



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS  
NATURAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE RIZÓBIOS DE SOLO RIZOSFÉRICO  
DE LEGUMINOSAS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO CEARENSE**

**Fortaleza-Ceará  
Agosto  
2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CARLOS GERMANO FERREIRA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE RIZÓBIOS DE SOLO RIZOSFÉRICO  
DE LEGUMINOSAS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO CEARENSE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a conclusão do curso de Mestrado.

**Área de concentração:** Ecologia e Recursos Naturais

**Orientadora:** Claudia Miranda Martins

**Coorientadora:** Francisca Soares de Araújo

**Fortaleza-Ceará  
Agosto  
2010**

C871c Costa, Carlos Germano Ferreira  
Caracterização fenotípica de rizóbios de solo rizosférico de leguminosas  
nativas do semi-árido cearense / Carlos Germano Ferreira Costa, 2010.  
150 f. ; il. color. enc.

Orientador: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins  
Co-orientadora: Profa. Dra. Francisca Soares de Araújo  
Área de concentração: Ecologia  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de  
Ciências, Depto. de Biologia, 2010.

1. Nitrogênio-fixação 2. Rizóbio 3. Simbiose I. Martins, Claudia Miranda  
(orient.). II. Araújo, Francisca Soares III. Universidade Federal do Ceará –  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais IV. Título.

CDD 577

CARLOS GERMANO FERREIRA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE RIZÓBIOS DE SOLO RIZOSFÉRICO  
DE LEGUMINOSAS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO CEARENSE**

Aprovada em 29/06/2010

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª Drª. Claudia Miranda Martins (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Drª. Maria Elizabeth Fernandes Correia  
Embrapa Agrobiologia-CNPAB

---

Profª Drª. Maria Iracema Bezerra Loiola  
Universidade Federal do Ceará

“O sucesso é  
ir de fracasso em fracasso  
sem perder o entusiasmo.”

Winston Churchill

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus,  
aos meus pais Carlos José da Silveira Costa e  
Maria de Fátima Ferreira Costa,  
e à minha orientadora Claudia Miranda Martins.*

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, que sempre me abriu janelas quando as portas se fechavam e por colocar no meu caminho pessoas especiais, mesmo as mais difíceis de conviver;

À Universidade Federal do Ceará (UFC), ao Programa de Pós-graduação em Ciência Ecologia e Recursos Naturais pela oportunidade de realização do curso de mestrado, e seu corpo de professores, e a FUNCAP pelo apoio financeiro, à Associação Caatinga pelo apoio na RPPN da Serra das Almas.

Aos meus estimados pais Carlos José da Silveira Costa e Maria de Fátima Ferreira Costa, pelos magníficos conselhos e apoio em meus projetos de vida;

À Amiga, Professora e Orientadora, Prof<sup>o</sup>. Dra Claudia Miranda Martins, pela orientação decidida, pelos conselhos, nas horas certas, pelas críticas e pelo carinho;

Em especial á Prof<sup>a</sup>. Dra Tchesca pela coorientação e apoio em todos os momentos e por todo aprendizado de vida;

Ao professor Dr. Tiago Osório Ferreira e ao Mestre Antônio Maia Neto pela realização das análises de solo e a todas as pessoas que fizeram esse trabalho acontecer;

Á Prof<sup>a</sup>. Dra Arlete e à Prof<sup>a</sup>. Dra Cândida;

Às minhas amigas do Laboratório de Microbiologia do Solo: Márcia Valéria Lacerda Soares (Psico), Rosy arcanjo, a patinha (Patrícia), Jéssica, Liliane, Ana Laura (Lalá) Tibério, Rakel;

Aos funcionários do Departamento de Biologia, principalmente o Valdenor pela atenção e ajuda indispensável;

Em especial à minha grande e estimada amiga Calanguinha (vulgo – “DOUTORA” Jussiara Candeira Espíndola Linhares) por estar comigo em todos os momentos, e ajudar sempre que possível em tudo, e me emprestar os livros e, eu nunca devolve-los;

A todos que direta ou indiretamente, tenham contribuído para realização deste trabalho, principalmente Luciana Medeiros Daniele e Thiago Daniele;

“Foi o tempo que  
perdeste com a tua rosa,  
que fez a tua rosa tão importante.”

*Antoine Saint Exupéry*



*“Obrigado Senhor!  
Por me encontrar  
Nesse momento, mais forte ainda  
Do que quando comecei”*

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Local de coleta dos nódulos durante o fim do período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús, Ce.	24
<b>Figura 2.</b> Serrapilheira acumulada durante o período de estiagem na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús-Ce.	24
<b>Figura 3.</b> Nódulo (seta vermelha) em raiz de sabiá ( <i>Mimosa caesalpinifolia</i> ) - Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas	25
<b>Figura 4.</b> Percentual do tempo de crescimento de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre 01 e 02 dias.	40
<b>Figura 5.</b> Percentual de colônias neutralizantes do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre estações seca e chuvosa.	42
<b>Figura 6.</b> Percentual de colônias acidificantes do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre estações seca e chuvosa.	42
<b>Figura 7.</b> Percentual de colônias de coloração amarela do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre estações seca e chuvosa.	45
<b>Figura 8.</b> Percentual de colônias com diâmetro puntiformes obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre estações seca e chuvosa.	46
<b>Figura 9.</b> Percentual de colônias com bordas inteiras obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre estações seca e chuvosa.	47
<b>Figura 10.</b> Percentual de colônias com tipo de elevação do muco plano e elevado obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.	48
<b>Figura 11.</b> Percentual de colônias com tipo de elevação do muco plano e elevado obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação chuvosa.	48
<b>Figura 12.</b> Percentual de colônias com formação de muco obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação chuvosa.	49
<b>Figura 13:</b> Percentual de colônias com formação de muco obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.	50
<b>Figura 14.</b> Percentual de colônias com formação de muco, com pouca ou sem elasticidade, obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.	51

<b>Figura 15.</b> Percentual de colônias com formação de muco, com pouca ou sem elasticidade, obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas na estação chuvosa.	51
<b>Figura 16.</b> Índices de Riqueza total de espécies, de Shannon-Weaver e índice de equitabilidade de Pielou comparativamente entre estação seca e chuvosa.	53
<b>Figura 17.</b> Valores do índice de riqueza total para plantas isca durante estação chuvosa e seca.	55
<b>Figura 18.</b> Valores do índice de Shannon para plantas isca durante estação chuvosa e seca.	55
<b>Figura 19:</b> Valores do índice de equitabilidade de Pielou para plantas-isca durante a estação chuvosa e seca.	56
<b>Figura 20.</b> Panorama geral dos dendrogramas de similaridade gerados – coleção completa com base nos grupos culturais de rizóbio associados a quatro espécies de leguminosas e capturados de amostras de solos coletados respectivamente em período chuvoso e de seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús-Ceará.	59
<b>Figura 21.</b> Dendrograma de similaridade hospedeira com base nos grupos culturais de rizóbio associados a quatro espécies de leguminosas e capturados de amostras de solos coletados respectivamente em período das chuvas e da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús,Ceará.	59
<b>Figura 22.</b> Distribuição dos isolados de feijão-guandu resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.	65
<b>Figura 23:</b> Distribuição dos isolados de feijão-caupi resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.	66
<b>Figura 24:</b> Distribuição dos isolados de Siratro resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.	66
<b>Figura 25:</b> Distribuição dos isolados de Mimosa resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.	67
<b>Figura 26:</b> Distribuição dos isolados resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.	67
<b>Figura 27:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-guandu na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.	68
<b>Figura 28:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-guandu na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.	69
<b>Figura 29:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-guandu na estação seca e a taxa de sobrevivência à temperatura máxima de 45° C.	69

<b>Figura 30:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-guandu na estação chuvosa e a taxa de sobrevivência à temperatura máxima de 45° C.	70
<b>Figura 31:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de mimosa na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.	70
<b>Figura 32:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de mimosa na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.	70
<b>Figura 33.</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de mimosa na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.	71
<b>Figura 34.</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de mimosa na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.	71
<b>Figura 35:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de siratro na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.	72
<b>Figura 36:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de siratro na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.	72
<b>Figura 37:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de siratro na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.	72
<b>Figura 38:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de siratro na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima avaliada – 45° C.	73
<b>Figura 39:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-caupi na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.	74
<b>Figura 40:</b> Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-caupi na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.	74
<b>Figura 41:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-caupi na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.	75
<b>Figura 42:</b> Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-caupi na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.	75
<b>Figura 43:</b> Comparação percentual do tempo de crescimento de isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.	76
<b>Figura 44:</b> Comparação percentual da quantidade de mucoproduzida pelos isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.	76

<b>Figura 45:</b> Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para feijão-guandu nas estações seca e chuvosa.	78
<b>Figura 46:</b> Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para feijão-caupi nas estações seca e chuvosa.	78
<b>Figura 47:</b> Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para mimosa nas estações seca e chuvosa.	80
<b>Figura 48:</b> Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para siratro nas estações seca e chuvosa.	80
<b>Figura 49:</b> Comparação percentual da tolerância a níveis crescentes de salinidade de isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.	81
<b>Figura 63.</b> Dendrograma de similaridade gerados para Feijão-caupi de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas. Crateús,Ceará.	125
<b>Figura 64.</b> Dendrograma de similaridade gerados para Feijão-caupi de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas. Crateús,Ceará.	126
<b>Figura 65.</b> Dendrograma de similaridade gerados para Feijão guandu de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas. Crateús,Ceará.	127
<b>Figura 66:</b> Dendrograma de similaridade gerados para Feijão guandu de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca	128
<b>Figura 67.</b> Dendrograma de similaridade gerados para mimosa de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas. Crateús,Ceará.	129
<b>Figura 68.</b> Dendrograma de similaridade gerados para mimosa de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas. Crateús,Ceará.	130
<b>Figura 69.</b> Dendrograma de similaridade gerados para siratro de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas.Crateús,Ceará.	131
<b>Figura 70.</b> Dendrograma de similaridade gerados para siratro de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas. Crateús,Ceará.	132

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Características culturais dos gêneros de rizóbios em meio de cultura 79.	13
<b>Tabela 2:</b> Valores relativos às características culturais dos isolados utilizados na construção do dendrograma de similaridade.	30
<b>Tabela 3.</b> Observação da formação de nódulos em plantas-isca a partir de solo rizosférico e nódulos coletados de espécies leguminosas nativas de acordo com a estação na RPPN da Serra das Almas.	34
<b>Tabela 4.</b> Análise de solo rizosférico dos pontos de coleta na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús-Ce.	43
<b>Tabela 5.</b> Índices de diversidade de Shannon-Weaver, riqueza total e Pielou de isolados de nódulos das plantas-isca feijão-caupi; feijão guandu; siratro e mimosa cultivadas em solos rizosférico da Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra das Almas em Crateús-CE.	54
<b>Tabela 6.</b> Grupos culturais gerados a partir das características culturais tempo de crescimento, pH no meio de cultivo, tamanho e cor da colônia e quantidade de muco, de isolados de rizóbio de siratro ( <i>Macropitillium atropurpureum</i> ), feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ), feijão-guandu ( <i>Cajanus cajan</i> ) e mimosa ( <i>Mimosa pudica</i> ). Considerando o período chuvoso e o de estiagem no solo.	61
<b>Tabela 7.</b> Características culturais de rizóbios isolados de feijão-caupi.	102
<b>Tabela 8.</b> Características culturais de rizóbios isolados de feijão guandu.	102
<b>Tabela 9.</b> Características culturais de rizóbios isolados de siratro.	103
<b>Tabela 10.</b> Características culturais de rizóbios isolados de mimosa.	103
<b>Tabela 11.</b> Percentual de tolerância dos isolados das plantas-isca estudadas em relação à variação de temperatura.	103
<b>Tabela 12.</b> Percentual da velocidade de crescimento dos isolados das plantas-isca avaliadas.	104
<b>Tabela 13.</b> Percentual da quantidade de muco produzido pelos isolados das plantas-isca avaliadas.	104
<b>Tabela 14.</b> Percentual de tolerância á elevação da concentração de NaCl pelos isolados das plantas-isca avaliadas.	104
<b>Tabela 15.</b> Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de seus isolados, indicando o comportamento dos mesmos sob as diferentes variações de temperatura.	105
<b>Tabela 16.</b> Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de tempo de crescimento e quantidade de muco, indicando a sobrevivência dos mesmos à temperatura de 45° C.	108

<b>Tabela 17.</b> Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de seus isolados, indicando o comportamento dos mesmos sob as diferentes variações de salinidade.	111
<b>Tabela 18.</b> Espécies de leguminosa nativas e codificação de solo coletado.	114
<b>Tabela 19.</b> Isolados representativos identificados de acordo com as plantas nativas e isolados, com as características culturais de tempo de crescimento e quantidade de muco, indicando a sobrevivência dos mesmos á temperatura de 45° C.	115
<b>Tabela 20.</b> Isolados representativos identificados de acordo com as plantas nativas, isolados das plantas-isca e grupos culturais utilizados para análise genética.	120
<b>Tabela 21.</b> Níveis de fertilidade para interpretação de resultados de análise do solo utilizados pelos laboratórios do Estado do Ceará.	124

