonização micorrízica não atenderam aos pressupostos estatísticos de normalidade e homocedasticidade, inclusive após a transformação dos mesmos. Deste modo, estes foram analisados por método estatístico não-paramétrico segundo o teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo *software* R versão 3.4.2.

## **10 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **10.1 Altura**

Houve diferença significativa para a altura das plantas de *M. caesalpinifolia* aos 97 dias após a semeadura ( $p \leq 0,05$ ) quando empregado os diferentes tipos de inoculantes em relação às testemunhas (Figura 8). As menores médias para esta variável foram obtidas quando não houve aplicação de qualquer tipo de inóculo às plantas de sabiá (TA1) e quando esta condição foi empregada sob substrato autoclavado (TA2) (Figura 8). Estes resultados sugerem que o substrato da jazida de piçarra utilizado nas unidades experimentais (Base de Poço) possui baixo potencial de fornecimento de microrganismos simbiotes autóctones, refletindo em menor crescimento em altura das plantas.



**Figura 8.** Crescimento em altura (cm) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. em função da aplicação de diferentes tipos e composições de inoculantes. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Onde: J1 = *topsoil* de mata nativa de Caatinga adjacente à jazida J1; J2 = *topsoil* de mata nativa de Caatinga adjacente à jazida J2; RZ = mix das estirpes de rizóbio BR 3446 e BR 3407; FMA = fungos micorrízicos arbusculares; TA1 = testemunha absoluta; TA2 = testemunha absoluta e substrato autoclavado; TN = testemunha nitrogenada.

O tratamento que recebeu solução nitrogenada e adição de inóculo misto de FMA (TN + FMA) diferiu estatisticamente em relação às testemunhas absolutas (TA1 e TA2) e promoveu as maiores médias em altura das plantas de sabiá (Figura 8). Estes resultados indicam a interação sinérgica entre os nutrientes N, fornecido via solução nitrogenada, e a presença de FMA. Similarmente, Júnior (2014) verificaram que a presença de FMA melhorou a absorção de nitrogênio por *Piptadenia gonoacantha* nas testemunhas nitrogenadas. Em outro estudo, Jesus et al. (2005), ao estudarem a dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas tropicais, observaram plantas mais vigorosas de *P. gonoacantha* na testemunha nitrogenada quando em presença de FMA em relação ao mesmo tratamento sem a inoculação desses fungos.

Os tratamentos contendo inóculos de rizóbios e rizóbios associados a FMA (RZ e RZ+FMA) também diferiram estatisticamente das testemunhas absolutas, comprovando o efeito benéfico dos microrganismos simbiotes sobre a variável estudada (Figura 8).

Mendes (2010) e Burity et al (2000) avaliaram o crescimento de sabiá em resposta à inoculação com rizóbio e FMA e comprovaram que a dupla inoculação obteve a melhor performance em relação à inoculação isolada destes organismos, proporcionando os maiores valores de crescimento em altura para as plantas. A simbiose de leguminosas com rizóbios e FMAs torna a utilização dessas plantas estratégica para a revegetação de áreas degradadas, visto a melhor habilidade dessas plantas em obter dois dos nutrientes mais limitantes ao crescimento vegetal, o N e o P (FRANCO; FARIA, 1997).

Os tratamentos com uso de *topsoil* de áreas com vegetação nativa próximas às jazidas de exploração de piçarra (J1 e J2) não diferiram em relação aos tratamentos mais eficientes em promover aumento em altura das plantas de sabiá (Figura 8). Esse resultado sugere que o uso de *topsoil* de áreas nativas pode ser uma alternativa aos inoculantes tradicionais, devido à capacidade de fornecer propágulos de microrganismos de interesse adaptados às condições do sítio de crescimento das plantas.

Stamford et al. (1999) demonstrou que rizóbios isolados de regiões semiáridas da África e do Brasil são bastante resistentes a temperaturas elevadas e a estresses hídricos, podendo fixar N<sub>2</sub> em condições edafo-climáticas desfavoráveis, promovendo boa produtividade às plantas hospedeiras sem o uso de fertilizantes nitrogenados.

De acordo com Nascimento et al. (2010), isolados de rizóbios provenientes de populações nativas podem ser tão eficientes quanto as estirpes recomendadas na fixação biológica de nitrogênio em leguminosas.

A região semiárida possui características peculiares, estando toda a sua biodiversidade em condições de constante estresse, seja de temperatura ou de baixa precipitação pluviométrica. Essas condições podem afetar a sobrevivência e a eficiência dos rizóbios desse ecossistema e é possível que a alta diversidade observada em estudos anteriores seja uma indicação da capacidade do sistema de manter o grupo funcional sob condições de estresse; portanto, a grande diversidade de rizóbios encontrada nessa região, obtida a partir das espécies usadas como plantas isca, sugere estabilidade dos solos da referida região quanto à fixação de N<sub>2</sub>, tolerando seus estresses; isto pode ser resultado de um processo de adaptação dos rizóbios juntamente com a grande diversidade de leguminosas nativas da Caatinga (SANTOS et al., 2007).

## 10.2 Massa de parte aérea seca (MPAS), massa de nódulos secos (MNS) e eficiência e eficácia da inoculação

A análise da MPAS e MNS demonstrou que a dupla inoculação (RZ + FMA) foi o tratamento que conferiu maior vigor às plantas de sabiá, com maior produção de matéria seca de parte aérea e nódulos (Tabela 6). Porém, esse tratamento diferiu estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) apenas das testemunhas absolutas, de acordo com os testes de Scott-Knott e Kruskal-Wallis, respectivamente aplicados aos dados de MPAS e MNS (Tabela 6).

**Tabela 6.** Massa de parte aérea seca (MPAS), massa de nódulos secos (MNS), eficiência e eficácia para as plantas de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) após 97 dias da semeadura.

Tratamento	MPAS* (g)	MNS* (mg)	Eficiência (%)	Eficácia (%)
J1	0,73 a	33,0 abc	163	98
J2	0,56 a	44,1 ab	124	74
Rizóbio	0,70 a	24,8 abc	156	94
Rizóbio + FMA	0,78 a	52,9 a	174	104
TN	0,58 a	16,0 abc	167	100
TN + FMA	0,73 a	29,1 abc	161	97
TA 1	0,45 b	20,4 abc	100	60
TA 2	0,29 b	0 c	65	39

Onde: J1 = *topsoil* de mata nativa adjacente à jazida J1; J2 = *topsoil* de mata nativa adjacente à jazida J2; FMA = fungos micorrízicos arbusculares; TA1 = testemunha absoluta; TA2 = testemunha absoluta com substrato autoclavado e TN = testemunha nitrogenada. \*MPAS = massa de parte aérea seca (médias seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade); \*MNS = massa de nódulos secos (médias seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade).

Mergulhão et al. (2001), ao estudarem a influência da dupla inoculação com rizóbio e FMA em plantas de sabiá, obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo, de modo que a dupla inoculação apresentou uma maior eficiência no rendimento da massa de parte aérea seca e massa de nódulos secos em relação a inoculação com apenas rizóbio. Esse fato pode ser explicado por uma sinergia entre as simbioses. Enquanto há um maior fornecimento de P,

proporcionado pelo FMA, este beneficia o funcionamento da enzima nitrogenase e assim o processo de fixação biológica de nitrogênio (MENDES FILHO, 2004).

Para a variável MPAS, os tratamentos J1, J2, Rizóbio, Rizóbio + FMA, TN e TN + FMA não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (Tabela 6), porém apresentaram diferença estatística em relação às testemunhas absolutas (TA1 e TA2). Estes resultados demonstram o efeito benéfico da aplicação de *topsoil* sobre a leguminosa arbórea.

Santos et al. (2005), ao estudarem a efetividade de rizóbios isolados da região Nordeste do Brasil na fixação de nitrogênio em *Arachis hypogaea* L., constataram que os rizóbios nativos proporcionaram maior rendimento de matéria seca da parte aérea e nodulação em relação aos tratamentos controle com e sem nitrogênio, mostrando-se promissores para a produção de inoculantes específicos para a cultura. De acordo com Nascimento et al. (2010), isolados provenientes de populações nativas podem ser tão eficientes quanto as estirpes recomendadas na fixação biológica de nitrogênio.