## SUMÁRIO

**RESUMO.**

**ABSTRACT.**

<b>1.INTRODUÇÃO.</b>	<b>1</b>
<b>2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.</b>	<b>5</b>
2.1.Caatinga.	5
2.2.Leguminosas e a fixação biológica de nitrogênio.	7
2.3. Rizóbios.	10
2.4. Taxonomia de rizóbios.	12
2.5. Plantas nativas na formação do nódulo.	13
2.6. O uso da simbiose entre rizóbios e leguminosas em solos de regiões áridas.	16
2.7. Planta-isca na formação do nódulo.	18
<b>3.JUSTIFICATIVA</b>	<b>20</b>
3.1. Hipóteses	21
3.2. Objetivos	22
3.2.1. Objetivo geral.	22
3.2.2. Obejetivos especificos.	22
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>22</b>
4.1 Área de estudo.	22
4.2. Coleta de solo rizosférico e nódulos no campo.	23
4.3. Cultivo de plantas-isca	25
4.4. Caracterização cultural de estirpes de rizóbio.	26
4.5. Seleção de rizóbios tolerantes à salinidade e a altas temperaturas.	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
5.1.Diversidade cultural de rizóbios	32
5.1.1 Correlação entre plantas nativas e plantas-isca na formação do nódulo.	32
5.1.2 Isolamento cultural de estirpes de rizóbio.	38
5.2.Caracterização cultural de estirpes de rizóbio	39
<b>6. ÍNDICES DE DIVERSIDADE</b>	<b>52</b>
<b>7. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS FENOTÍPICOS</b>	<b>58</b>
7.1. Dendrogramas de similaridade gerados com caracteríficas selecionadas por espécie hospedeira e estação.	58
7.2. Grupos fenotípicos dos isolados.	60
<b>8. AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA A ESTRESSES AMBIENTAIS</b>	<b>61</b>



8.1 Avaliação da tolerância de rizóbios a níveis crescentes de temperatura	61
8.2. Avaliação da tolerância de rizóbios a níveis crescentes de salinidade.	77
<b>9. CONCLUSÕES</b>	<b>83</b>
<b>10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>84</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>102</b>

## RESUMO

Os diferentes solos e manejos culturais afetam o equilíbrio entre solo e organismos endógenos, os quais, por sua vez afetam a sustentabilidade do solo. Desse modo acredita-se que a diversidade dos organismos do solo tenha uma relação estreita com a diversidade de outros organismos, tanto na superfície, quanto no próprio solo e que as interações dessa diversidade microbiana possam levar a uma alteração de função reduzindo ou ampliando a sustentabilidade dos ecossistemas. Interações mutualísticas são muito comuns na natureza e desempenham importante papel em muitos processos de diversos ecossistemas. Desse modo, a identificação dos padrões da estrutura espacial e abundância de microrganismos é um elemento importante e, necessário para identificar esse processo. Associações mutualísticas entre plantas e organismos do solo são essenciais para a sobrevivência e crescimento das plantas na maioria dos ecossistemas terrestres. Assim, o uso combinado de leguminosas e microrganismos na reabilitação de solos deteriorados é um processo efetivo na reestabilização dos ciclos de nutrientes nesse sistema, pois a estrutura alimentar do solo pode afetar o desenvolvimento da vegetação. O mutualismo entre rizóbios e leguminosas é possível de manipulação experimental. Diferente de alguns mutualistas, rizóbios podem crescer e ser cultivados em meios seletivos. Além disso, seu comportamento mutualista dentro dos nódulos pode ser manipulado e monitorado de modo não invasivo. objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de estirpes nativas de rizóbio e a relação com algumas espécies de leguminosas arbóreas nativas ocorrentes na Reserva Particular do Patrimônio Natural\_ (RPPN) Serra das Almas (05° 00' a 05° 20' S e 40° 48 a 41° 12' W) no estado do Ceará (Brasil), em uma área de caatinga no município de Crateús-Ce, dista 390 Km de Fortaleza, entre cotas de 300 a 350 m de altitude, e que caracteriza-se por apresentar clima semi árido e pluviosidade média de 881 mm anuais distribuída de Janeiro a Abril. Foram identificadas oito espécies de leguminosas arbóreas, que apresentaram associações com rizóbios: *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Altschu (Angico), *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Stend (Mororó), *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Catingueira), *Erythrina velutina* Willd. (Mulungu), *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Sabiá), *Minosa acustistipula* (Mart.) Benth (Jurema-branca), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Jurema-preta), *Amburana Cearensis* (Allemão) A.C. Smith (Emburana). Foram coletados nódulos e solo rizosférico para a identificação de bactérias diazotróficas, em dois períodos, na estação chuvosa e na seca. Foi realizado o cultivo destes rizóbios nas plantas-isca, *Macropitillium atropurpureum* (DC) Urban, *Vigna unguiculata* (L., Walp.), *Cajanus cajan* var. *flavus* DC e *Mimosa pudica* L, bem como a caracterização cultural de estirpes de rizóbio isolados, testes de tolerância a níveis crescentes de NaCl e a altas temperaturas. Verificou-se que 92,42% dos isolados apresentaram crescimento rápido e 52,24% acidificaram o meio 79. Um total de 84,93% isolados possuem tolerância a altas temperaturas (45° C), e 90,75% isolados apresentaram tolerância às concentrações salinas a 5%. Os resultados obtidos demonstraram que há relação entre a tolerância à salinidade e à temperatura quando avaliado *in vitro* para os isolados testados.

**Palavras-chave:** fixação biológica de nitrogênio, simbiose *Rhizobium*-Leguminosas, tolerância a estresses ambientais, diversidade de rizóbios.

## ABSTRACT

Different cultural soil managements affect the balance between soil and endogenous organisms, which in turn affect the sustainability of the soil. Thus it is believed that the diversity of soil organisms has close links with the diversity of other organisms, both on the surface and in the soil itself, and the interactions of microbial diversity may lead to a change of function reducing or enlarging the sustainability of ecosystems. Mutualistic interactions are very common in nature and play an important role in many processes of various ecosystems. Thus, the identification of patterns of spatial structure and abundance of microorganisms is an important and necessary to identify this process. Mutualistic associations between plants and soil organisms are essential for survival and growth of plants in most terrestrial ecosystems. Thus, the combined use of legumes and microorganisms in the rehabilitation of degraded soils is an effective process in restabilising of the nutrient cycles in this system, because the food structure of the soil can affect the development of vegetation. Mutualism between legumes and rhizobia is possible to experimental manipulation. Unlike some mutual, rhizobia grow and can be grown on selective medium. Moreover, their mutual behavior within the nodules can be manipulated and monitored in a non-invasive way. The objective of this work was to evaluate the diversity of native rhizobia strains and the relationship with some species of native woody legumes occurring in Private Natural Heritage Reserve at Serra das Almas (05 ° 00 'to 05 ° 20' S and 40 ° 48-41 ° 12 "W) in Ceará (Brazil), in an area of caatinga in the city of Crateús-Ce, lies 390 km from Fortaleza, quotas between 300-350 m altitude, characterized by semi-arid climate and average rainfall of 881 mm per year distributed from January to April. It was identified eight species of leguminous trees, which showed associations with rhizobia: *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Altschu (Angico), *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Stend (Mororó), *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Catingueira), *Erythrina velutina* Willd. (Mulungu), *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (Sabiá), *Minosa acustistipula* (Mart.) Benth (Jurema-branca), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Jurema-preta), *Amburana Cearensis* (Allemão) A.C. Smith (Emburana). It was collected nodules and rhizosphere soil for the identification of diazotrophs in two periods of the year, in the rainy and dry seasons. It was carried out the cultivation of these rhizobia in the bait-plants, *Macropitillium atropurpureum* (DC) Urban, *Vigna unguiculata* (L., Walp.), *Cajanus cajan* var. *flavus* DC e *Mimosa pudica* L, As well as cultural characteristics cultural characterization of strains of rhizobia isolated, tolerance tests at increasing levels of NaCl and temperature. It was found that 92.42% isolates grew faster and 52.24% acidify 79 medium. A total of 84.93% strains showed tolerance to high temperatures (45 ° C), and 90.75% isolates showed tolerance to salt concentrations of 5%. The results showed that a relationship between tolerance to salinity and temperature when evaluated in vitro for isolates tested.

**Keywords:** biological nitrogen fixation, Rhizobium-legume symbiosis, environmental stress tolerance, diversity of rhizobia.

## 1-INTRODUÇÃO.

Na literatura há evidências que diferentes solos e manejos culturais afetam o equilíbrio entre solo e organismos endógenos, os quais, por sua vez afetam a sustentabilidade do solo (KASCHUK et al., 2006). Desse modo acredita-se que a diversidade dos organismos do solo tenha uma relação estreita com a diversidade de outros organismos, tanto na superfície, quanto no próprio solo e que as interações dessa diversidade microbiana possam levar a uma alteração de função reduzindo ou ampliando a sustentabilidade dos ecossistemas (PROSSER et al., 2007).

Interações mutualísticas são muito comuns na natureza e desempenham importante papel em muitos processos de diversos ecossistemas (AKCAY; ROUGHGARDEN, 2006). Desse modo, a identificação dos padrões da estrutura espacial e abundância de microrganismos é um elemento importante e, necessário para identificar esse processo (MCGILL; COLLINS, 2003).

Vários modelos visam explicar estas relações e interações na natureza, alguns dos mais interessantes baseiam-se na aplicação da Teoria dos Jogos, na sua vertente relativa aos jogos cooperativos, uma teoria baseada na Teoria da Barganha de 1930, que se mostra como um instrumento útil para auxiliar a compreensão das relações simbióticas na natureza.

A teoria dos jogos cooperativos defende que a interação de duas ou mais partes (indivíduos) pode gerar benefícios se estes cooperarem apesar dos interesses conflituosos na divisão destes benefícios. Assim, estes indivíduos tentam entrar em acordo antes de se unirem – o caso clássico desta teoria seriam as negociações coletivas entre empregados e firmas – A firma neste caso representa a planta individualmente, e os empregados seriam os nódulos (AKCAY; ROUGHGARDEN, 2006).

Propostas para a solução do problema da teoria das negociações são anteriores à Teoria dos Jogos (Nash 1950, 1953 – *The bargain problem*). A solução para o problema da Teoria das Negociações é única e maximiza o produto final. Esta solução é conhecida como “*Nash bargaining solution*” (NBS) (AKCAY; ROUGHGARDEN, 2006).

O mutualismo entre rizóbios e leguminosas é possível de manipulação experimental. Diferente de alguns mutualistas, rizóbios podem crescer e ser cultivados em meios seletivos. Além disso, seu comportamento mutualista dentro dos nódulos pode ser manipulado e monitorado de modo não invasivo (DENISON; KIERS, 2004).

Estudos indicam que leguminosas, são capazes de formar nódulos com ampla faixa de rizóbios, contribuindo para a atividade da “Fixação Biológica de Nitrogênio” (FBN) (SANTOS et al., 2007), uma das mais importantes reações no solo. Bactérias do grupo dos rizóbios têm a capacidade de formar nódulos em raízes e caules de leguminosas e possuem papel importante na agricultura sustentável (FREITAS et al., 2007).

Os rizóbios podem sobreviver e reproduzir no solo, mas estas bactérias são conhecidas por fixar nitrogênio através de nódulos nas raízes de plantas leguminosas (DENISON; KIERS, 2004). A simbiose entre leguminosas e bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico é amplamente aceita como alternativa à fertilização química (FREITAS et al., 2007).

A maioria dos gêneros da família das leguminosas pode nodular e fixar nitrogênio, embora haja exceções (SPRENT, 2001). Porém leguminosas selvagens (herbáceas ou arbóreas) podem ser encontradas ao redor do mundo distribuídas principalmente em regiões áridas contribuindo para a manutenção dos níveis de fertilidade nesses ambientes (ZHRAN, 2001).

Espécies de leguminosas em regiões tropicais apresentam menor especificidade em relação à rizóbios quando comparadas com espécies de leguminosas em áreas temperadas, o que pode resultar num sistema com fixação biológica de nitrogênio menos eficiente, entretanto, ainda assim, importante (DENISON; KIERS, 2004).

Especula-se que grande proporção de plantas da família *Leguminosae* seja capaz de realizar a fixação biológica de nitrogênio. Leguminosas e rizóbios trocam sinais elaborados de reconhecimento antes do processo de infecção, esses sinais talvez exerçam algum papel de proteção contra os rizóbios menos eficientes (DENISON; KIERS, 2004). Entretanto, se faz necessário mais estudos para determinar se realmente essa redução na eficiência seria uma causa relativa aos rizóbios ou se seria a simbiose nesse caso menos eficiente. De qualquer modo, acredita-se na importância dessas plantas para manutenção da fertilidade do solo na caatinga (ZHRAN, 2001; TEIXEIRA et al., 2006).

Membros das subfamílias *Papilionoideae* – que inclui os “feijões” - e *Mimosoideae* – acácias e mimosas - são descritos como capazes de promover a nodulação. Em contraste, poucos membros de *Caesalpinioideae*, são descritas como capazes de nodular (DOYLE, 1998). O processo de nodulação é, em geral, específico para as espécies, onde certos extratos de rizóbios infectam espécies particulares de leguminosas hospedeiras (COHN et al., 1998).

Entretanto, além das características de Leguminosas e rizóbios, os distúrbios que afetam as propriedades do solo são importantes desafios para a estabilidade de ecossistemas, sejam eles naturais ou não. A erosão do solo e a retirada de vegetação deterioram a qualidade química do solo e podem resultar em perdas importantes (FANG et al., 2008). É fundamentando-se no evento da fixação biológica de nitrogênio que reside a esperança para a reabilitação de imensas áreas, outrora produtivas, sem condições de permitir o restabelecimento de espécies vegetais a curto e médio prazo sem intervenção humana positiva. Desse modo, conhecer interações positivas entre microrganismos do solo e plantas é essencial para proporcionar boas condições de crescimento para as plantas, e assim restaurar solos degradados. Para a efetiva restauração do solo é necessário a reintrodução de ambos, plantas e microrganismos mutualistas (ECHEVERRÍA; FERNÁNDEZ, 2005).

Entretanto, os nódulos são estruturas transitórias, que se formam e senescem em curto espaço de tempo. Nas estações secas, em áreas não irrigadas, observa-se a ausência de nódulos, e as taxas de fixação biológica no solo são insignificantes, relacionando-se, às deficiências de FBN com o déficit hídrico (TEIXEIRA et al., 2006).

Inúmeros estudos ressaltam ainda que temperaturas elevadas afetam diversos estágios da FBN como o crescimento e sobrevivência do rizóbio no solo, a troca de sinais moleculares entre os simbioss, o processo de infecção e nodulação e a atividade do aparato enzimático para redução do nitrogênio e assimilação da amônia formada (HUNGRIA; VARGAS, 2000). Para a maioria dos rizóbios, a temperatura ótima para o crescimento em cultura situa-se entre 28 e 31 °C. Além da temperatura, outras condições ambientais limitam o crescimento e a atividade de fixação do nitrogênio em leguminosas. Dentre estas a salinidade e estiagem são os principais fatores (ZAHKAN, 2001).

O estresse salino reduz a nodulação de leguminosas inibindo os eventos simbióticos iniciais, uma vez que o estresse salino na FBN pode ser devido a três diferentes respostas: efeitos na infecção de leguminosas por rizóbios, no crescimento e desenvolvimento do nódulo e, finalmente afetando diretamente a atividade da nodulação (BOUHMOUCH et al., 2004). Entretanto, diferente de seus hospedeiros, os rizóbios podem sobreviver na presença de níveis extremamente elevados de salinidade e apresentar marcante variação de tolerância a essa salinidade (BOUHMOUCH et al., 2004). Têm se o registro da existência de cepas de rizóbios e leguminosas selvagens em zonas áridas que exibem alta tolerância em relação às condições adversas prevalentes

como estresses por salinidade, temperaturas elevadas e dessecação. Estes rizóbios podem ser usados para inocular tanto leguminosas selvagens como culturas agrícolas em regiões áridas (ZAHHRAN, 2001). De qualquer modo, o processo de infecção aparenta ser o mais afetado pela salinidade (ZAHHRAN; SPRENT, 1989). Foi também demonstrado que o estresse por NaCl inibe a atividade da nitrogenase e respiração nodular, pela redução da condução nodular de oxigênio (BOUHMOUCH et al., 2004).

Os microrganismos apresentam uma variedade de adaptações evolucionárias e mecanismos de adaptação fisiológica que os permitem sobreviver e permanecer ativos mesmo sob estresse ambiental. Estes impactos de larga escala resultam de efeitos diretos sobre a fisiologia de microrganismos ativos e do controle da composição da comunidade microbiana ativa (SCHIMEL et al., 2007). Geralmente, temperatura e umidade do solo são considerados os fatores ambientais mais influentes sobre a respiração dos seres vivos que habitam o solo. Estes fatores interagem e aparentemente afetam a produtividade de ecossistemas terrestres (HAN et al., 2005). Mesmo quando a resposta da comunidade microbiana ao estresse é limitada, os custos fisiológicos impostos aos microrganismos do solo são grandes o suficiente para causarem grandes mudanças na alocação e destino de C e N (SCHIMEL et al., 2007).

Devido ao fato do nitrogênio ser um nutriente essencial para o crescimento de plantas, as leguminosas em processo de simbiose têm vantagem sobre outras espécies ao colonizar solos empobrecidos onde esse nutriente é um fator limitante (ECHEVERRÍA; FERNÁNDEZ, 2005). Muitos solos são incapazes de sustentar sistemas produtivos, ou limitam a produção devido a fatores ligados à baixa fertilidade, presença de sódio, salinidade e alterações no pH (SLATTERY et al., 2004). Desse modo, estudar a biodiversidade dos rizóbios proporciona entendimento sobre suas relações ecológicas e evolutivas, visando encontrar genótipos tolerantes aos distintos estresses ambientais que possam influir na simbiose, levando a um manejo mais eficiente dessa interação (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999b).

Devido à deterioração causada nos ao bioma caatinga, em geral, por atividades agrícolas baseadas em culturas de subsistência e na produção de carne e leite (PEINETTI et al., 2008), ao ecossistema caatinga, e pelas próprias características naturais estressantes do semiárido do Nordeste brasileiro, como baixa precipitação, alta temperatura e em alguns casos solos com elevada salinidade, se faz necessário adotar medidas para recuperação desse ambiente ainda rico em biodiversidade, de modo eficiente, continuado e viável economicamente.

Uma das mais importantes características do Nordeste brasileiro relaciona-se com os principais tipos de solo, que no Nordeste do Brasil são, em geral, Planossolos e Neossolos litólicos, onde a maioria é rasa e pouco fértil, particularmente em termos de disponibilidade de nutrientes como nitrogênio e fósforo (SAMPAIO et al., 1995), fazendo-se necessário o aporte desses nutrientes, principalmente o nitrogênio. Processo muitas vezes impossibilitado pelo custo elevado do uso de fertilizantes nitrogenados e pouca eficiência devido à volatilização, porém, substituído eficazmente por processos naturais de fixação.

Associações mutualísticas entre plantas e organismos do solo são essenciais para a sobrevivência e crescimento das plantas na maioria dos ecossistemas terrestres (AGNEW; WARREN, 1996). Assim, o uso combinado de leguminosas e microrganismos na reabilitação de solos deteriorados é um processo efetivo na reestabilização dos ciclos de nutrientes nesse sistema. Pois a estrutura alimentar do solo pode afetar o desenvolvimento da vegetação (KARDOL et al., 2006). Desse modo, microrganismos do solo desempenham papel fundamental no ciclo de nutrientes (WARDLE, 2002), inclusive ao afetar a disponibilidade destes para as plantas, somada à competição entre estas (DEYN et al., 2004).

É importante lembrar que a recuperação de solos degradados, ao permitir o desenvolvimento de uma rede complexa de interações, estimula o aprisionamento de C, contribuindo, inclusive, para reduzir os impactos do aquecimento global (MACEDO et al., 2008). Entretanto, as leguminosas introduzidas em novas áreas somente formarão nódulos e fixarão nitrogênio atmosférico se cepas compatíveis de rizóbios estiverem presentes no solo (BALA et al., 2003). Assim, a utilização de estirpes tolerantes e adaptadas pode aumentar a fixação biológica em solos ácidos e reduzir a aplicação de nitrogênio e fósforo, de acordo com os princípios da agricultura ecológica e economicamente sustentável (HARA; OLIVEIRA, 2005).

## **2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.**

### **2.1 Caatinga.**

O patrimônio natural Brasileiro é sobejamente reconhecido como o mais significativo do Planeta. Essa riqueza natural é expressa pela extensão continental, pela



diversidade, pelo endemismo das espécies biológicas e seu patrimônio genético, bem como, pela variedade ecossistêmica dos biomas ecoregiões e bioregiões (ARRUDA, 2001).

O Nordeste do Brasil tem a maior parte de seu território ocupado por uma vegetação xerófila, de fisionomia e florística variada, denominada "caatinga". Fitogeograficamente, a caatinga ocupa cerca de 11% do território nacional, abrangendo os estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí e Minas Gerais. Na cobertura vegetal das áreas da região Nordeste, a caatinga representa cerca de 800.000 km<sup>2</sup>, o que corresponde a 70% da região (DRUMOND et al, 2000)

O bioma Caatinga é o principal ecossistema existente na região Nordeste, estendendo-se pelos domínios de clima semi-árido. É um bioma único, pois apesar de estar localizado em área de clima semi-árido apresenta grande variedade de paisagens, relativa riqueza biológica e endemismo (ARRUDA, 2001).

Esta vegetação de característica xerófila tem uma importância fundamental na sinecologia do ambiente, seja pela relação intrínseca com a fauna, seja pela capacidade de diminuir o déficit hídrico e a erosão. Assim como afirma Virgínio Filho (1996) a potencialidade que a região guarda em seu ambiente é desconhecida e/ou mal aproveitada. A rica fauna e flora, importantes reservas de recursos naturais não renováveis, solos agrícolas e um grande potencial pecuário e florestal constituem o patrimônio da Caatinga.

Entretanto a Caatinga vem sofrendo contínua devastação, perdendo-se com isto várias espécies características da região provocando alterações na sua biodiversidade. Na atualidade verifica-se uma redução de sua área plantada de 52,10% para 32,27%. (DUARTE, 1995).

O desmatamento, a substituição de espécies vegetais nativas por cultivo de pastagens, a derrubada de árvores para serem utilizadas como lenha e as queimadas, são ainda práticas comuns no preparar da terra para a agropecuária, que além de destruir a cobertura vegetal e acelerar o processo de desertificação prejudica a manutenção de populações e da fauna silvestre (ARRUDA, 2001).

Martins et al (2004) em seus estudos apontaram que a vegetação nativa da região Nordeste encontra-se reduzida a menos da metade, conforme o Diagnóstico Florestal do Estado PNUD/FAO/IBAMA, (1994), entre as espécies da Caatinga, consideradas ameaçadas de extinção segundo CORDEIRO e TROVÃO (1999), estão: o Angico

(*Anadenanthera macrocarpa* Benth), Quixabeira (*Bumelia obtusifolia*), Craibeira (*Tabebuia caraiba* Mart.), Mororó (*Bahuinia forticata* Link.), Pereiro (*Aspidosperma guaraniticum*), Umburana (*Bursera leptophloeos* Engl.). Entretanto de acordo com a lista oficial do IBAMA, apenas as espécies baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.), e a aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) encontram-se ameaçadas.

O estudo e a conservação da diversidade biológica da Caatinga é um dos maiores desafios da ciência brasileira. Há vários motivos para isto. Dentre eles, a Caatinga é a única grande região natural brasileira cujos limites estão inteiramente restritos ao território nacional, a Caatinga é proporcionalmente a menos estudada entre as regiões naturais brasileiras, a Caatinga é a região natural brasileira menos protegida, pois as unidades de conservação cobrem menos de 2% do seu território, e a Caatinga continua passando por um extenso processo de alteração e deterioração ambiental provocado pelo uso insustentável dos seus recursos naturais, o que está levando à rápida perda de espécies únicas, à eliminação de processos ecológicos chaves e à formação (LEAL et al., 2005).

## **2.2- Leguminosas e a fixação biológica de nitrogênio.**

O nitrogênio é um dos componentes críticos para a sustentação de ambientes terrestres e para a produção agrícola com altos rendimentos em cultivos agrícolas. Depois da necessidade de água, o nitrogênio é com maior frequência, o principal fator limitante para a produção agrícola.

O nitrogênio é um elemento essencial para a sustentabilidade do ecossistema, principalmente o fixado biologicamente, devido ao fato de que o nitrogênio oriundo desta fonte é menos suscetível a processos de volatilização e usado diretamente pela planta de maneira mais eficiente (GRAHAN; VANCEB, 1999). A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é caracterizada pela conversão do nitrogênio gasoso ( $N_2$ ) em nitrogênio amoniacal ( $NH_4$ ), forma disponível às plantas (SOARES et al., 2006).

Em 1887, Hellriegel & Wilfarth demonstraram em seus experimentos clássicos que a fixação biológica de nitrogênio estava associada com raízes de leguminosas, que eram essenciais nas funções dos agentes infectivos dos nódulos. Por volta de 1896, já se utilizava a expressão grupos de inoculação de cultura referindo-se a certos grupos de leguminosas, em geral relacionadas taxonomicamente, noduladas pelas várias espécies de rizóbios (DEAKER et al., 2006). Diversas vantagens são trazidas por esse processo

que vão desde o aumento da produção vegetal até a contribuição para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, a recuperação de áreas degradadas, o incremento da fertilidade e da matéria orgânica do solo (SOARES et al., 2006).

Taiz; Zeiger (2004), afirmam que o processo de FBN atua de forma semelhante à fixação industrial deste elemento, pois produz amônia a partir do nitrogênio molecular.

A família das leguminosas compreende um número estimado entre 16000 e 19000 espécies, divididas em aproximadamente 750 gêneros, com distribuição global, embora não seja uma característica comum a todas as espécies, a capacidade de realizar FBN em simbiose com rizóbios, é de grande valia ecológica (ALLEN; ALLEN, 1981).

A maioria das espécies nodulantes pertence à subfamília *Papilionoideae*, onde 97% das espécies examinadas são capazes de formar nódulos. Entre as *Mimosoideae* esta capacidade foi provada em 90% das espécies examinadas e entre as *Caesalpinoideae* examinadas, apenas 23% são capazes de formar simbiose.

As leguminosas de porte arbóreo vêm sendo amplamente utilizadas em trabalhos de recuperação de áreas degradadas, por apresentarem sistema radicular com crescimento rápido, tolerância à acidez do solo e estresse de temperatura (FRANCO et al., 1992).