Pontes et al. (2012), ao estudarem a dupla inoculação de rizóbio e FMA em sabiá, constataram que esta mostrou-se superior aos tratamentos com inoculação isolada destes microrganismos quanto à maximização da produção de plantas dessa espécie, além de induzir maior nodulação e eficiência simbiótica.

O trabalho de Oliveira et al. (2010) também corrobora com os resultados do presente estudo, uma vez que os tratamentos contendo inoculação com rizóbios e dupla inoculação (rizóbios + FMA) forneceram maior massa de nódulos em *Acacia mangium* Willd em relação a inoculação separada destes microrganismos simbiotes.

As plantas quando micorrizadas, geralmente apresentam um metabolismo mais elevado que as não micorrizadas, sendo capazes de fornecer maior quantidade de carboidratos ao rizóbio e conseqüentemente, apresentam uma nodulação significativamente maior (MERGULHÃO et al., 2001).

Os resultados do presente estudo corroboram com os de Burity et al. (2000), onde a nodulação em plantas de sabiá se mostrou favorecida pela micorrização, uma vez que as mesmas, inoculadas apenas com rizóbios, apresentaram nodulação significativamente menor.

Analisando o tratamento com dupla inoculação, torna-se evidente a influência da nodulação na promoção de maior massa de parte aérea seca na espécie estudada. Ferreira et al. (2012), constataram que a elevada produção de matéria seca de nódulos influenciou diretamente em maior produção de matéria seca da parte aérea em leguminosas arbóreas.

Os tratamentos com *topsoil* proveniente de áreas de remanescente de vegetação nativa da Caatinga adjacentes às jazidas de exploração de piçarra se mostraram estatisticamente superiores ( $p \leq 0,05$ ) quanto a MNS em relação as testemunhas absolutas (TA1 e TA2), possivelmente em função da presença no *topsoil* de bactérias fixadoras de nitrogênio autóctones do bioma eficientes em nodular plantas de sabiá (Tabela 6).

Os resultados de MNS do presente estudo se assemelham com os de Santos et al. (2005) que observaram que os tratamentos sem inoculação e com e sem adição de N apresentaram menor massa de nódulos secos, quando comparados com as plantas inoculadas com rizóbios nativos. Os mesmos autores apontam que o estabelecimento dos isolados nativos inoculados nas leguminosas pode ter sido facilitado pelo baixo quantitativo de rizóbios presentes no substrato das unidades experimentais, fato que pôde ser observado pela baixa nodulação das plantas controle, como evidenciado neste trabalho.

Semelhante aos resultados do trabalho de Costa et al. (2011), a testemunha absoluta sem N mineral (TA1), apesar de não diferir estatisticamente da testemunha com N mineral (TN), promoveu valores para MNS próximos aos do tratamento com inoculação de rizóbio, evidenciando assim o papel inibidor do N mineral sobre a nodulação. Segundo Uchôas (2007),

o N mineral afeta o processo de infecção, a taxa de fixação e o número de nódulos formados, bem como a eficiência da fixação do N.

No estudo de Machado et al. (2004), a adição de N mineral não foi suficiente para inibir a nodulação em *Chamaecrista* sp., porém observou-se uma tendência de redução da massa de nódulos secos na testemunha nitrogenada, assim como no presente estudo (Tabela 6).

A ausência de nodulação no tratamento testemunha absoluta com substrato autoclavado (TA2) sugere que não houve contaminação por rizóbios durante a instalação e condução do experimento.

Em relação a eficiência e eficácia do presente estudo, estas variaram entre 61 e 174% e 39 e 104%, respectivamente. Eficiência refere-se ao ganho percentual de massa seca do tratamento em relação a testemunha absoluta, enquanto que eficácia refere-se ao ganho percentual de massa relativa a testemunha nitrogenada. Os maiores percentuais de eficiência foram obtidos nas testemunhas nitrogenadas e nos tratamentos com dupla inoculação (RZ + FMA) ou aplicação do *topsoil* da área de Caatinga da J1 (Tabela 6). Esses mesmos tratamentos apresentaram os maiores valores de eficácia, embora todos muito próximos da testemunha nitrogenada.

A eficiência e a eficácia dos tratamentos contendo *topsoil* (J1 e J2) similares aos dos tratamentos com inoculante bacteriano (RZ e RZ + FMA) reforça o potencial dos isolados nativos em nutrir as plantas em termos de nitrogênio.

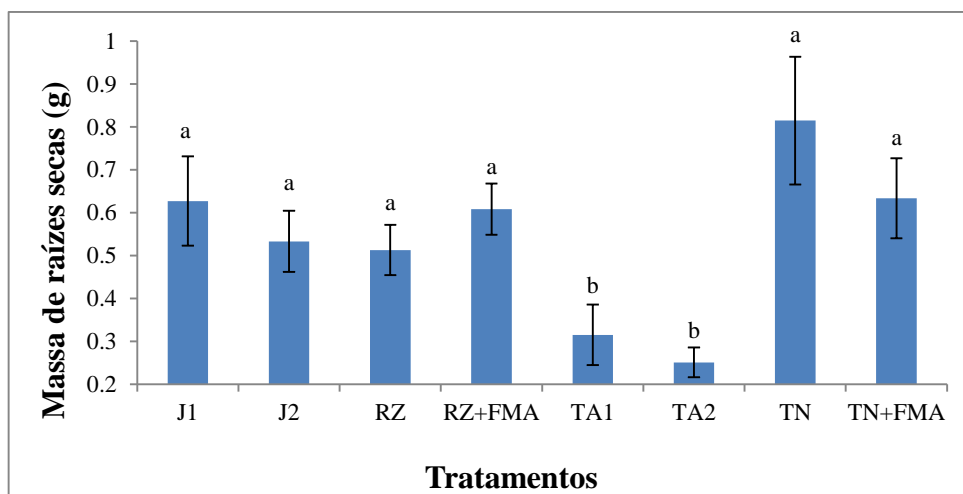
Jesus et al. (2005), ao estudar a dependência de micorrizas para a nodulação de *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr. e *Piptadenia paniculata* Bentham, obtiveram resultados semelhantes aos do presente estudo, de modo que os tratamentos inoculados simultaneamente com rizóbio e FMA apresentaram alta eficiência e eficácia na promoção do crescimento das plantas.

O tratamento com *topsoil* de área de mata nativa adjacente à jazida J1, proporcionou elevados percentuais de eficiência e eficácia, com valores semelhantes aos do tratamento com dupla inoculação (Rizóbio + FMA) e superiores aos do tratamento com inoculação de apenas rizóbio (RZ) (Tabela 6), reafirmando o efeito benéfico dos microrganismos nativos do bioma Caatinga em promover crescimento vigoroso em plantas de sabiá.

Os resultados do presente estudo corroboram com os de Machado et al. (2004), visto que em seu trabalho os rizóbios nativos apresentaram boa eficácia em relação as estirpes selecionadas indicando que o solo do ambiente natural pode possuir rizóbios tão eficientes quanto as estirpes indicadas para a cultura. Os mesmos autores reforçam o potencial dos microrganismos presentes no solo superficial de áreas degradadas em fornecer alta eficiência e eficácia na simbiose com leguminosas voltadas a programas de restauração florestal.

### 10.3 Massa de raízes secas

Os resultados referentes ao efeito dos diferentes tratamentos estudados sobre a massa de raízes secas (MRS) das plantas de sabiá após 97 dias da semeadura das sementes pré-germinadas apresentam-se na Figura 6. Os tratamentos contendo *topsoil* (J1 e J2), inóculo de rizóbios indicados para a cultura (RZ), dupla inoculação (RZ + FMA), testemunha nitrogenada (TN) e testemunha nitrogenada com inóculo de FMA (TN + FMA), não apresentaram diferença estatística entre si ( $p \geq 0,05$ ) para a variável analisada, porém foram estatisticamente superiores às testemunhas absolutas (TA1 e TA2) (Figura 9). As maiores médias de MRS foram obtidas pelos tratamentos TN, seguido por TN + FMA, J1 e RZ + FMA (Figura 9).



**Figura 9.** Massa de raízes secas (g) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. segundo a aplicação de diferentes tipos e composições de inóculos empregados. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Freire et al. (2017) e Mendonça (2012) verificaram em seus trabalhos que a adubação nitrogenada promoveu maior MRS e desenvolvimento das mudas de espécies florestais, sendo este tratamento superior à inoculação com estirpes de rizóbios. Segundo o último autor, outras pesquisas têm demonstrado que a fertilização mineral com nitrogênio favorece o desenvolvimento radicular dos cultivos. O valor elevado para a variável MRS no tratamento TN pode ter sido influenciado pela translocação de nutrientes e carbono entre parte aérea (favorecida pela adubação mineral) e raízes. Fatores como a relação fonte/dreno de carboidratos, distribuição de carbono entre as partes aérea e radicular e o ambiente da rizosfera afetam o crescimento das raízes e a sua senescência, como também o crescimento da parte aérea e a sua capacidade de fixação de carbono (FREITAS et al., 2008).

Embora o tratamento TN tenha fornecido melhores resultados de MRS devido ao aporte adequado de nitrogênio, torna-se evidente a influência positiva dos inoculantes usados nos tratamentos TN + FMA, RZ + FMA e J1, ao fornecer médias de MRS semelhantes estatisticamente à da testemunha nitrogenada (Figura 9).

Pouyú-Rojas e Siqueira (2000), estudando micorrizas arbusculares e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de espécies arbóreas, observaram que o crescimento de espécies vegetais em solos férteis ou de baixa fertilidade, inoculadas com FMA's e rizóbio, podem apresentar diferentes padrões de desenvolvimento radicular. De acordo com esse estudo, plantas crescidas em solo fértil colonizadas por FMAs não apresentaram crescimento radicular elevado. Porém, quando cultivadas em solo de baixa fertilidade constatou-se maior crescimento radicular nas plantas inoculadas com FMAs, tornando evidentes os benefícios da micorrização para a produção de biomassa radicular em condições de baixa fertilidade.

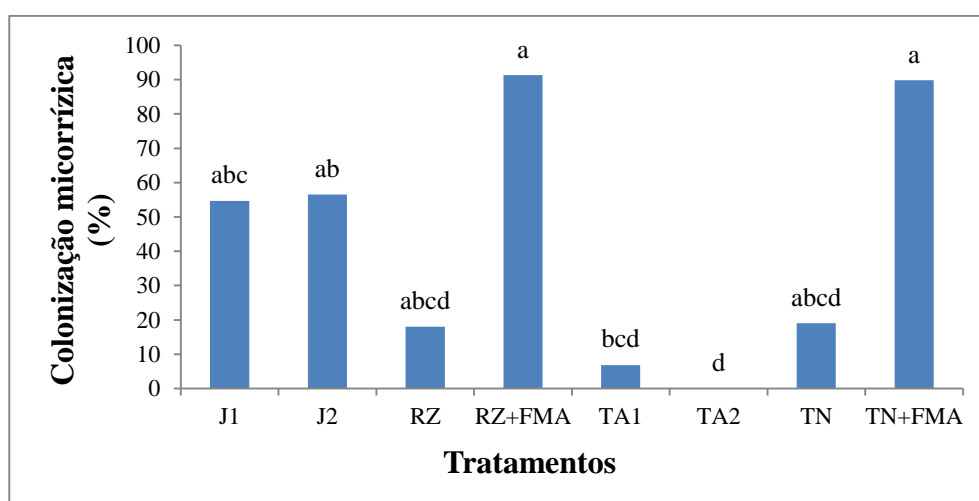
Oliveira et al. (2011), ao estudarem a resposta da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbios no crescimento inicial de *Acacia mangium* Willd. em solo de mineração no estado de Goiás, verificaram maior peso seco de raízes no tratamento com inoculação dupla (rizóbios + FMA), semelhante aos resultados do presente estudo. Gross et al. (2004) e Almeida e Raymundo (2006) também relataram maior massa de raízes secas de *Anadenanthera falcata* (Benth.) nos tratamentos inoculados com FMAs e rizóbio.

De acordo com Caldeira et al. (1999) a presença de micorrizas em leguminosas arbóreas pode contribuir para expandir a área de captação de P, Mo, Zn e outros nutrientes de baixa mobilidade que chegam até as raízes pelo processo de difusão, permitindo o crescimento destas plantas em solos extremamente pobres e deficientes em nitrogênio. Desta forma os FMA

autóctones (presente no tratamento J1) ou através de inoculante (RZ + FMA e TN + FMA), provavelmente foram responsáveis por uma melhor nutrição em termos dos nutrientes citados acima, refletindo em altos valores de MRS.

#### 10.4 Colonização micorrízica

A análise da colonização micorrízica (CM) demonstrou que a dupla inoculação (RZ + FMA) e a testemunha nitrogenada com FMA (TN + FMA) foram os tratamentos que conferiram às plantas de sabiá, maiores médias para a variável, tendo diferido estatisticamente das testemunhas absolutas 1 e 2 pelo teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade (Figura 10).



**Figura 10.** Colonização micorrízica de raízes (%) de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. em função da aplicação de diferentes tipos e composições de inoculantes. Barras seguidas de letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade.

Os resultados sugerem que a inoculação com FMA foi efetiva em promover altos percentuais de colonização micorrízica. Contudo, o emprego de *topsoil* advindo de remanescente de vegetação adjacente à jazidas de exploração de piçarra promoveu colonização micorrízica em nível elevado (55%), de acordo com a classificação proposta por Carneiro et al. (1998), denotando a presença de fungos no material e caracterizando-o como potencial fonte de inóculo de FMA.

De acordo com Almeida (1986) e Gheyi (2000), as plantas de sabiá quando em habitat natural, normalmente encontram-se associadas a FMA e bactérias fixadoras de nitrogênio, o que possivelmente constitui uma estratégia evolutiva da adaptação desta espécie às condições adversas da região semiárida. Logo, o manejo dessa interação planta-microrganismo pode ser uma estratégia viável e de baixo custo para compor programas de revegetação de áreas degradadas no Nordeste.

Alguns trabalhos avaliando diversas combinações e tipos de inóculos, incluindo a inoculação dupla de rizóbios e fungos micorrízicos arbusculares em plantas de *M.caesalpiniiifolia* Benth. (BURITY et al., 2000; TAVARES et al., 2016), constataram que a combinação dos simbioss (rizóbios + FMA) forneceu os maiores valores de colonização micorrízica, corroborando com os resultados do presente estudo.

Embora a dupla inoculação tenha fornecido altos valores para CM, a utilização de *topsoil* em projetos de restauração florestal na Caatinga pode ser entendida como uma alternativa a esta e com valores estatisticamente equiparáveis, apresentando baixo custo

mediante ao fornecimento dos microrganismos simbiotes a partir de material de alta disponibilidade e proximidade aos locais de plantio.

Segundo Menge et al. (1978), o mecanismo que regula a relação entre a colonização das raízes por FMA pode estar associado ao nível crítico interno do fósforo da planta hospedeira. Plantas micorrizadas aumentam sua resistência a estresse hídrico, pelo favorecimento da relação água-planta promovido pelo fungo micorrízico, incluindo aumentos na elasticidade das folhas, na taxa de transpiração e na de abertura de estômatos, melhoria do estado nutricional e aumento das raízes, em comprimento e profundidade (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Lins et al. (2007) encontraram valores de CM em torno de 94% em raízes de *Leucaena leucocephala* utilizando inóculos de FMA's introduzidos e cerca de 87% com FMA's nativos, indicando que os fungos nativos foram capazes de colonizar as raízes da leguminosa com praticamente o mesmo potencial. Os mesmos autores atestaram assim, que FMA's nativos de áreas de Caatinga preservadas ou impactadas por mineração de cobre e FMA's introduzidos são igualmente capazes de colonizar raízes de leucena.

Os valores mais baixos de CM (<20%) dentre os tratamentos estudados, compreenderam os com ausência de inoculação de FMA (RZ, TA1 e TA2). Pôde-se observar ainda, mesmo que muito baixa, colonização micorrízica por parte do substrato de piçarra advindo da jazida Base de Poço, evidenciada no tratamento TA1 (Figura 10).