Araújo Filho (2007) avaliando leguminosas arbóreas, para recuperação de solos e repovoamento em áreas degradadas em Quixeramobim-Ce concluiu que na região estudada, no sertão central do Ceará, todas as leguminosas avaliadas (*Albizia lebeck* (L.) Bentham, *Gliricidia saepium* (Jack.) Steud, *Caesalpinia férrea* var. *leiostachya* (Benth. 1870), *Mimosa hostilis* Benth., *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Parkinsonia aculeata* L.) poderiam ser utilizadas em programas de recuperação florestal de áreas degradadas, destacando-se, porém, *Parkinsonia aculeata*, *Gliricidia saepium*, *Mimosa hostilis* e *Leucaena leucocephala*, devido a persistência da folhagem, o crescimento do caule, o aumento da copa e o percentual de sobrevivência das plantas.

Santos et al. (2008) estudando o desempenho da inoculação com rizóbio nativo e/ou fungo micorrízico arbuscular (FMA) sobre o crescimento inicial do angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan.), verificaram que o crescimento e nutrição de N e P de mudas de Angico-vermelho foi incrementado pela inoculação com fungo micorrízico arbuscular (*G. etunicatum* Becker & Gerdmann) e rizóbio nativos, mas os microsimbiontes não agiram entre si. De maneira geral, os

resultados observados nas plantas com FMA isolado e em conjunto com rizóbio não diferiram quanto ao teor de N, mas superou ao controle com relação ao N acumulado. O angico vermelho é uma planta da família Fabaceae, leguminosa nativa de grande importância sócio-econômica e ecológica no semi-árido do Nordeste brasileiro, devido à tolerância à seca.

Em estudo realizado em latossolo degradado, verificou-se que leguminosas como *Mimosa flocculosa* Burkart (bracatinga), *Acacia parviceps* (Speg.) Burk (acacia) e *Mimosa caesalpinifolia* Bentham (sabiá) apresentaram crescimento superior ao eucalipto (árvore muito utilizada em reflorestamentos) sem aplicação de esterco (FRANCO et al., 1991), e em experimentos realizados no campo com *Leucaena leucocephala*, foi observado que mudas inoculadas obtiveram crescimento superior àquelas que receberam N-mineral no viveiro (FARIA et al., 1984).

Estudos recentes indicam que a habilidade de leguminosas em formar nódulos está em função da magnitude, distribuição e diversidade de rizóbios em um dado solo. Porém, deve-se ressaltar a existência de diversos fatores que atuam negativamente no processo de FBN, como a salinidade e temperatura elevada (BALA et al., 2003). A avaliação do potencial de estirpes nativas de rizóbio em relação à eficiência, competitividade e adaptação às regiões sujeitas à alta temperatura é importante no estudo da fixação simbiótica de nitrogênio (CARVALHO et al., 2001). A influência da temperatura no crescimento e desempenho do rizóbio é um fator importante, pois solos tropicais podem atingir temperaturas superiores a 40°C nas camadas superficiais, tornando-se um dos principais fatores limitantes ao processo da fixação simbiótica do nitrogênio nos trópicos (VARGAS; HUNGRIA, 1997).

Em geral a condutância para a difusão de O<sub>2</sub> é colocada como o principal fator para a inibição da fixação de nitrogênio atmosférico, geralmente devido a elevadas taxas de salinidade no solo (L'TAIEF et al., 2006), uma vez que o estresse salino afeta a fixação de nitrogênio em leguminosas (BOUHMOUCH et al., 2004).

Também se demonstrou que o estresse por cloreto de sódio inibe a atividade da nitrogenase e a respiração do nódulo, o que leva à elevação da condutância de O<sub>2</sub>. Porém, um aspecto importante da tolerância bacteriana à salinidade é a habilidade destes de sobreviver à elevadas concentrações de sal inibindo o próprio crescimento. Cepas que podem sobreviver a altas taxas de salinidade em solos podem prontamente iniciar sua multiplicação se a salinidade baixar (BOUHMOUCH et al., 2004). Há, também, a redução da taxa de crescimento do nódulo em temperaturas baixas.

Geralmente, há o atraso no começo da nodulação, para cada espécie, de acordo com a temperatura fora da faixa ótima para a formação de nódulos, o que possivelmente indica que a redução do número de nódulos pode ser considerada como o efeito geral na simbiose rizobiana de temperaturas fora da faixa ideal nas raízes (LIRA JUNIOR et al., 2004).

Somado a estes fatores, a erosão e diversos outros distúrbios causados no solo também podem reduzir a atividade da comunidade microbiana, fato que provavelmente se mostra limitante para o crescimento das plantas porque em geral esses microrganismos são peças fundamentais nos ciclos de nutrientes e energia nos solos (SIVIERO et al., 2008).

### **2.3 – Rizóbios.**

As bactérias da família *Rhizobiaceae* e plantas leguminosas têm a habilidade de estabelecer simbiose, na qual a bactéria fixa nitrogênio dentro de um órgão ligado às raízes da planta, o nódulo. O desenvolvimento desse órgão depende da troca de sinais entre a bactéria simbiote e as plantas hospedeiras (COHN et al., 1998). Os nódulos nas raízes são os locais para a associação entre leguminosas e bactérias do solo comumente conhecidas como rizóbios, assim, a planta supre a bactéria com fontes de energia, malato ou succinato, e em troca a bactéria reduz, isto é, fixa o gás  $N_2$  atmosférico em  $NH_4^+$ , provendo à planta aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados essenciais (L TAIEF et al., 2006).

Para a otimização da simbiose entre leguminosas e os rizóbios, é requerido na rizosfera à presença de extratos de bactérias infectivos, competitivos e compatíveis com a planta, com taxas eficientes de FBN e em quantidade suficiente para maximizar a nodulação. Embora a efetividade simbiótica não apresente nenhuma relação como parâmetros específicos dos solos, o número de rizóbios está geralmente correlacionado com a acidez do solo, tamanho das partículas e bases trocáveis (VESSEY et al., 2006).

A acidez do solo é também o principal fator que está relacionado com a diversidade genética entre populações de rizóbios (BALA et al., 2003). Estudos demonstram que o pH, solos argilosos e matéria orgânica são os principais fatores que afetam a diversidade (GIONGO et al., 2008).

O pH do solo é a principal característica que afeta a diversidade de bradirizóbios, ao passo que solos argilosos com matéria orgânica exerceram menor

influência negativa na diversidade bacteriana (GIONGO et al., 2008). Entretanto, o estresse salino aparece como um dos muitos fatores ambientais limitantes que afetam a produção das leguminosas em regiões áridas e semi-áridas. Porém, há considerável taxa de variabilidade em relação à tolerância à salinidade, tanto entre espécies de leguminosas nativas, como entre leguminosas cultivadas (BOUHMOUCH et al., 2004). Pesquisas sobre a biodiversidade microbiológica de solos salinos envolvem a busca por genótipos tolerantes a esse tipo de estresse ambiental.

Independente das limitações ambientais, o uso desses microrganismos para disponibilizar nutrientes às plantas se tornou uma prática de grande importância, indispensável para a agricultura. Não somente por questões biológicas, mas principalmente por suas implicações econômicas, uma vez que comunidades de rizóbios efetivamente capazes de nodulação foram encontradas em vasta gama de solos (SLATTERY et al., 2004). Segundo Campello (1996) certas estirpes selecionadas de rizóbio garantem à planta auto-suficiência em nitrogênio, em alguns casos, apresentam resultados superiores à aplicação de nitrogênio mineral.

Desse modo, observa-se alguma correlação entre bactérias e plantas, onde microrganismos Gram-negativos, os rizóbios, realizam simbiose com leguminosas, enquanto os Gram-positivos nodulam muitas das espécies não leguminosas (DOYLE et al., 1998). Esse grupo de bactérias está capacitado para estabelecer relações simbióticas de fixação de nitrogênio com leguminosas (IBAÑEZ et al., 2008).

Baseando-se nestas informações, especula-se que rizóbios possam infectar raízes de leguminosas não-nodulantes, e que essas plantas apresentam atividade da nitrogenase, presume-se que todas as leguminosas são capazes de suportar simbioses com rizóbio, mesmo que não seja possível a todas formar nódulos (DOYLE et al., 1998). É provável, e de extrema importância, que populações de rizóbios, através da simbiose com leguminosas possam vir a colonizar raízes de não leguminosas, e assim contribuir para a agregação do solo e promover o crescimento de outros tipos de plantas (KACI et al., 2005), de modo a favorecer os processos de recuperação do solo. Entretanto, ressalta-se que o tamanho da comunidade de rizóbios é dependente de diversos fatores como o histórico do campo, solo, características ambientais, e principalmente a presença de plantas hospedeiras (SLATTERY et al., 2004). O pH do solo, a acidez trocável, o tipo de solo (arenoso ou argiloso) são os fatores determinantes que afetam a população de rizóbios em uma área (BALA et al., 2003).

Graças à importância econômica e ecológica desse grupo de bactérias, os rizóbios, a diversidade das mesmas tem sido investigada extensivamente e a taxonomia rizobiana vem sofrendo mudanças significativas nas últimas três décadas (LIU et al., 2005).

#### **2.4 - Taxonomia de rizóbios.**

A classificação taxonômica do rizóbio anteriormente relacionava-se com sua especificidade hospedeira, a qual oferecia aspecto prático pela utilidade para a produção de inoculantes. Entretanto, essa classificação não conseguiu se sustentar ao longo do tempo. Em meados da década de 1980, passa-se a utilizar o relacionamento entre certas características fisiológicas, ecológicas e ainda a especificidade hospedeira, representando melhor a realidade (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999a).

O gênero *Rhizobium* é um grupo cosmopolita de bactérias que produzem nódulos em leguminosas (TRINICK, 1980). Segundo Moreira; Siqueira (2006) os gêneros de rizóbios descritos até o momento podem ser diferenciados com base em características culturais em meio YMA.

Ainda de acordo com Moreira; Siqueira (2006) os principais gêneros de rizóbios seriam divididos em *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium* e *Bradyrhizobium*, que podem ser reconhecidos com base nas seguintes características: forma, o diâmetro das colônias quando isoladas, a coloração do meio YMA devido à absorção do indicador de pH utilizado, o azul-de-bromotimol (Tabela 1). Onde a viragem do meio para amarelo indica acidificação, enquanto a viragem para azul indica alcalinização e verde neutralidade, a produção de polissacarídeos extracelulares (PSE) e o tempo em dias para o aparecimento de colônias isoladas (TACI).

As características culturais dos rizóbios fornecem informações importantes para sua identificação e agrupamento. São informações oportunas, uma vez que permitem um esboço da diversidade de espécies e dão base ao conhecimento e possibilitam a continuidade dos estudos das estirpes identificadas.

**Tabela 1.** Características culturais dos gêneros de rizóbios em meio de cultura 79.

Gênero	Forma da Colônia	TACI	pH	Diâmetro da colônia(mm)	Produção de PSE	Crescimento
<i>Rhizobium</i>	Circulares , convexas	2 a 3	ácido	2 a 4	intensa , translúcidas e mucilaginosas	Rápido
<i>Sinorhizobium</i>	Circulares , convexas	2 a 3	ácido	2 a 4	intensa , translúcidas e mucilaginosas	Rápido
<i>Mesorhizobium</i>	Circulares , convexas	3 a 5	ácido a neutro	2 a 4	intensa , translúcidas e mucilaginosas	Rápido a intermediário
<i>Allorhizobium</i>	Circulares , convexas	1 a 2	ácido a neutro	0,5 a 3	intensa , translúcidas e mucilaginosas	Rápido
<i>Azorhizobium</i>	Circulares	3 a 4	Alcalino	0,5	Pouca - menos que <i>Bradyrhizobium</i>	Rápido a intermediário
<i>Bradyrhizobium</i>	Circulares,convexas, textura granular	6 a 10	Alcalino	< 1	Pouca a abundante - opaca, pouco translúcida	Lento a muito lento

Fonte: Microbiologia e bioquímica do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os métodos fenotípicos clássicos são usados nos protocolos de identificação, por compreenderem dados morfológicos, fisiológicos e bioquímicos do maior número possível de isolados e pela adaptabilidade ecológica às condições ambientais (FREITAS et al., 2007).

## 2.5 - Plantas nativas na formação do nódulo.

De acordo com Sprent (1999) leguminosas são a terceira maior família de plantas dicotiledôneas, consistindo de cerca de 640 gêneros e 18.000 espécies, geralmente divididas entre três subfamílias, *Caesalpinoiideae*, *Mimosoideae* e *Papilonoideae*, sendo encontradas praticamente em todas as partes do globo, com poucas exceções como as ilhas Malvinas.

O emprego de leguminosas é importante na recuperação de áreas degradadas como cobertura do solo, o que contribui para o maior controle de plantas daninhas e da erosão do solo, na reciclagem de nutrientes, e como fornecedora de nitrogênio ao solo (PERIN et al., 2003).

Muitas dessas árvores têm rápido crescimento, múltiplo uso, são de fácil propagação, apresentam potencial para incremento genético e significância ecológica pela FBN. As bactérias do gênero rizóbio são capazes de formar simbiose com espécies



de leguminosas arbóreas, possibilitando a fixação do N<sub>2</sub> atmosférico, garantindo o fornecimento desse elemento à planta (FRANCO; FARIA, 1997).

Entretanto, somente uma fração do total de espécies leguminosas foi investigada quanto à capacidade de FBN, havendo lacunas de conhecimento sobre as espécies arbóreas da África e América Latina, provavelmente devido a limitações metodológicas, a dificuldade de identificação de nódulos em árvores adultas, à falta de nódulos em florestas (DAKOTA; KEYA, 1997).

Segundo Moreira; Siqueira (2006) a capacidade de nodular, não é comum a todas as espécies de leguminosas, muitas não possuem esta característica e em alguns casos não há informações disponíveis, entretanto no Brasil vários gêneros nodulíferos e não nodulíferos já foram estudados, apesar de ocorrer também a freqüente falta de nódulos em florestas e a dificuldade de obtenção de sementes nativas para estudos em vasos (FARIA et al., 1984; FARIA et al., 1989; DAKOTA; KEYA, 1997). Atualmente estima-se que 23% de todas as espécies de um total de 16.567 espécies da família já foram estudadas, e que 88% são nodulíferas (FARIA et al., 1989).

Moreira; Siqueira (2006) destacaram que a capacidade de nodular parece correlacionar-se com a evolução dentro da família, os grupos mais primitivos (*Caesalpinioideae*) apresentam menor percentual nodulífero, já segundo Sprent (1999) há notáveis exceções como *Melanoxylon brauna* (*braúna-preta*) e muitos gêneros devem ser ainda estudados, ainda de acordo com o último autor, 76% do total estudado não nodulam, nas *Mimosoideae* e *Papilonoideae*, o número de espécies não nodulíferas é bem menor, respectivamente 13 e 4%.

Bala et al. (2003), estudando a ecologia de populações nativas de rizóbios de solos tropicais capazes de nodular leguminosas arbóreas, verificaram que há evidências de que leguminosas exibem maior nível de nodulação em solos no seu centro de diversidade que em solos nos quais foram introduzidas.

A nodulação, fruto da relação simbiótica entre plantas leguminosas e bactérias do solo, é um fenômeno ecológico e econômico extremamente importante. A efetiva nodulação de muitas leguminosas tropicais tanto com bactérias de lento crescimento quanto com bactérias de rápido crescimento, demonstram a natureza diversa deste grupo (TRINICK, 1980). De um ponto de vista econômico, a habilidade que alguns grupos de plantas apresentam de utilizar o nitrogênio atmosférico, reduz a necessidade de utilização maciça de fertilizantes (DOYLE, 1998). Fator significativo e desejável. Esse processo é conhecido pela associação de plantas Leguminosas e diversas bactérias

Gram-negativas, como *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium*, ou simplesmente rizóbios, os quais produzem estruturas, os nódulos, nas raízes e eventualmente nos caules, verdadeiros órgãos com função específica de fixação de nitrogênio (DOYLE et al., 1998).

Por sua vez, o fator que viabiliza economicamente esse fenômeno, é o processo de inoculação artificial em sementes de leguminosas. Processo eficiente para a introdução de cepas de rizóbios no solo e na rizosfera. A eficácia da inoculação é dependente de vários fatores, os quais podem afetar número variável de rizóbios disponíveis para infecção de raízes de leguminosas, tanto positivamente quanto negativamente. Estudos defendem que o aumento no número de rizóbios viáveis por semente, por meio de aplicação de inoculantes, acima de níveis recomendados, resulta em um incremento linear de formação de nódulos e colheita (DEAKER et al., 2006).

Entretanto, segundo Straliozzo; Rumjanek (1999\_b), diversos fatores interferem efetivamente na eficiência simbiótica das estirpes de rizóbio, como características intrínsecas à bactéria e, outros extrínsecos que se relacionam com a competição com outros microrganismos do solo, como fatores de clima e solo ou determinados pela planta hospedeira, como o genótipo destas.

A base da termotolerância e da capacidade de nodular a altas temperaturas permanece desconhecida. Isto talvez se deva a certas mudanças metabólicas ocorrendo nas células bacterianas sob condição de altas temperaturas (NANDAL et al., 2005).

Entre os principais fatores que afetam a nodulação, destacam-se os efeitos do pH do solo e suas interações com outros nutrientes, a disponibilidade de nutrientes no solo e suas interações com a simbiose e o rizóbio, os efeitos da umidade do solo, do estresse osmótico e a sensibilidade à temperatura (STRALIOTTO; RUMJANEK, 1999\_a). Além do pH, fatores como o tipo de solo e localização geográfica podem alterar os valores efetivos de fixação de nitrogênio (SLATERRY et al., 2004). Esses atributos do solo afetarão a eficiência da associação simbiótica rizóbio-leguminosas e, assim, provavelmente afetarão negativamente a capacidade dos rizóbios nodularem e fixarem eficientemente nitrogênio (BROCKWELL et al., 1995).

Fica claro que a capacidade dos solos em impulsionar a formação de nódulos é o resultado do pH deste, da frequência e do histórico de cultivos (SLATERRY et al., 2004). Estudos demonstraram que, em geral, a formação de nódulos, está fortemente associada como o fósforo disponível em diversos tipos de solo, e a redução da concentração desse nutriente interfere no processo de nodulação e FBN (LEKBERG;

KOIDE, 2005). Desse modo, a simples adição de fósforo em solos deficientes desse nutriente, estimula tanto a formação de nódulos como intensifica a fixação de nitrogênio, o que confirma a importância de fósforo na fixação biológica de Nitrogênio (LEKBERG; KOIDE, 2005). O alumínio e a acidez dos solos da Amazônia podem diminuir a população de rizóbios que fixam o nitrogênio, solubilizam fosfatos pouco solúveis e aumentam a disponibilidade do fósforo em sistemas produtivos (HARA; OLIVEIRA, 2005).

A nodulação é uma interação altamente específica em relação ao hospedeiro, na qual, com poucas exceções, extratos de rizóbios infectam uma limitada quantidade de plantas hospedeiras, que são reconhecidas pelas bactérias compatíveis por secretarem isoflavonóides, aminoácidos e lectinas que resultam na indução de genes responsáveis pela nodulação. Esses genes possuem enzimas que sintetizam específicos sinais de nodulação, os quais ativam muitos dos eventos iniciais de infecção nas raízes (STACEY et al., 2006).

Quando a infecção chega às células das raízes, as bactérias são lançadas no seu interior, sendo então, armazenadas em estruturas semelhantes a vacúolos, diferenciando-se em bacterióides, quando passam a converter nitrogênio em  $\text{NH}_3$ . O nódulo é considerado um órgão no qual há uma real especialização celular (STACEY et al., 2006). À medida que se estabelece a simbiose, a planta passa a fornecer fotoassimilados à bactéria, que em troca, recebe produtos nitrogenados (aminoácidos, ureídeos) provenientes da fixação de  $\text{N}_2$  (SCHUBERT, 1986).

O efeito significativo da inoculação no crescimento de plantas justifica o uso em projetos de restauração, particularmente quando solos degradados têm a microbiota gravemente afetada, por uso de fogo, utilização intensiva, uso de pesticidas, fertilizantes e retiradas da vegetação natural (ECHEVERRÍA; FERNÁNDEZ, 2005). Uma vez que, restaurar solos de ecossistemas degradados é um ponto crucial para elevar a produtividade, melhorar as condições ambientais e promover o desenvolvimento sustentável (HAI et al., 2007).

## **2.6 - O uso da simbiose entre rizóbios e leguminosas em solos de regiões áridas.**

A qualidade do solo, em geral, é definida como a capacidade do solo de funcionar bem, dentro dos limites impostos pelo ecossistema, que preserva a produtividade biológica e a qualidade ambiental, de modo a promover condições

adequadas para o desenvolvimento saudável de comunidades animais, vegetais e humanas (DORAN; PARKIN, 1994).

Os distúrbios que afetam as propriedades do solo são importantes desafios para a estabilidade de ecossistemas, sejam eles naturais ou não. A erosão do solo, cultivos e a retirada de vegetação deterioram os nutrientes do solo e pode resultar em importantes perdas, se essas retiradas forem superiores às entradas de insumos de forma natural ou pelo homem (FANG et al., 2008). Desse modo, conhecer interações positivas entre microrganismos do solo e plantas é essencial para proporcionar boas condições de crescimento para as plantas, e assim a restauração de solos degradados, principalmente em regiões áridas e semiáridas. Para a efetiva restauração é necessário a re-introdução de ambos, plantas e organismos mutualistas (ECHEVERRÍA; FERNÁNDEZ, 2005). É antiga a utilização de leguminosas associadas à rizóbios e, também, a fungos micorrízicos arbusculares em programas de recuperação de áreas degradadas, em sistemas agroflorestais e agropastoris (FRANCO; BALIERO, 1999).

Após o abandono do solo pela agricultura, as posteriores mudanças na composição da vegetação influenciarão a qualidade e quantidade das raízes, e principalmente a quantidade de matéria orgânica disponível (HOLTKAMP et al., 2008). A taxa de transição de transformação de uma área de uso agrícola para uma de vegetação natural depende de processos, tanto acima do solo como abaixo deste (WARDLE et al., 2004).

Entretanto, a erosão e distúrbios causados no solo também podem reduzir a atividade da comunidade microbiana, fato que provavelmente se mostra limitante para o crescimento das plantas porque em geral esses microrganismos são peças fundamentais nos ciclos de nutrientes e energia nos solos (SIVIERO et al., 2008). As raízes de plantas contribuem para a manutenção dos níveis de matéria orgânica no solo e, conseqüentemente, na estabilização de agregados, seja pelo material das próprias raízes, seja pela estimulação da atividade microbiológica nas raízes (KACI et al., 2005). Na falta destas, perde-se as condições ideais para o estabelecimento da microbiota, o que ocasiona sérios prejuízos ao ambiente do solo.

Exemplos dos processos danosos ao solo são facilmente percebidos em áreas de savanas, pois estas áreas, devido a características físicas e localização climática são freqüentemente afetadas por incêndios causados pelo homem ou fruto de processos naturais (SCHOLES; HALL, 1996).

Estudos demonstram que durante incêndios podem ocorrer perdas de cerca de 20% do nitrogênio do solo por volatilização e outra quantidade significativa é perdida por lixiviação e erosão e, geralmente essas perdas de nitrogênio não são compensadas pelo fluxo de nitrogênio sem os microrganismos do solo (SCHOLES; HALL, 1996). Desse modo observa-se a importância e dependência dos ecossistemas, em especial regiões semiáridas, em relação aos mecanismos biológicos de fixação de nitrogênio e sua função na recuperação de solos deteriorados (SCHOLES; HALL, 1996). As áreas de savanas são caracterizadas por um complexo sistema rico em biodiversidade, representado por inúmeras espécies de leguminosas e não-leguminosas, onde leguminosas são os mais importantes componentes (MIDGLEY; BOND, 2001).

Assim, o uso combinado de leguminosas e microrganismos na reabilitação de solos deteriorados é um processo efetivo na reestabilização dos ciclos de nutrientes nesse sistema. É importante lembrar que a recuperação de solos degradados, ao permitir o desenvolvimento de uma rede complexa de interações, estimula o aprisionamento de C, contribuindo, inclusive, para reduzir os impactos do aquecimento global (MACEDO et al., 2008). Restaurar solos de ecossistemas degradados é um ponto crucial para elevar a produtividade, melhorar as condições ambientais e promover o desenvolvimento sustentável (HAI et al., 2007).

## **2.7 - Plantas-isca na formação do nódulo.**

O feijão-guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), originário do continente africano, pertence à família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae* e subtribo *Cajaninae*, (SANTOS, 2000). Leguminosa usada para adubação verde (ARAÚJO; BALBINO, 2007), apresenta numerosas raízes finas secundárias, que podem atingir até 30 cm de profundidade, e nódulos que contêm bactérias do gênero *Rhizobium*, que fixam simbioticamente nitrogênio atmosférico e que é cedido à planta para a formação de seus aminoácidos e proteínas (SEIFFERT; THIAGO, 1993). É uma espécie que se desenvolve bem em condições tropicais e subtropicais, entre as latitudes 30° N e 30° S. A temperatura média mais favorável varia de 18 a 29 °C, tolerando temperaturas médias de até 35 °C (VIEIRA et al., 2001).

O feijão-guandu pode sobreviver muito bem em solos degradados e tolerar o estresse hídrico. Esta cultura também apresenta bom potencial para uso na conservação do solo (SHELDRAKE et al., 1979; NARAYANAN; SYAMALA, 1989). Embora o

feijão-guandu cresce em diversos tipos de solo, prefere aqueles profundos, com pH variando de 5 a 7. Fora desta faixa ocorre redução na produção (MAIOR JÚNIOR, 2009), sofre efeitos da toxicidade provocados pelo alumínio com acentuada redução na germinação e crescimento das plântulas (NARAYANAN; SYMALA, 1989).

Assim como o feijão comum e feijão-caupi, o guandu é considerado como uma leguminosa promíscua, ou seja, apresentando a capacidade de formar nódulos com uma gama muito grande de bactérias. Porém, diferentes cultivares de guandu podem apresentar diferenças na nodulação quando inoculadas com diferentes estirpes de bactérias nodulíferas (VALARINI; GODOY, 1994) em geral apresenta isolados de crescimento rápido (DATTA; BASU, 2000).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é nativo da África e bastante cultivado nas regiões tropicais dos continentes africano, asiático e americano, constituindo a principal fonte de proteína, principalmente para populações de baixa renda (FREIRE FILHO et al., 1998). Bastante cultivado no Nordeste do Brasil, tratando-se de uma leguminosa que se adapta bem às condições edafoclimáticas, tais como temperaturas elevadas, baixa pluviosidade, solos com baixa fertilidade, pH e salinidade elevados, o que o torna um dos principais produtos de subsistência para populações de baixa renda (FREIRE FILHO, 2005). Apresenta também, como características principais, a alta tolerância a estresse hídrico, térmico e salino, sendo capaz de se beneficiar da fixação biológica de nitrogênio (MARTINS et al., 1997).