Santos et al. (2008), estudando a eficiência de FMA isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento inicial de espécies nativas obtiveram CM em todas as plantas que foram inoculadas, assim como no presente estudo, demonstrando a potencialidade de estabelecimento destes simbiotes sob solos arenosos e com estresse salino.

Portanto, os FMAs representam uma potencial ferramenta biológica para reabilitação de áreas degradadas, principalmente quando a proporção de plantas colonizadas por micorrizas na área for alta e houver deficiência de nutrientes que limitam o crescimento da vegetação, como tem sido verificado em áreas impactadas por diversas atividades de mineração (RAMAN et al., 1993; FRANCO et al., 1996; PATTINSON et al., 2004).



## 11 CONCLUSÕES

A dupla inoculação com rizóbios e FMA foi efetiva na promoção de médias elevadas para as variáveis altura, massa de parte aérea seca, massa de raízes secas e massa de nódulos secos, além dos maiores percentuais de eficiência, eficácia e colonização micorrízica nas plantas de *M. caesalpinifolia*.

Os tratamentos com aplicação de *topsoil* oriundos de remanescentes de vegetação nativa da Caatinga apresentam potencial para fornecimento de propágulos de FMA e rizóbios autóctones eficientes em promover o crescimento da espécie *M. caesalpinifolia* em nível similar ao promovido pelos inoculantes produzidos em laboratório.

A habilidade do *topsoil* em fornecer propágulos de rizóbios e FMA eficientes em promover o crescimento vegetal deve ser testado em outras espécies nativas da Caatinga utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas no bioma. A confirmação desse potencial abrirá novas possibilidades de inoculação de mudas em viveiros próximos às áreas de plantio. Da mesma forma, estudos futuros devem avaliar o desempenho do uso do *topsoil* como inoculante em condições de campo.

## 12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABÍLIO, F.J.P. **Bioma caatinga, ecologia, biodiversidade, educação ambiental e práticas pedagógicas**. João Pessoa: Editora Universitária - UFPB, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO (ANP). **Reservas Nacionais de Petróleo e Gás Natural**. 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br / Petróleo e Derivados / Desenvolvimento e Produção / Dados D&P>>. Acesso em: 05 jul. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO (ANP). **Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural**. 2017. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/?dw=74333>> Acesso em: 15 fev. 2018.

AGUIAR, R.L.F. **Uso e propriedades do solo: efeitos nas micorrizas arbusculares**. 2004. 74f. Tese (Doutorado Tecnologias Energéticas e Nucleares), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

ALCANTARA, R.M.C.M.; ARAÚJO, A.P.; XAVIER, G.R.; ROCHA, M.M.; RUMJANEK, N.G. **Relações entre a contribuição da fixação biológica de nitrogênio e a duração do ciclo de diferentes genótipos de cultivos de leguminosas de grãos**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. 27p.

ALLEN, M.F. **The ecology of mycorrhizae**. San Diego: Cambridge University Press, 1991, 184 p.

ALMEIDA, L.D. Efeitos de métodos de escarificação na germinação de sementes de cinco leguminosas forrageiras. **Revista Científica do Instituto Agrônomo**, v. 38, n. 9, p. 1-14, 1979.

ALMEIDA, R.T.; VASCONCELOS, I.; NESS, R.L.L. Infecção micorrízica vesículo-arbuscular e nodulação de leguminosas arbóreas do Ceará, Brasil. **Ciência Agrônômica**, v.17, n.1, p. 89-97, 1986.

ALMEIDA, A.F.; RAYMUNDO JR. O. Crescimento de mudas de *Anadenanthera falcata*, em casa-de-vegetação, inoculadas com rizóbio e micorrizas. **Holos Environmental**, v.6, p.22-30, 2006.

ANDRADE, D.S., HAMAKAWA, P.J. 1994. Estimativa do número de células de rizóbio no solo e inoculante por infecção em planta. In: HUNGRIA, M. ARAÚJO, R.S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI. p.63-92.

ANDRADE, A.G.; TAVARES, S.R.L.; COUTINHO, H.L.C. Contribuição da serapilheira para recuperação de áreas degradadas e para manutenção da sustentabilidade de sistemas agroecológicos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.24, n.220, p.55-63, 2003.

ARAÚJO, E.L.; SILVA, S.I.; FERRAZ, E.M.N. Herbáceas da caatinga de Pernambuco. In: TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Orgs) **Diagnóstico da biodiversidade de Pernambuco**. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, p.183-187, 2002.

ARAÚJO, P.M.D.B.; OLIVEIRA, M. Variabilidade Espacial de Cálcio, Magnésio, Fósforo e Potássio em Solos das Regiões Oeste de do Baixo Açu, Estado do Rio Grande do Norte, **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 16 (1/2), p. 69-78, 2003.

ARAÚJO, C.S.F.; SOUSA, A.N. Estudo do processo de desertificação na caatinga: uma proposta de educação ambiental. **Revista Ciência e Educação**, São Paulo - Bauru, v. 17, n. 4, p.975-986, 2011.

ARAÚJO, L.V.C. **Composição florística, fitossociológica e influência dos solos na estrutura da vegetação em uma área de caatinga no semiárido paraibano**. 2007. 121f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2007.

ARAÚJO, M.S.; ANDRADE, G.C. Métodos para superar a dormência tegumentar em sementes de jurema-preta (*Mimosa hostilis* Benth.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 6/7, p. 26-32, Jun./Dez. 1983.

ARTUR, A.G.; OLIVEIRA D.P.; COSTA, M.C.G.; ROMERO, R.E.; SILVA, M.V.C.; FERREIRA, T.O. Variabilidade espacial dos atributos químicos do solo, associada ao microrrelevo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 141-149, 2014.

BACA, B.; SOTO, L.; PARDO, M. Fijación biológica de nitrógeno. **Elementos**, v.1, p.39-49, 2000.

BARBERI, A.; CARNEIRO, M.A.C.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Nodulação em leguminosas florestais em viveiros no Sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v.4, n.1, p. 145-153, 1998.

BARBOSA, H.A. **Sistema EUMETCast: Uma abordagem aplicada dos Meteosat Segunda Geração**. 1ed. Maceió: EDUFAL, v.2, 186p. 2013.

BARRETT, C.F.; PARKER, M.A. Coexistence of *Burkholderia*, *Cupriavidus*, and *Rhizobium* sp. Nodule bacteria on two *Mimosa* spp. in Costa Rica. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.72, n.2, p.1198-1206, fev. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1392967/>> Acesso em: 3 de jul. de 2016.

BASHAN, Y., DAVIS, E.A., CARRILLO-GARCIA, A., LINDERMAN, R.G. Assessment of mycorrhizal inoculum potential in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran Desert. **Applied Soil Ecology**, v.14, p.165-175, 2000.

BENDFELDT, E.S.; BURGER, J.A.; DANIELS, W.L. Quality of amended mine soils after sixteen years. **Soil Sci. Soc. of Amer**, v.1 65, p. 1736-1744, 2001.

BROCKWELL, J. Plant-Infection Counts of Rhizobia in Soils. In: VINCENT, J.M. ed. **Nitrogen fixation in legumes**. New York: Academic Press, 1982. p. 41-58.

BURITY, H.A.; LYRA, M.C.C.P.; SOUZA, E.S.; MERGULHÃO, A.C.E.S.; SILVA, M.L.R.B. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.4, p.801-807, 2000.

CALDEIRA, M.V.W.; SILVA, E.M.R.; FRANCO, A.A.; ZANON, M.L.B. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de duas leguminosas arbóreas. **Ciência Florestal**, v.9, n.1, 1999.

CAMPELLO, E.F.C. Sucessão vegetal na recuperação de áreas degradadas. In: DIAS, L. E.; MELLO, J. W. V. (eds). **Recuperação de áreas degradadas**. UFV, Viçosa, 1998. p. 183-196.

CAMPELLO, E.F.C. **A influência de leguminosas arbóreas fixadoras de nitrogênio na sucessão vegetal em áreas degradadas na Amazônia**. 1999. 121p. Dissertação (Tese de doutorado). Universidade Federal de Viçosa - MG.

CAPRONI, A. L. **Fungos micorrízicos arbusculares em áreas reflorestadas remanescentes da mineração de bauxita em Porto Trombetas/PA**. 2001. 186 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

CARMO FILHO, F.; OLIVEIRA, O.F. Mossoró: Um município do semi-árido nordestino, caracterização climática e aspecto florístico. Mossoró: ESAM, 1995. 62p. **Coleção Mossoroense**, Série B.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA F.M.S.; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.A.; SAGGIN JÚNIOR O.J. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no Sudoeste do Brasil. **Revista Cerne**, v.4, n.1, p.129-145, 1998.

CARRENHO, R. **Influência de diferentes espécies de plantas hospedeiras e fatores edáficos no desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares (FMA)**. 1998. 226 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1998.

CASTELLETTI, C.H.M.; SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M.; SANTOS, A.M.M. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2003. p. 719-734.

CAVALCANTI, F.J.A. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco: 2a. Aproximação**. IPA, Recife, 1998, 198 p.

CHAER, G.M.; RESENDE, A.S.; CAMPELLO, E.F.C.; DE FARIA, S.M.; BODDEY, R.M. Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology**, v.31, p.139-149, 2011.

COCHRAN, W.C. Estimation of bacterial densities by means of the “most probable number”. **Biometrics**, v.6, p.105-116, 1950.

COMPANT, S.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; SESSITSCH, A. Climate change effects on beneficial plant-microorganism interaction. **Microbiology Ecology**, v.73, p. 197-214, 2010.

CORREA, M.M.; KER, J.C.; MENDONÇA, E.S.; RUIZ, H.A.; BASTOS, R.S. Atributos físicos, químicos e mineralógicos da região das várzeas de Sousa-PB. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 311-324, 2003.

COSTA, E.M.; NÓBREGA, R.S.A.; MARTINS, L.V.; AMARAL, F.H.C.; MOREIRA, F.M.S. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.1, p. 1-7, 2011.

CUSATIS, A.C. **Diagnóstico de taludes rodoviários revegetados naturalmente na região de Viçosa, MG**. Viçosa, MG, 2001. 73 p. Tese (Titulação de “Magister Scientiae”) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa.

DANTAS, J.N.; OLIVEIRA, T.S.; MENDONÇA, E.S.; ASSIS, C.P. Qualidade de solo sob diferentes usos e manejos no Perímetro Irrigado Jaguaribe/Apodi, CE. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.1, p.18-26, 2012.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: endophytic N<sub>2</sub> fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, v.44, p.310-313, 1992.

DOMMARGUES, Y.; DUHOUX, E.; DIEM, H.G. **Les Arbres fixateurs d’azote – caractéristiques fondamentales et rôle dans l’aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulière aux zones subhumides et arides**. Rome: CIRAD, 1999. 499 p.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; CELEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds). **Defining soil quality for sustainable environment**. Madison, Soil Science Society of America, 1994. p. 3-21.

DOYLE, J.J.; LUCKOW, M.A. The rest of the iceberg: legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, Lancaster, v.131, n. 3, p. 900-910, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; OLIVARES, F.L.; MELO, R.B.; XAVIER, R.P. Nodulação em espécies florestais, especificidade hospedeira e implicações na sistemática de Leguminosae. In: SIQUERIA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.A.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (eds.) **Inter-relações fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 667-686, 1999.

FARIA, S.M.; UCHÔAS, E.S. **Indicação de estirpes de rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies de uso múltiplo, atualização ano base 2006**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, 2007. 10p. (EMBRAPA – CNPAB. Documentos, 228).

FARIA, S.M; CAMPELLO, E.F.C.; XAVIER, D.F.; BODDEY, R.M. 2010. **Multi-purpose fast-growing legume trees for smallholders in the tropics and sub-tropics: firewood, fencing and fodder**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, 2007, 6p. (EMBRAPA – CNPAB. Comunicado Técnico, 127).

FERNANDES, V.L.B. **Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado do Ceará**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1993, 248p.

FERREIRA, A.C.A. **Ecologia e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga**. Pernambuco, 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco. 2010.

FERREIRA, P.A.A.; BOMFETI, C.A.; JÚNIOR, R.S.; SOARES, B.L.; SOARES, C.R.F.S.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência simbiótica de estirpes de *Cupriavidus necator* tolerantes a zinco, cádmio, cobre e chumbo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.1, p.85-95, 2012.

FIGUEIREDO, J.M.; ARAÚJO, J.M.; PEREIRA, O.N.; BAKKE, I.A.; BAKKE, O.A. Revegetation of degraded Caatinga sites. **Journal of Tropical Forest Science**, Malasia, v. 24, n. 3, p. 332-343, 2012.

FILOSO, S.; MARTINELLI, L.A.; HOWARTH, R.W.; BOYER, E.W.; DENTENER, F. Human activities changing the nitrogen cycle in Brazil. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 79, n. 1-2, p. 61-89, May 2006.

FLORA DO BRASIL. **Projeto Flora do Brasil 2020**. 2018. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 03 mar. 2018.

FLORES, A.S.; RODRIGUES, R.S. Diversidade de Leguminosae em uma área de savana do estado de Roraima, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 175-183, 2010.

FORZZA, R.C.; LEITMAN, P.M.; COSTA, A.F.; CARVALHO JR., A.A.; PEIXOTO, A.L.; WALTER, B.M.T.; BICUDO, C.; ZAPPI, D.; COSTA, D.P.; LLERAS, E.; MARTINELLI, G.; LIMA, H.C.; PRADO, J.; STEHMANN, J.R.; BAUMGRATZ, J.F.A.; PIRANI, J.R.; SYLVESTRE, L.; MAIA, L.C.; LOHMANN, L.G.; QUEIROZ, L.P.; SILVEIRA, M.; COELHO, M.N.; MAMEDE, M.C.; BASTOS, M.N.C.; MORIM, M.P.; BARBOSA, M.R.; MENEZES, M.; HOPKINS, M.; SECCO, R.; CAVALCANTI, T.B.; SOUZA, V.C. 2010. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010>>. Acesso em: 9 de jul. de 2016.

FRAGA, V.S.; SALCEDO, I.H. Declines of organic nutrient pools in tropical semi-arid soils under subsistence farming. **Soil Sci. Soc. Am.** v. 68, p. 215-224, 2004.

FRANCELINO, M. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; RESENDE, M. Elaboração de um Sistema de classificação da capacidade de suporte em ambiente semiárido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, n. 1, p. 83-91, 2005.

FRANCO, A.A.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M. de; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, E.M.R. da. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. **Oecologia Brasiliensis**, v. 1, p. 459-467, 1995.

FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.C.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M. **Uso de leguminosas associadas a microrganismos na revegetação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombetas-PA**. Embrapa-CNPAB, 1996. 69p. (Documento, n.27).

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

FRANCO, A.A.; MACHADO, R.L.; CAMPELLO, E.F.C.; RESENDE, A.S. Bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos na recuperação de voçorocas. In: FIGUEIREDO, M.do V.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P.; SILVA SANTOS, C.E.R. (Eds.). **Microrganismos e Agrobiodiversidade: O novo desafio para a agricultura**. 1 ed., Recife: Agrolivros, 2008, v.1, p.523-542.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory Manual of General Microbiology with Special Reference to the Microorganisms of the Soil**. Mac-Graw-Hill book company, Inc.: New York, 1928. 145p.

FREIRE, J.M.; JESUS, E.C.; ROUWS, J.R.C.; FARIA, S.M.; ZILLI, J.E. Efeito do substrato sobre o crescimento de mudas de *Mimosa bimucronata* inoculadas com estirpes de rizóbio. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.37, n.90, p. 131-138, 2017.

FREITAS, T.A.S.; BARROSO, D.G.; CARNEIRO, J.G.A. Dinâmica de raízes de espécies arbóreas: visão da literatura. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.18, n.1, p.133-142, 2008.