O feijão-caupi, de uma maneira geral, é nodulado por espécies do gênero *Bradyrhizobium*, e sob esta denominação estão agrupados um grande número de estirpes capazes de nodular inúmeras espécies de leguminosas comuns nas regiões tropicais (NEVES et al., 1998).

Essa leguminosa é capaz de ser nodulada facilmente com um grupo de rizóbio presente no solo, designado como grupo miscelânea feijão-caupi ou rizóbio tropical, característica encontrada também em várias outras leguminosas de ocorrência nos trópicos (RUMJANEK et al., 2005). No entanto, para feijão-caupi, a promiscuidade desta planta em ser nodulada por vários tipos de rizóbios tem desmotivado a seleção de estirpes para a cultura (RUMJANEK et al., 2005). A simbiose entre feijão-caupi e rizóbio é capaz de fornecer de 35 a 70% do N que a planta precisa (BODDEY et al., 1990).

O siratro (*Macroptilium atropurpureum* (DC) Urban) é uma leguminosa perene, estolonífera, radicante que possui raízes profundas, hastes rasteiras volúveis e folhas

típicas com a página ventral cinzento-prateada e lóbulos característicos, que lhe conferem o aspecto de uma palma de mão com dedos unidos, originária do México (PUPO,1979). Também Fabaceae, assim como o *Phaseolus vulgaris* (feijão) (VIERA et al., 2001).

Conforme Lopes et al., (1971) trata-se de uma leguminosa promíscua, pois avaliando a capacidade fixadora de nitrogênio de *Rhizobium* autóctone associado com soja perene e siratro, em dois solos do Estado de São Paulo, observaram que mesmo em tratamentos sem inoculação houve o aparecimentos de nódulos em siratro, e que o tipo de vegetação presente afetou a eficiência da FBN, sendo ineficiente em latossolo roxo e latossolo vermelho amarelo do Cerrado e eficiente em latossolo roxo sob vegetação de soja perene.

Espíndola et al., (2006) avaliando produção de matéria seca da parte aérea e quantidade de N acumulado em leguminosas herbáceas perenes e vegetação espontânea, proporção e quantidade de N fixado biologicamente pelas leguminosas amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krap. & Greg.), cudzu tropical (*Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth.) e siratro (*Macropitilium atropurpureum* (OC.) Urb.),constatarem que siratro fixou 89,3 Kg há<sup>-1</sup> sendo responsável por 38,2% da FBN comparativamente às demais leguminosas avaliadas, representando os menores percentuais.

O gênero *Mimosa* é amplo e complexo, englobando aproximadamente 500 espécies, sendo a maioria nativa nas Américas. O maior centro de diversidade deste gênero é o Brasil onde muitas espécies podem ser observadas na caatinga e no cerrado (MENDONÇA et al.1998). Apesar de *Mimosa* poder nodular com uma variedade de rizóbios (ALLEN; ALLEN, 1991), Reis Júnior et al.(2006) verificaram que Leguminosas do gênero *Mimosa*, de ampla distribuição e abundância no Cerrado, também são capazes de nodular e formar simbiose com bactérias bem distintas daquelas conhecidas como rizóbios.

### **3. JUSTIFICATIVA.**

Ecosistemas naturais têm sido severamente destruídos devido à ação humana, pelo uso irracional de recursos e negligência da proteção e restauração desses ambientes (HAI et al., 2007). A porção semiárida do território brasileiro sofre intensos processos de degradação de seus recursos naturais, principalmente os solos, devido à implantação

de sistemas agrícolas predatórios, pastoreio descontrolado, e extração de espécies vegetais.

Em áreas florestadas, quando desmatadas, o solo começa imediatamente a perder matéria orgânica, principalmente nitrogênio, ocasionando uma série de processos que levam à degradação do solo, cuja intensidade depende das técnicas de manejo utilizadas, tipo do solo, do regime pluviométrico e histórico de utilização da área.

A taxa de auto-recuperação desses solos depende do grau de alteração sofrido, e essa recuperação pode ser muito lenta, desencadeando sérios problemas como perda acelerada de nutrientes e em casos mais graves desertificação. Desse modo, é necessário o uso de técnicas de restauração, preferencialmente, de baixo custo, auto-sustentáveis e eficientes.

O raleamento e fragmentação de vastas áreas de vegetação nativa contribuem para o agravamento dos problemas ambientais em diversas áreas do planeta, como a degradação de solos, perda da produtividade agrícola e declínio da biodiversidade (THRALL et al., 2007). Assim, sistemas agrícolas de subsistência em regiões semi-áridas precisam reavaliar seus processos produtivos e considerá-los à luz da inconstância do clima, e priorizar alternativas de baixo-custo (PEINETTI et al., 2008). Conseqüentemente, a restauração de comunidades de plantas nativas e o manejo das paisagens ocupadas pelas mesmas, têm se tornado imperativo (THRALL et al., 2007). Desse modo, o cultivo com leguminosas é uma das formas mais eficientes de incorporar nitrogênio ao solo de modo sustentável e viável economicamente, principalmente em sistemas agroecológicos (ESPINDOLA, 2005).

A possibilidade de recuperação desses solos existe, principalmente, pela utilização de espécies vegetais, que agem simbioticamente com microrganismos e fixam biologicamente nitrogênio no solo. Em especial pela relação leguminosas-rizóbio somadas à utilização de outras técnicas de recuperação. Este projeto busca esclarecer o papel deste grupo de microrganismos para a ocorrência da fixação biológica de nitrogênio no bioma caatinga e assim identificar espécies-chaves de leguminosas para a manutenção destes grupos.

### **3.1– Hipóteses.**

- Por ser a família mais representativa no semiárido as leguminosas apresentam potencial para a fixação biológica de nitrogênio de modo eficiente;



- Na caatinga há grupos funcionais de rizóbios adaptados às condições climáticas locais;

### **3.2 – Objetivos**

#### **3.2.1 - Objetivo geral**

- Isolar e caracterizar bactérias diazotróficas associadas a espécies de leguminosas nativas em uma área de caatinga na RPPN na Serra das Almas, Crateús, (Ce);

#### **3.2.2 - Objetivos específicos.**

- Formar “Coleções de Culturas” com bactérias diazotróficas provenientes do semiárido cearense;
- Selecionar estirpes de rizóbios tolerantes à salinidade e a temperatura elevadas;
- Identificação dos padrões de interação entre rizóbios e Leguminosas nos períodos de sazonalidade nas condições da caatinga;
- Identificar grupos funcionais de leguminosas, existentes na área de caatinga da RPPN na Serra das Almas, visando indicar espécies-chave, através da identificação de leguminosas que sejam essenciais no processo de FBN, para a manutenção das populações de rizóbios nos solos da região;

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 - Área de Estudo.**

O trabalho foi realizado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas (05° 00' a 05° 20' S e 40° 48 a 41° 12' W). Estado do Ceará, localizada no município de Crateús. A reserva está situada a 390 km de Fortaleza. O clima é semi-árido com pluviosidade média de 881 mm/ano, distribuída de janeiro a abril (ARAÚJO et al., 2005).

#### 4.2 - Coleta de solo rizosférico e nódulos no campo.

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico para obtenção de informações sobre espécies de leguminosas nativas da região do semiárido cearense, com objetivo de identificar as mesmas na área na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, em Crateús.

Uma área sem histórico de utilização foi posteriormente selecionada arbitrariamente no interior da reserva para o reconhecimento das espécies de leguminosas presentes neste local. As coletas de solo rizosférico foram realizadas em onze pontos, onde foram identificadas oito espécies de leguminosas arbóreas plenamente estabelecidas, ou seja, plantas com porte adulto, a saber: *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Altschu (Angico); *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Stend (Mororó); *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Catingueira); *Erythrina velutina* Willd. (Mulungu); *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (Sabiá); *Minosa acustistipula* (Mart.) Benth (Jurema-branca); *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Jurema-preta); *Amburana Cearensis* (Allemão) A.C. Smith (Emburana).

O solo rizosférico foi coletado em dois períodos distintos, no fim da estação chuvosa, em meados de junho de 2008 (Figura 1), e em pleno período de seca, no final de novembro de 2008 (Figura 2). Quando detectada a presença de nódulos (Figura 3), estes foram armazenados em recipientes contendo sílica para posterior isolamento em laboratório. O solo rizosférico foi coletado também para posterior utilização em vasos com plantas-isca. As amostras de solo foram analisadas quimicamente segundo metodologia da EMBRAPA (1997).



**Figura 1:** Local de coleta dos nódulos durante o fim do período chuvoso, na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús, CE.



**Figura 2:** Serrapilheira acumulada durante o período da seca, na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas.





**Figura 3:** Nódulo (seta vermelha) em raiz de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) - Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas.

#### 4.3 - Cultivo das Plantas-isca.

Para capturar os rizóbios presentes nas amostras de solo foram realizados experimentos em casa-de-vegetação, utilizando proporção de areia esterilizada e solo (1:1; 100g: 100g) (RUMJANEK, 1999). Foram utilizadas como plantas-isca siratro (*Macropitillium atropurpureum*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), feijão-guandu (*Cajanus cajan*) e mimosa (*Mimosa pudica* L.).

Foram consideradas três repetições para cada amostra de solo, de modo a oferecer representatividade para cada amostra coletada. As sementes dessas plantas foram previamente lavadas com etanol (100%; 30 segundos) para reduzir a tensão superficial das sementes, seguida de desinfestação superficial com peróxido de hidrogênio (5%; 3 minutos) e 10 lavagens sucessivas com água esterilizada. As sementes de plantas-isca livres de contaminantes foram semeadas nos vasos (300 mL) previamente preparados. A irrigação foi realizada com água esterilizada, quando necessário, e os nutrientes foram fornecidos semanalmente através de 250 ml.vaso<sup>-1</sup> da solução nutritiva Norris e Döbereiner: KCl (2mM); K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,3mM); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,7mM); CaSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,3μM); ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,7μM); MnSO<sub>4</sub> (1μM); (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O (0,002μM); H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (11,5μM); FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (17,9μM); C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> (26μM). Os nódulos foram coletados por volta de 40 dias após a semeadura e estocados em sílica gel a temperatura ambiente.

#### **4.4 - Caracterização cultural de estirpes de rizóbio.**

Os nódulos obtidos no campo e das plantas-isca foram reidratados por 1 h, lavados com etanol (100% por 30 s) a fim de reduzir a tensão superficial, em seguida, foi realizada desinfestação superficial com hipoclorito de sódio (5%, 4 min) e lavagens sucessivas com água destilada estéril. Em seguida, os nódulos foram macerados e se realizou a riscagem das estrias na superfície da placa de Petri, contendo meio de cultura 79 com indicador Vermelho-Congo.

Para a obtenção de colônias puras de rizóbios a caracterização cultural foi realizada em meio 79 com corante Vermelho-Congo, que é um meio com a presença de um corante com propriedades fungicidas que facilita a diferenciação dos contaminantes e dos rizóbios, uma vez que, rizóbios são incapazes de absorver o corante presente no meio, apresentando uma coloração que varia de branco a levemente rosado. As placas foram incubadas à 28°C até o aparecimento de colônias, nesta etapa foram repicadas e novamente incubadas.

Posteriormente a obtenção de colônias puras de rizóbios, em meio 79 com indicador Vermelho-Congo, se realizou a riscagem das estrias na superfície da placa de Petri, contendo meio de cultura 79 com indicador azul de bromotimol (0,5%) (FRED; WAKSMAN, 1928).

As placas foram observadas do primeiro dia após o plaqueamento até o aparecimento de colônias isoladas. As características culturais avaliadas em meio 79 para a caracterização cultural, foram tempo de crescimento em dias para visualização das colônias; O tempo de crescimento das colônias é um fator de extrema importância, uma vez que funciona como resposta às adversidades do meio ambiente. Vincent (1970) caracterizou e diferenciou o tempo de crescimento das colônias em rápido – crescimento moderado e abundante entre 03 e 05 dias, lentas – colônias com pouco crescimento em 05 dias e moderado em 10 dias. No presente estudo foram utilizados parâmetros diferentes: colônias de crescimento rápido – de 01 a 02 dias, crescimento médio - 03 a 04 dias, e crescimento lento – 05 dias ou mais.

Modificação do pH pela alteração da coloração do meio 79 para diferenciá-las, se amarelo – ácidas; verde – neutras, e se azul ou sem cor – alcalinas; As placas contendo meio 79 (FRED; WAKSMAN, 1928) apresentam pH em torno de 6,8 e coloração verde, a resposta deste meio ao metabolismo das colônias indicam em geral o modo de utilização dos açúcares pelo metabolismo microbiano. Uma vez que rizóbios de

crescimento rápido tendem a acidificar o meio alterando a cor para amarelo, os de crescimento lento alterando para azul, é comum que não ocorra alteração do pH do meio, quando o mesmo se mantém verde, sem influência do tempo de crescimento.

A coloração das colônias, que varia de branco a tons de amarelo devido à absorção do indicador de pH (azul de bromotimol); diâmetro das colônias (mm) quando isoladas; borda (inteira ou irregular); aparência da colônia (homogênea ou heterogênea); forma (circular ou irregular) e transparência (translúcida ou opaca). O muco produzido pelas células foi avaliado pelos aspectos: quantidade (muito ou pouco - avaliação visual) e do muco da superfície do meio de cultivo e elasticidade (sim ou não), determinado pela aderência à alça de platina depois da remoção observada pela formação ou não de fio, no momento da remoção das colônias do meio de cultura (VINCENT, 1970). O diâmetro das colônias dos isolados é um ponto importante, uma vez que se relaciona com outras características culturais das colônias como a presença ou ausência de muco. Segundo Fuhrmann (1990) há três tipos de colônias possíveis de serem descritas em meio 79: pequena e seca, grande ou mucóide, ou aquosa.