GERDERMANN, J.N.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GHEYI, H. R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T.; ASSIS, R. N.; ROMERO, R. E.; SILVA, J. R. C. (Ed.). **Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido**. Fortaleza: UFC, 2000. p. 329-345.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 484-500, 1980.

GRIFFITH, J.J. **Recuperação conservacionista da superfície de áreas mineradas: uma revisão de literatura**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Investigações Florestais/UFV, 1980. 106 P. (Boletim técnico, 79).

GRIFFITH, J.J.; DIAS, L.E.; JÚNIOR, P.de M. A recuperação ambiental. **Ação Ambiental**, Viçosa: UFV, ano II, n.10, 35p., fev./mar. 2000.

GROSS, E. CORDEIRO, L. CAETANO, F.H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera perigrina* var. *falcata* em solo de Cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.28, p.95-101, 2004.

GRUZMAN, I; DOBEREINER, J. IN: **Anais da IV reunião latino americana sobre inoculantes para leguminosas**. Porto Alegre, p. 84, 1968.

GUPTA, V.; SATYANARAYANA, T.; GARG, S. General aspects of mycorrhiza. In: MUKERJI, K.G.; CHAMOLA, B.P.; SINGH, J (Eds.). **Mycorrhiza Biology**, p. 27-44, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2000.

HART M., READER R. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytology**. v.153, p.335-344, 2002.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.T. **The water culture method for growth plants without soil**. Berkely: California Agriculture Experiment Station, 1950. 32p. (University of California. Circular 347).

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, 1994. 542 P. (EMBRAPA – CNPAF. Documentos, 46).

HRUDAYANATH, T.; MISRA, A.K.; PADHI, G.S. & THATOI, H. Comparative growth, nodulation and total nitrogen content of six tree legume species grown in iron mine waste soil. **J. Tropical Forest Science**, v.8 p. 107-115, 1995.

IBAMA, Disponível em: < via [HTTP://www.ibama.gov.br/ecossistema/caatinga.htm](http://www.ibama.gov.br/ecossistema/caatinga.htm).> Acesso em 11 de junho de 2016.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal floatation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v.48, n.8, p.692-694, 1964.

JESUS, E.C.; SCHIAVO, J.A.; DE FARIA, S.M. Dependência de micorrizas para a nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.4, 2005.

JÚNIOR, J.Q.O. **Estudo da associação entre bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares associados a leguminosas do grupo das piptadenias**. 2014. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2014.

KILL, L.H.; RIBEIRO, M. de F.; DIAS, C.T. de V.; SILVA, P.P.; SILVA, J.F.M. da. **Caatinga: flora e fauna ameaçadas de extinção**. CPATSA, 2009. p. 1-4. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/CPATSA-2009-09/40471/1/OPB2293.pdf>>. Acesso em: 05 de jun. de 2016.

KOCH, A.L. Growth Measurement. In: GERBARDT, P. ed. **Manual of methods for General Bacteriology**: Washington DC: American Society for Microbiology, 1981, p. 179-207.

KÖPPEN, W. **Climatología: con un estudio de los climas de la Tierra**. Ciudad del Méjico: Fondo de Cultura Económica, 1948. 479 p.

KRAISER, T.; GRAS, D.E.; GUTIERREZ, A.G.; GONZALES, B.; GUTIERREZ, R.A. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.4, p.1455-1466, 2011.

LASTE, K.C.D.; GONÇALVES, F.S.; FARIA, S.M. **Estirpes de rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas mineradas**. Seropédica - RJ: Embrapa Agrobiologia. 2008. (Comunicado Técnico, nº115).

LAVIN, M.; HERENDEEN, P.S.; WOJCIECHOWSKI, M. F. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. **Systematic Biology**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 575-594, 2005.



LEAL, I.R., SILVA, J.M.C., TABARELLI, M., LACHER-JR, T.E. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of northeastern Brasil. **Conservation Biology**, v.19, p.701- 706, 2005.

LEAL FILHO, N.; LEME, R.F.; SENA, J.S. Utilização de “topsoil” da floresta no processo de recuperação de áreas degradadas de Urucu. In: II Workshop de avaliação técnica e científica da rede ctpetro, 2006, Manaus. Anais... Manaus, 2006.

LEITE, J. **Caracterização de bactérias nativas de solos do semiárido brasileiro isoladas de nódulos de feijão-caupi**. 2011. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2011.

LEITE, M.H.; SANTOS, R.V.; GOMES, A.D.V. Fertilização e cultivo de mamoneira (*Ricinus communis* L.) em solos degradados do semiárido. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 5, p. 198 – 205, 2011.

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; LOCK, M. (Ed.). **Legumes of the world**. Richmond: Royal Botanic Gardens, 2005. 577p.

LIMA, H.C. DE; QUEIROZ, L.P.; MORIM, M.P.; SOUZA V.C.; DUTRA, V.F.; BORTOLUZZI, R.L.C.; IGANCI, J.R.V.; FORTUNATO, R.H.; VAZ, A.M.S.F.; SOUZA, E.R. DE; FILARDI, F.L.R.; VALLS, J.F.M.; GARCIA, F.C.P.; FERNANDES, J.M.; MARTINS-DA-SILVA, R.C.V.; PEREZ, A.P.F.; MANSANO, V.F.; MIOTTO, S.T.S.; TOZZI, A.M.G.A.; MEIRELES, J.E.; LIMA, L.C.P.; OLIVEIRA, M.L.A.A.; FLORES, A.S.; TORKE, B.M.; PINTO, R.B.; LEWIS, G.P.; BARROS, M.J.F.; SCHÜTZ, R.; PENNINGTON, T.; KLITGAARD, B.B.; RANDO, J.G.; SCALON, V.R.; CARDOSO, D.B.O.S.; COSTA, L.C. DA; SILVA, M.J. DA; MOURA, T.M.; BARROS, L.A.V. DE; SILVA, M.C.R.; QUEIROZ, R.T.; SARTORI, A.L.B.; CAMARGO, R. A.; LIMA, I.B.; COSTA, J.; SOARES, M.V.B.; SNAK, C.; SÃO-MATEUS, W.; FALCÃO, M. J.; MARTINS, M.V.; REIS, I.P.; CORDULA, E.; MONTEIRO, V. 2016. **Fabaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 18 Jan. de 2016.

LIMA, K.D.R. **Avaliação de espécies arbóreas e técnicas de plantio para recuperação de áreas degradadas por exploração de piçarra na caatinga, RN**. 2012. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró. 2012.

LIMA, K.D.R.; CHAER, G.M.; ROWS, J.R.C.; MENDONÇA, V.; RESENDE, A.S. Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 1, p. 203 – 213, jan./mar. 2015.

LIMA, M.M.; SANTOS, L.A.; NOGUEIRA, E.M.S.; MOURA, F.B.P. Sobrevivência inicial de seis espécies usadas na recuperação de uma área degradada na caatinga. **Revista Ouricuri**, Paulo Afonso, v. 5, n. 2, p.132-137, 2015.

LINS, C.E.L.; MAIA, L.C.; CAVALCANTE, U.M.T.; SAMPAIO, E.V.S.B. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Leucaena leucocephala* (LAM.) de Wit. em solos de Caatinga sob impacto de mineração de cobre. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.2, p.355-363, 2007.

LIRA, R.B.; DIAS, N.D.; ALVES, S.M.C.; BRITO, R.F. e SOUZA NETO, O.S. Efeitos dos sistemas agrícolas de cultivos e manejo da Caatinga através da análise dos indicadores químicos de qualidade do solo na produção agrícola em Apodi-RN. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.3, p.18-24, 2012.

LOBO JUNIOR, M.; SOUZA, J.N.G.; SANTOS, A.B. **Processos biológicos e densidade de microrganismos em solo de várzea Tropical cultivado com forrageiras para implantação do arroz no sistema plantio direto**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa. 2004. (Comunicado Técnico, nº89).

LPWG- The Legume Phylogeny Working Group. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v.66, p.44-77, 2017.

MACEDO, M.O.; RESENDE, A.S.; GARCIA, P.C.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S.; CAMPELLO, E.F.C.; FRANCO, A.A. Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. **Forest Ecology and Management** 255, p. 1516–1524. 2008.

MACHADO, R.L.; RESENDE, A.S.; PITARD, R.M.; FARIA, S.M. **Obtenção e seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas florestais com potencial de uso em áreas degradadas (aproximação de 2005)**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia, 2004. 7p. (EMBRAPA – CNPAB. Documentos, 70).

MAIA, L.C., YANO-MELO, A.M., GOTO, B.T. Filo Glomeromycota. Cap. VI. pp. 109-126. In: Gusmão, L.F.P., Maia, L.C. (Eds.) **Diversidade e caracterização dos fundos do semi-árido**. Série Instituto milênio do semi-árido, Vol. II. Recife, Associação Plantas do Nordeste – APNE e MCT, 2006.

MARTINS, C.M.; LOUREIRO, M.F.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A.A. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio de isolados de nódulos de raiz e caule de *Discolobium* spp.. **Agricultura Tropical**, v.5, p. 67-79, 2001.

MARTINS, P.G.S.; JUNIOR, M.A.L.; FRACETTO, G.G.M.; SILVA, M.L.R.B.; VINCENTIN, R.P.; LYRA, M.C.C.P. *Mimosa caesalpiniiifolia* rhizobial isolates from different origins of the Brazilian Northeast. **Archives of Microbiology**, v.197, p. 459-469, 2015.

MEDEIROS, A.S. **Comunidades micorrízicas em tratamentos de restauração ecológica da Caatinga**. 2016. 25f. Monografia (Graduação em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2016.

MELLONI, R.; SIQUEIRA, J.O.; MORREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.38, p. 267- 276, 2003.

MELO, A.H.; SANTOS, E.R.; NUNES, J.S.; KNOECHELMANN, C.M.; BEZERRA, J.; MICHELOTTI, F. Produção de mudas de espécies arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos para atuar na reabilitação de áreas impactadas pela extração de argila. **Agroecossistemas**, v. 3, n. 1, p. 78-82, 2011.

MELLONI, R.; SIQUEIRA, J.O.; MORREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.267-276, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (BRASIL). **Programa ABC**. 2011. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Desenvolvimento\\_Sustentavel/Abc/2.pf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Abc/2.pf)>. Acesso em: 11 jun. 2016.

MENDES FILHO, P.F. **Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através da revegetação e do manejo microbiano**. 2004. 89p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba. 2004.

MENDONÇA, M.A.F. **Crescimento de plantas jovens de leguminosas arbóreas em resposta à adubação nitrogenada e inoculação de rizóbios em argissolo vermelho amarelo e latossolo amarelo na Amazônia central**. 2012. 83f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2012.

MENDES, M.M.C. **Crescimento de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) em resposta à inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares**. 2010. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

MENGE, J.A.; STREIRLE, D.; BAGYARAJ, D.J.; JONHSON, E.L.V.; LEORNARD, R.T. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. **New Phytologist**, Oxford, v.80, p.75-80, 1978.

MERGULHÃO, A.C.E.S.; SILVA, M.L.R.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P. Influência da dupla inoculação rizóbio e fungos micorrizas arbusculares em plantas de sabiá sob solos de diferentes texturas. **Revista Ecosistema**. v.26, n.1, 2001.

MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE, 2008. **Levantamento da cobertura vegetal e do uso do solo do Bioma Caatinga**. Relatório final. 19p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=72&idMenu=3813&idConteudo=5976> Acesso em: 31 de jul. de 2016.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Caatinga**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>>. Acesso em: 20 de jul. de 2016.

MOHAMMAD, M.J., HAMAD, S.R., MALKAWI, H.I. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semiarid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. **Journal of Arid Environments**. v.53, p.409-417, 2003.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002. 625 p.

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

NASCIMENTO, L.R.S.; SOUSA, C.A.; SANTOS, C.E.R.S.; FREITAS, A.D.S.; VIEIRA, I.M.M.B.; SAMPAIO, E.V.S.B. Eficiência de isolados de rizóbios nativos do agreste paraibano em caupi. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 36-42, 2010.

NAZOLINE, S.M. **Avaliação da produção de biomassa vegetal e grãos por cultivares de feijão-caupi**. 2012. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2011.

NETO, O.N.S. **Análise multivariada dos atributos físicos e químicos de um cambissolo cultivado sob práticas de manejo sustentável da Caatinga**. 2013. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró. 2013.

NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 334 p.

OLIVEIRA-GALVÃO, A.L.C. DE; SAITO, H.C. **A modelagem de dados temáticos geoespacializados na identificação dos diferentes níveis de susceptibilidade à desertificação da região semiárida do nordeste brasileiro**. XI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, INPE, Belo Horizonte, p.1399-1406, 2003.

OLIVEIRA, D.E.C.; SILVA, A.V.; ALMEIDA, A.F.; SIA, E.F.; JUNIOR, O.R. Fungos micorrízicos arbusculares e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* Willd. em solo de mineração da região sudoeste do estado de Goiás. **Global Science and Technology**, v.3, n.1, p.01 – 10, 2010.

OLIVEIRA, D.E.C.; SILVA, A.V.; ALMEIDA, A.F.; SIA, E.F.; JUNIOR, O.R. Resposta da inoculação de fungos micorrízicos e rizóbio no crescimento inicial de *Acacia mangium* em solo de mineração no estado de Goiás. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.19, n.3, 2011.

PASSOS, M.A.; TAVARES, K.M.P.; ALVES, A.R. Germinação de sementes de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.). **Rev. Bras. Ciênc. Agrár.** Recife, v. 2, n. 1, p.51-56, 2007.

PATTISON, G.S.; HAMMILL, K.A.; SUTTON, B.G. Growth and survival of seedlings of native plants in na impoverished and highly disturbed soil following inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v.14, p.339-346, 2004.

PEREIRA, A.M.; ALMEIDA, M.I.S. de. Degradação ambiental e desertificação no semiárido mineiro: um estudo sobre o município de espinhosa (MG). **Revista Geográfica de América Central**, Costa Rica, v. 2, n. 47, p.1-16, 2011.

PEREIRA, S.V., MARTINEZ, C.R., PORTO, E.R., OLIVEIRA, B.R.B., MAIA, L.C. Atividade microbiana em solo do Semi-Árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.757-762, 2004.

PETROBRAS, 2010. Disponível em: <<http://www.petrobras.com.br/pt/noticias/producao-de-petroleo-e-gas-no-brasil-e-no-exterior-sobe-3-3/>> Acesso em 25 de junho de 2012.

PRADO, D.E. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2003. p. 3-73.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, A.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, n. 55, p. 158-161, 1970.

PONTES, M.M.C.M.; NETO, T.T.P.; CHAVES, L.F.C.; ALBUQUERQUE, S.F.; OLIVEIRA, J.P.; FIGUEIREDO, M.V.B. Dupla inoculação  $\beta$ -rizóbio e micorriza em sabiazeiro visando à recuperação de áreas degradadas. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v.17, n. único, p. 37-45, 2012.

POYÚ-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J.O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.103-114, 2000.

QUEIROZ, L.P. The Brazilian caatinga: Phytogeographical patterns inferred from distribution data of the Leguminosae. In: PENNINGTON, R.T.; LEWIS, G.P.; RATTER, J.A. (Eds.). **Neotropical savannas and dry forests: plant diversity, biogeography, and conservation**. Oxford: Taylor & Francis CRC Press, 2006. p. 113-149.

QUEIROZ, L.P. Flowering plants of the Brazilian semi-arid. In: QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (Eds.). **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. 2006a. p. 49-53.

QUEIROZ, L.P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: UEFS, 2009. 467 p.

RAMAN, N.; NAGARAJAN, N.; GOPINATHAN, S.; SANBANDAN, K. Mycorrhizal status of plant species colonizing a magnesite mine spoil in India. **Biology and Fertility of Soils**, v.16, p.76-78, 1993.

REIS, V.M.; TEIXEIRA, K.R.S. Fixação Biológica de Nitrogênio – Estado da Arte. In: AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. (Eds.). **Processos Biológicos no Sistema Solo- Planta**. 1 ed., Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v.1, p. 151-180.