Em geral, colônias com pouca ou sem formação de muco relacionam-se com isolados de diâmetro puntiforme. Neste estudo, o diâmetro puntiforme é o que concentra maior número de isolados, independente da velocidade de crescimento. Já os isolados de diâmetro maior, em torno de 1,0 mm podem vir a ser relacionados de acordo com a transparência, isto é, se são opacos ou translúcidos.

Segundo Martins et al. (1997), as colônias com diâmetro inferior a 1,0 mm costumam ser translúcidas e produzem pouco muco, enquanto que aquelas maiores do que 1,0 mm são geralmente produtoras de muito muco. Por sua vez os isolados com cerca de 2,0 mm estão relacionados com grande produção de muco de consistência variável, em geral transparentes, com rápido crescimento.

A forma das colônias depende do tempo para caracterização e da consistência do muco produzido, sugerindo que colônias menores que 1,0 mm são freqüentemente puntiformes, entre 1,0 e 2,0 mm circulares e em menor proporção irregulares, e aquelas com mais de 2,0 mm apresentam forma variável. (MARTINS, 1996).

Foram anotadas informações sobre quaisquer características atípicas como coloração, forma, borda, estriado diferente dos demais.

As características avaliadas foram inseridas numa tabela identificando as amostras e suas respectivas características, estas foram agrupadas por similaridade e a partir deste ponto os dados fenotípicos coletados foram transformados em uma matriz

binária. Essas características fenotípicas e culturais apresentam a vantagem de reduzir o tempo necessário para a análise, possibilitando uma prévia da diversidade dos microrganismos isolados.

Posteriormente a obtenção de culturas puras em meio 79, estas colônias foram armazenadas sob resfriamento em tubos de ensaio e em microtubos, contendo meio 79, com adição de vaselina líquida esterilizada, como forma de impedir o fluxo de oxigênio para as culturas estocadas.

A partir dos fenótipos culturais dos isolados foi elaborada uma matriz binária de dados, para calcular a matriz de similaridade entre os isolados pelo coeficiente *de jaccard* e posteriormente, foi realizada a análise de agrupamento pelo método *Unweighted Pair-Group Method* (UPGMA) dos isolados e os resultados plotados em dendrograma. Para essa análise foi utilizado o programa Ntsys 2.0 (ROLFH, 1997).

#### **4.5 - Seleções de rizóbios tolerantes à salinidade e a altas temperaturas.**

Os isolados foram avaliados quanto à tolerância a NaCl em meio 79 (por litro: 10 g manitol; 0,1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,2 g Mg. SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,1 g NaCl; 0,4 g extrato de levedura; 5 mL sol. 0,5% em 0,2 N KOH de azul de bromotimol; 15 g Agar, pH 6,8) (FRED; WASKSMAN, 1928). Os isolados foram inoculados em 50 ml de meio 79 líquido, com pH 6,8 e essas culturas foram mantidas sob agitação orbital por 105 rpm a 28°C. Após o crescimento por três dias para estirpes de crescimento rápido ou intermediário (que acidificam, alcalinizam ou não modificam o pH do meio de cultura) e por seis dias para estirpes de crescimento lento (que alcalinizam o meio de cultura), uma alíquota de 1 ml de cultura de cada estirpe foram transferidas para microtubos de 1,5 ml esterilizados, para centrifugação a 8.000 rpm, a 25°C, por 4 minutos.

O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 1 mL de solução salina estéril (NaCl 5,5 g L<sup>-1</sup>) e centrifugadas novamente, repetiu-se o processo de lavagem das células por três vezes (NÓBREGA et al., 2004). Em seguida, alíquotas de 0,1 ml de suspensões de células lavadas de bactérias em solução salina foram inoculadas e espalhadas com alça de Drigalsky em placas com meio 79 modificado por adição de diferentes concentrações de NaCl (1%, 3%, e 5%, sendo que cada 1% representa que em 1L deve conter 10g de NaCl, 2% são 20g e assim sucessivamente), proporcionaram uma concentração final no meio de cultura de 1; 3 e 5 g L<sup>-1</sup>, Foram riscados 8 isolados por placa, com três repetições. Como tratamento-controle adicional,

foi usado o meio de cultura 79 em sua composição original, que possui  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  NaCl. Após a autoclavagem dos meios, foi aferido o pH, e este foi ajustado para 6,8 com solução de HCl  $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$  esterilizada. As culturas foram incubadas a  $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por uma semana.

Para verificar a resistência à altas temperaturas foi seguida a metodologia descrita acima. Entretanto, foi utilizado o meio 79, sendo incubadas às temperaturas de  $41 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $43 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , por um período de 48 h. Os tratamentos foram distribuídos inteiramente ao acaso, com três repetições. Para avaliar o padrão de crescimento das bactérias nas diferentes concentrações de sais e temperatura, foram atribuídos os seguintes valores (MATSUDA et al., 2002):

0 = sem crescimento;

1 = pouco crescimento;

2 = crescimento razoável, porém com distribuição heterogênea na placa;

3 = crescimento máximo, com distribuição uniforme por toda a placa;

Após a caracterização cultural, os dados foram codificados pelo programa Ntsys 2.0 (ROHLF, 1997). Para o agrupamento foi utilizado código binário de acordo com a tabela 2, onde 1, indica presença da característica e 0, ausência (Tabela 2). Utilizando distância taxonômica entre as espécies, analisadas pelo algoritmo UPGMA e a matriz de similaridade de Jaccard, obtendo-se a árvore filogenética que proporcionou a separação de grupos de isolados com maiores similaridades.



**Tabela 2:** Valores relativos às características culturais dos isolados utilizados na construção do dendrograma de similaridade.

CARACTERÍSTICAS	CÓDIGO CORRESPONDENTE	PRESENÇA	AUSÊNCIA
<b>pH</b>	Alcalino	1	0
	Neutro	1	0
	Ácido	1	0
<b>Velocidade de crescimento</b>	Lento	1	0
	Médio	1	0
	Rápido	1	0
<b>Diâmetro das colônias</b>	Puntiforme	1	0
	<1	1	0
	1	1	0
	>1	1	0
	2	1	0
	<2	1	0
<b>Elasticidade</b>	>2	1	0
	Nenhuma	1	0
	Pouca	1	0
	Media	1	0
	Muita	1	0
<b>Cor</b>	Branco	1	0
	Amarelo	1	0
	Bege	1	0
	Ovo	1	0
	Laranja	1	0
	Translúcido	1	0
<b>Tipo de borda</b>	Inteiro	1	0
	Filamentoso	1	0
	Irregular	1	0
	Denteado irregular	1	0
	Lobado	1	0
	lobado denteado	1	0
	denteado	1	0
<b>Quantidade de muco</b>	Nenhum	1	0
	Pouco	1	0
	Médio	1	0
	Muito	1	0
<b>Elevação</b>	Convexo	1	0
	plano	1	0
	Pulviforme	1	0
	Elevado	1	0
	Umbonado	1	0

Uma vez agrupados foram calculados os índices de diversidade dos isolados através do Software Ntsys para estimativa da diversidade e riqueza de espécies. Foram calculados os índices de:

Diversidade de Shannon-Weaver (1948)

$$H' = - \sum p_i \text{Log } p_i$$

Onde:  $p_i$  é a proporção da espécie em relação ao número total de espécimes (isolados) encontrados nos levantamentos realizados.

O índice de diversidade de Shannon-Wiener: considera igual peso entre as espécies raras e abundantes (MAGURRAN, 1988).

$$H' = \frac{\left[ N \cdot \ln(N) - \sum_{i=1}^S n_i \ln(n_i) \right]}{N}$$

em que:

$N$  = número total de indivíduos amostrados;

$n_i$  = número de indivíduos amostrados da  $i$ -ésima espécie;

$S$  = número de espécies amostradas;

$\ln$  = logaritmo de base neperiana ( $e$ ).

Quanto maior for o valor de  $H'$ , maior será a diversidade da comunidade em estudo. Este índice pode expressar riqueza e uniformidade.

**Pielou ( $J'$ ):**

Equabilidade de Pielou (1983):

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

em que:

$J'$  = índice de Equabilidade de Pielou;

$H'_{max} = \ln(S)$  = diversidade máxima;

$S$  = número de espécies amostradas = riqueza.

O índice de Equabilidade pertence ao intervalo  $[0,1]$ , onde 1 representa a máxima diversidade, ou seja, todas as espécies são igualmente abundantes (MONTEIRO, 2006).

Para o referido estudo, a colônia isolada foi considerada em relação ao total de colônias obtidas para possibilitar o cálculo dos índices de diversidade e equitabilidade.

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.

### 5.1 – DIVERSIDADE CULTURAL DE RIZÓBIOS.

#### 5.1.1 - Correlação entre plantas nativas e plantas-isca na formação do nódulo.

Na área de estudo as espécies encontradas *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb)Altschu (Angico), *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Stend (Mororó), *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Catingueira), *Erythrina velutina* Willd. (Mulungu), *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (Sabiá), *Minosa acustistipula* (Mart.) Benth (Jurema-branca), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Jurema-preta), *Amburana Cearensis* (Allemão) A.C. Smith (Emburana). (Tabela 3).

Destas, a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir), se destacou por ser uma arvoreta extremamente rústica, geralmente de 4 metros de altura, folhas forrageiras e caule fornecedor, de madeira para estacas, lenha e carvão de excepcional qualidade, árvore característica da caatinga nordestina, encontrada do Ceará à Bahia (BRAGA, 1960).

Em relação às espécies estudadas na Serra das Almas somente foi observada a nodulação em campo na espécie sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*), e limitada à estação chuvosa. O sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) é uma leguminosa mimosoidea de grande utilidade no Nordeste (BRAGA, 1960; TIGRE, 1976; CORRÊA; PENA, 1978; COSTA, 1988).

Segundo Rizzini e Mors (1976), o sabiá é uma árvore pequena, atingindo uma altura de 7 a 8 m, que vegeta espontaneamente do Maranhão até a Bahia, sendo cultivado devido ao rápido crescimento e valor de sua madeira. Largamente utilizada no Nordeste brasileiro como produtora de mourões, estacas, lenhas, e carvão. É uma das essências florestais nativas mais importantes do semiárido brasileiro (MENDES, 1989). Destaca-se a sua importância nos plantios florestais em áreas degradadas, visando-se à recuperação. As sementes de sabiá apresentam problemas de dormência, provavelmente, por impermeabilidade do tegumento a água (RIBEIRO et al., 2008).

Souza et al. (2007) avaliando o desenvolvimento e a nodulação natural de mudas de leucena (*Leucaena leucocephala*), palheteira (*Clitoria fairchildiana*) e sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*), em solos da zona da Mata de Pernambuco com diferentes formas de uso da terra: mata, áreas agrícolas e áreas degradadas obtiveram como resultado que

palheteira apresenta o maior potencial para fixação de N<sub>2</sub> e eficiência da nodulação com populações nativas de rizóbios de solos da zona da mata de Pernambuco, seguida por sabiá e leucena e que a frequência de populações nativas de rizóbios compatíveis com leucena é baixa, comparado às compatíveis com palheteira e sabiá.

Vasconcelos; Almeida (1980) verificaram a capacidade de fixação biológica de nitrogênio de espécies arbóreas de Leguminosas nativas da caatinga pernambucana. Esses autores verificaram a presença de nódulos em *Mimosa arenosa*, *Mimosa caesalpinifolia*, *Mimosa tenuiflora*, *Anadenanthera columbrina*, *Mimosa acustistipula* e *Piptadenia stipulaceae* (Benth.) Duck, *Bauhinia cheilanta*, corroborando os dados obtidos neste estudo, onde todas as espécies nativas apresentaram populações viáveis de rizóbio no solo, capturados pelo cultivo de plantas-isca feijão-caupi, feijão guandu, siratro e mimosa.

Moreira et al., (1993) e Moreira (1991) ao avaliarem características culturais de 705 estirpes de rizóbios isolados de leguminosas florestais nativas da Amazônia e da Mata Atlântica obtiveram em meio 79 os seguintes resultados: de um total de 705 estirpes, 64 foram referentes à *Caesalpinioideae* com 67% apresentando crescimento intermediário, geralmente acidificantes ou alcalinizantes no caso de *Azorhizobium* e *Bradyrhizobium*. Para *Mimosoideae* das 444 estirpes 40% apresentaram crescimento rápido, geralmente acidificantes, e 36% crescimento lento, alcalinizantes. Para *Papilonoideae*, dos 197, 53% apresentaram crescimento lento e alcalinizante.

Norris (1965) concluiu que em zonas tropicais haveria predominância de estirpes de crescimento lento alcalinizantes (*Bradyrhizobium*) e em áreas temperadas predominância de estirpes com crescimento rápido e acidificantes (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium* e *Allorhizobium*), Estes dados, entretanto, não corroborados no atual estudo, uma vez que a maior parte dos isolados apresentou crescimento rápido em até 2 dias.

**Tabela 3:** Observação da formação de nódulos em plantas-iscas a partir de solo rizossférico e nódulos coletados de espécies leguminosas nativas de acordo com a estação na RPPN da Serra das Almas.