RESENDE, A.S., XAVIER, R.P., QUESADA, D.M., URQUIAGA, S.; ALVES, B.J. R.; BODDEY, R.M. Use of Green manures in Increase inputs of Biological nitrogen fixation to sugar cane. **Biology and Fertility of Soils**, Estados Unidos, v. 37, p. 215-220, 2003.

RESENDE, A.S.; FRANCO, A.A.; MACEDO, M.O., CAMPELLO, E.F.C. Leguminosas associadas a microrganismos como estratégia de recuperação de áreas degradadas. In: MANSUR, R.J.; NOGUEIRA, C.; ARAÚJO, E.de.E.; WILLADINO, L.G.; CAVALCANTE, U.M.T (Org.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, Recife: MXM Gráfica e Editora, 2005. p.475-489.

RESENDE, A.S.; URQUIAGA, S.S.C.; BODDEY, R.M.; XAVIER, R.P.; QUESADA, D.M.; SANTOS, A.O.; GONDIM, A.; ALVES, B.J.R. Efeito da queima da palhada da cana-de-açúcar e de aplicações de vinhaça e adubo nitrogenado em características tecnológicas da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.937-941, 2006.

RESENDE, A.S.; CHAER, G.M.; CAMPELLO, E.F.C.; DE FARIA, S.M. **Use of nitrogen-fixing legume trees to revegetate degraded lands**. In: Microbial Ecology of Tropical Soils. (Eds.) A.S.F. Araújo and M.V.B. Figueiredo. Nova Publishers, Nova York. 2010.

RESENDE, A.S.; CHAER, G.M. **Manual para recuperação de áreas degradadas por extração de piçarra na Caatinga**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. 78p.

RESENDE, A.S.; CHAER, G.M.; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, A.P.; LIMA, K.D.R.; CURCIO, G.R. Uso de leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas. **Tópicos em Ciências do Solo**, Viçosa: SBCS, 2013, v. 8, p. 71-92.

RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Tansley review – mycorrhizas and soil structure. **New Phytol**, v.171, p. 41-53, 2006.

RIVERA, D.; JÁUREGUI, B.M.; PECO, B. The fate of herbaceous seeds during topsoil stockpiling: Restoration potential of seed banks. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 44, p. 94-101, 2012.

RODRIGUES, L.A.; BARROSO, D.G.; MARTINS, M.A.; MENDONÇA, A.V.R. Revegetação de áreas degradadas pela extração de argila no Norte do estado do Rio de Janeiro. **Revista Perspectivas**, Brasília, v. 5, p. 88-105, 2006.

ROSA, C.M.; CASTILHOS, R.M.V.; VAHL, L.C.; CASTILHOS, D.D.; PINTO, L.F.S.; OLIVEIRA, E.S.; LEAL, O.A. Efeito de substâncias húmicas na cinética de absorção de potássio, crescimento de plantas e concentração de nutrientes em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.4, p. 959-967, 2009.

RUIZ, H.A. Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte + argila). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p. 297-300, 2005.

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

SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P.; NEVES, M.C.P.; RUNJANEK, N.G.; BORGES, W.L.; BEZERRA, R.V.; FREITAS, A.D.S. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.4, p. 249-256, 2007.

SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento inicial de espécies nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p. 141-150, 2008.

SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SILVA, E.M.R. Micorriza arbuscular - Papel, Funcionamento e Aplicação da Simbiose. In: AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. (Eds.). **Processos Biológicos no Sistema Solo- Planta**. 1 ed., Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v.1, p. 101-150.

SALCEDO, I.H. Biogeoquímica do fósforo em solos da região semi-árida do NE do Brasil. **Revista de Geografia**, Recife, v. 23, n. 3, 2006.

SCHENCK, N.C.; PEREZ, Y. **A manual for identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi**. 2 ed. Gainesville: University of Florida, 1988. 241 p.

SCHIAVO, J.A. **Revegetação de áreas degradadas pela extração de argila, com espécies micorrizadas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis***. 2005. 117 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes. 2005.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, p. 1413 – 1421, 2001.

SHRESTHA, R.K., LAL, R., Changes in physical and chemical properties of soil after surface mining and reclamation. **Geoderma**, Amsterdam, v. 161, n. 3-4, p. 168–176, 2011.

SILVA, G.A.; MAIA, L.C.; SILVA, F.S.B.; LIMA, P.C.F. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v.24, n.2, p.135-143, 2001.

SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M.T.; FONSECA, E.; LINS, L. **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, DF, 2003.

SILVA, G.A., TRUFEM S.F.B., SAGGIN JÚNIOR, O.S., MAIA, L.C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. **Mycorrhiza**, v.15, p. 47-53, 2005.

SILVA, A.F. **Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas nativas de áreas com diferentes tempos de regeneração da Caatinga**. 2015. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

SOLIVERES, S.; MONERRIS, J.; CORTINA, J. Irrigation, organic fertilization and species successional stage modulate the response of woody seed-lings to herbaceous competition in a semi-arid quarry restoration. **Applied Vegetation Science**. Chapel Hill, v. 15, n. 2, p. 175–186. 2012.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. **Methods in legume-*Rhizobium* technology**. Hawaii: Niftal, 1985. p.54-63.

SOUSA, P.M. **Potencial de uso da inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio: alternativa para aumentar a produtividade do feijão-caupi na agricultura familiar de Confresa, Mato Grosso**. 2007. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SOUZA, F.A. de; SILVA, E.M.R. Micorrizas arbusculares na recuperação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. In: SIQUEIRA, J.O. **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade de Lavras/DCS e DCF, 1996. 290 p; p. 252-280.

SOUZA, A.O. **Nodulação cruzada por rizóbios isolados de Caatinga e Cerrados em espécies de Papilionoideae (Leguminosae) agrupadas pela composição de flavonóides**. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

SOUZA, R.G., MAIA, L.C., SALES, M.F., TRUFEM, S.F.B. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.1, p.49-60, 2003.

SOUZA, B.; SILANS, A.M.B.P.; SANTOS, J.B. Contribuição ao estudo da desertificação na Bacia do Taperoá. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2/3, p. 292- 298, 2004.

SOUZA, R.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 432 p., 2006.

STAMFORD, N.P., MEDEIROS, R., MESQUITA, J.C.P. Avaliação de estirpes de rizóbio para jacatupé em regime de temperatura elevada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.19. p.49-54, 1995.

STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S.; MEDEIROS, R.; FREITAS, A.D.S. Efeito da fertilização com fósforo, potássio e magnésio em jacatupé infectado com rizóbios em um latossolo álico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, p. 1831-1838, 1999.

STURMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Brazilian Ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Eds.). **Soil Biodiversity in Amazonian and Other Brazilian Ecosystems**. London: CABI Publishing, London, 2005, 280p.

TAVARES, S.R.L.; FRANCO, A.A.; SILVA, E.M.R. Produção de mudas de sabiá *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. noduladas e micorrizadas em diferentes substrates. **Holos**, v.7, p.231-241, 2016.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. **Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales en América Latina y el Caribe**. Porto Alegre: Ed. Gênese. 110p. v. 29, p. 897-903, 2000.

UCHÔAS, E.S. **Obtenção de estirpes de rizóbio de alta eficiência na fixação biológica de N<sub>2</sub> para espécies leguminosas com potencial de uso na recuperação de áreas degradadas**. 2007. 32f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2007.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A.; BAKKER, R.; VERWAAL, J.; SCHEUBLIN, T.R.; RUTTEN, M.; VAN LOGTESTIJN, R.; STAEHELIN, C. Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity um dune grassland. **FEMS Microbiological Ecology**, v.56, p. 178-187, 2006.

VIEIRA, M.G.; FURTADO, E.F.; SOUZA, G.; MACEDO, M.J.; NOGUEIRA, R.; BOTO, S.S.; FURMAN, Y.C. Política sócio-econômica. Os principais minerais encontrados no estado de Roraima. **Revista Norte Científico**, v.2, n.1, dezembro de 2007.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. 119 p. (IBP Handbook, 15).



YING CHU, E. Sistema de produção de pimenteira-do-reino. In: **Sistemas de produção 01**. Versão online. Amazônia: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/micorrizas.htm>>. Acesso em: 20 de jun. de 2016.