Espécie	Amostra de solo	Nodulação em planta-isca							
		Estação seca				Estação chuvosa			
		Feijão-caupi	Feijão-guandu	Siratiro	Mimosa	Feijão-caupi	Feijão-guandu	Siratiro	Mimosa
<b>Nódulo</b>	-	x	o	o	o	x	o	o	o
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	1	x	o	x	o	x	x	x	x
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	2	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Mimosa acutistipula</i> (Jurema-branca)	3	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-Preta)	5	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	6	x	x	x	x	x	x	x	o
<i>Mimosa acutistipula</i> (Jurema-branca)	7	-	-	-	-	x	x	x	x
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	8	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	9	x	x	x	x	x	x	x	o
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	10	-	-	-	-	x	x	x	x
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	11	x	x	x	x	x	x	x	o

Sinal (x) indica formação de nódulo; sinal (o) indica ausência de formação de nódulo.  
(-) indica ausência da planta.

A importância das espécies arbóreas ou arbustivas fixadoras de nitrogênio atmosférico pode ser evidenciada em sistemas agroflorestais, agropastoris, programas de recuperação de áreas degradadas, função produtiva e ou protetora (GONÇALVES, 2009).

A simbiose leguminosa-rizóbio é uma das interações mais estudadas entre eucariotos e procariotos. Contudo, a maior parte das informações deriva de estudos envolvendo plantas de clima temperado, produtora de grãos e seus simbiontes. Porém novas avaliações em ecossistemas naturais, particularmente nos trópicos, têm demonstrado grande diversidade de simbiontes, alguns dos quais com propriedades bem distintas (REIS JÚNIOR et al., 2006). A capacidade de nodular e formar simbiose com bactérias fixadoras de  $N_2$  é mais freqüente entre as subfamílias *Mimosoideae* e *Papilionoideae* (feijão-caupi) e pouco freqüente nas *Caesalpinioideae* (BARBERI et al., 1998). O genótipo da planta, por exemplo, pode desempenhar um papel essencial na seleção da estirpe (PAFFETTI et al., 2004). A definição da faixa hospedeira é bastante variável entre as espécies de rizóbio e leguminosas, mas de modo geral tem sido observada especificidade simbiótica entre as espécies (SMITH; GOODMAN, 1999).

Os rizóbios de leguminosas selvagens são um grupo de simbiontes que ganhou importância a partir da década de 1990, sendo isolados de diversas árvores e arbustos nativos em áreas não cultivadas principalmente de zonas áridas de nações em desenvolvimento, onde a maioria destes simbiontes apresentam grande diversidade (ZAHARAN, 2001). Muitos destes microssimbiontes estão intimamente associados com muitos parceiros, onde poucos são seletivos ou específicos e desta forma Perret et al., (2000) sugeriram ainda que microssimbiontes com pequena faixa de hospedeiros estão limitados a nichos específicos a representam uma especialização de microssimbiontes ancestrais mais promíscuos e dispersos.

Há alguns anos acreditava-se que leguminosas eram noduladas exclusivamente por membros das alfa-proteobactérias (Reis Júnior et al., 2006), e na última década membros de Beta-proteobactérias foram descobertos em nódulos de leguminosas tropicais e passaram a ser denominados Beta-rizóbios (MOULIN et al., 2002). As proteobactérias constituem o maior e mais diverso grupo de bactérias cultivadas, sendo subdivididos em alfa, beta, gama, delta e epsilon (BROCK et al., 1994).

Moulin et al., (2002) descobriram em nódulos de leguminosas tropicais o gênero de *Burkholderia*. A partir deste ano houve um número crescente de estudos que constataram novas estirpes nodulíferas pertencentes a classe das beta-proteobactéria (CHEN et al., 2001, 2003,2007 BARRET; PARKER, 2005). Ainda segundo Moulin et al., (2002) os Beta-rizóbios podem ter adquirido seus genes nod dos alfa-rizóbios via múltiplas transferências horizontais.

Barret; Parker (2005) propuseram que os Beta-rizóbios possam ser comuns em nódulos de leguminosas tropicais, afirmando que estirpes de *Burkholderia* foram isolados de nódulos de *Mimosa casta* L., *M. pellita* Kunth ex Willd, *M.pudica* L. e *Abarema macradenia* (Pittier) Barneby & Grimes no Panamá. Chen et al. (2003) apresentaram um estudo no qual 20 estirpes isoladas de nódulos de várias espécies de *Mimosa* na América do Sul foram classificadas como pertencentes ao gênero *Burkholderia* e são intimamente relacionadas com outras espécies deste gênero, como *B.caribensis*, *B. phymatum* e *B.tuberum*.

Há evidências que defendem que beta-rizóbios podem ser simbioses ativos em seus hospedeiros, assim como rizóbios, segundo dados apresentados por Chen et al. (2001) onde 94% dos isolados analisados foram classificados como beta-rizóbios ao estudar bactérias do gênero *Mimosa diplotricha* e *M. pudica*. Segundo Chen et al. (2003) demonstraram que a estirpe *C .taiwanensis* pode infectar, nodular e fixar N<sub>2</sub> em *Mimosa* spp. e Chen et al.(2007), que utilizando estirpes geneticamente modificadas de *Burkholderia* isoladas de *Mimosa* spp. da América do Sul, comprovou que bactérias deste gênero são simbioses funcionais de *Mimosa*.

Segundo dados obtidos por Gonçalves (2009) avaliando a especificidade hospedeira de estirpes de rizóbio para leguminosas florestais, obteve como resultado que espécies da tribo *mimoseae* apresentam alta especificidade, pois só nodularam com as estirpes isoladas da própria tribo, com exceções de: *Microlobius foetidus* e *Leucaena diversifolia*, *Mimosa artemisiana*, *Mimosa pellita* e *Parapiptadenia rígida*.As estirpes isoladas dos hospedeiros da tribo *Mimoseae* quando testadas a sua capacidade de associação com hospedeiros de tribos distintas se mostraram incapazes de promover a nodulação e/ou serem pouco eficientes na FBN, no entanto quando em associação com macrossimbioses da própria tribo estas estirpes se mostraram muito eficientes na FBN.

Ainda segundo Gonçalves (2009), os hospedeiros das tribos *Phaseoleae*, *Milletieae*, *Acacieae* e *Ingeae* apresentam uma grande promiscuidade às estirpes de rizóbio de várias tribos testadas, sendo a promiscuidade das tribos *Phaseoleae* e *Milletieae* em maior grau que as demais. Este fato pode estar relacionado à evolução dentro da família *Leguminosae*, onde são consideradas entre as mais “evoluídas”.

Kiers et al. (2008) defenderam que simbioses mutualísticas englobam uma vasta gama de interações entre diversos grupos de organismos, e a simbiose entre Leguminosas e rizóbios é um caso clássico de relação mutualística, que ocorre pela troca de carboidratos fornecidos pela planta por nitrogênio fornecido pela bactéria,

entretanto, a manutenção desta relação cooperativa impõe um dilema á teoria evolucionária, que procuraria explicar porque esta simbioses se mantém, se os recursos poderiam ser obtidos da mesma forma através da exploração do mutualismo.

Kiers et al. (2008) defenderam uma idéia recente que afirma que a cooperação entre espécies pode ser reforçada se indivíduos são hábeis em recompensar ativamente a cooperação ou punir comportamentos menos cooperativos, ainda segundo Deninson, (2000), esta definição pode ser chamada de “sanções”, conceitualmente análogo a mecanismos de policiamento que tem sido demonstrados para estabilizar cooperações entre espécies (RATNIEKS et al.,2001).

A subfamília *Mimosoideae* é altamente específico, variado e difundido em várias regiões do continente Americano e de Taiwan (CHEN et al., 2003; 2007; BARRETT & PARKER, 2005). Considerando seu tamanho e sua importância ecológica potencial, existem ainda poucos estudos sobre o processo de nodulação e de fixação biológica do nitrogênio associado a *Mimosa* spp., exceto para as espécies hoje utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas como *M. caesalpinifolia* e *M. scabrella* (FRANCO; FARIA,1997). O porte das plantas de *Mimosa* spp. varia de árvores altas, arbustos e ervas, suas espécies ocupam grande variedade de habitats, do seco ao úmido (REIS JÚNIOR et al., 2006).

Os resultados obtidos demonstram o potencial de elevada diversidade de rizóbios na área estudada, uma vez que foi observada nodulação na maioria das espécies de plantas-iscas relativas às plantas nativas em ambas as estações. Segundo Allen; Allen (1981) e Faria et al. (1989) que afirmam que a nodulação é mais freqüente entre espécies de *Papilionoideae* (mulungu e cratília) e *Mimosoideae* (unha de gato, sabiá, jurema preta, angico, jurema branca e amorosa), sendo rara em espécies pertencentes à subfamília *Caesalpinoideae* (caso do mororó e canafístula), definindo as espécies de *Papilionoideae* e *Mimosoideae* como de alta relevância no ambiente semiárido nordestino, uma vez que apresentam maior potencial na formação de nódulos. Plantas do gênero *Acacia* agem como pioneiras, desempenhando papel importante na preservação e fertilidade de solos erodidos (ZAHNAN, 2001).

O N<sub>2</sub> atmosférico fixado (medido como percentual do nitrogênio total) por espécies como *Albizia*, *Clyricidia* e *Leucaena*, atingem valores de 28 a 72%, 44 a 84% e 20 a 74% respectivamente (KADIATA et al., 1996). Enquanto algumas árvores leguminosas podem fixar entre 43 a 581 Kg N por hectare comparado com cerca de 15 a 210 kg por hectares de leguminosas graníferas (DAKOTA; KEYA,1997a).



O alto grau de endemismo (QUEIROZ, 2002) e a importância quantitativa das leguminosas na caatinga (ARAÚJO et al., 2002) permitem afirmar que o conhecimento sobre o status de nodulação das espécies nativas deste bioma é insuficiente, o que reforça a necessidade de posteriores estudos.

A prospecção de nodulação natural de espécies arbóreas, em solos locais, associada a um programa de prospecção de novas estirpes, com posterior aplicação de testes de eficiência agrônômica com estirpes potenciais e estirpes recomendadas, são importantes para a definição de quais espécies podem ser plantadas para a recuperação de áreas alteradas (SOUZA et al., 2007).

### **5.1.2 - Isolamento cultural de estirpes de rizóbio.**

Foram obtidos 776 isolados, a partir de experimentos com quatro plantas-isca: feijão-caupi, feijão-guandu, siratro e mimosa, caracterizados em meio 79. Alguns nódulos apresentaram características culturais distintas no mesmo pH em que foram isolados.

Do total de 776 isolados foram obtidos 278 isolados de feijão-caupi com características típicas de rizóbio, onde 156 isolados referentes à planta-isca cultivada em solo rizosférico coletado na estação chuvosa e 122 de solo rizosférico coletado na estação seca. De feijão-guandu foram obtidos 190 isolados, onde 64 da estação seca e 126 da estação chuvosa. De siratro foram obtidos 152 isolados, onde 90 foram da estação seca e 62 da chuvosa. Por fim 146 isolados de mimosa, onde 66 da estação seca e 80 da chuvosa. A caracterização dos isolados, de acordo com a característica cultural das colônias, permitiram encontrar diferenças significativas que serviram para o agrupamento dos mesmos.

Assim como o feijão comum e feijão-caupi, o guandu é considerado como uma leguminosa promíscua, ou seja, apresentando a capacidade de formar nódulos com uma gama muito grande de bactérias (FERNANDES JÚNIOR, 2009). Além da nodulação, diferentes cultivares de feijão-guandu podem se associar com diferentes bactérias rizosféricas solubilizadoras de fósforo (SOUCHIE; ABOUD, 2007).

D e acordo com Marra (2009), as características culturais das espécies bacterianas pertencentes à família Rhizobiaceae, fornecem informações importantes para sua identificação e agrupamento. Já Furhmann (1990) enfatizou que a caracterização cultural das colônias é um fator importante na previsão da eficiência simbiótica em

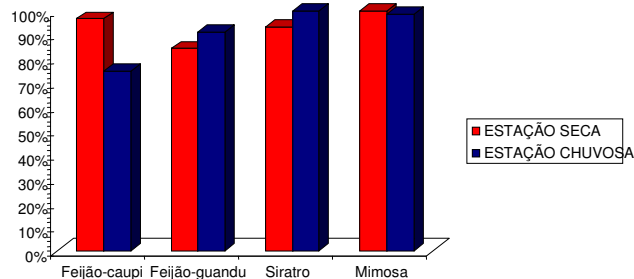
isolados que nodulam soja, uma vez que as características discutidas estão na maioria das vezes correlacionadas, levando a um maior entendimento e possibilidades de discussão.

## **5.2 - Caracterização cultural de estirpes de rizóbio.**

### **Velocidade de crescimento.**

Foi observado que cerca de 96,7% dos nódulos isolados referentes à planta-isca feijão-caupi formaram colônias em até 02 dias de crescimento a 28°C durante a estação seca, e 75% durante a estação chuvosa, caracterizando estirpes de crescimento rápido, resultados semelhantes foram obtidos por Chagas Junior (2007), que ao avaliar, em feijão-caupi as diferenças entre 20 isolados, obteve 14 com característica de crescimento rápido e 06 de crescimento lento. Melloni et al. (2006) observaram na nodulação em feijão-caupi isolados com colônias de crescimento lento e caráter alcalinizante, entretanto, a maior parte dos estudos desenvolvidos até o momento mostra que o grupo de rizóbio que nodula feijão-caupi apresenta crescimento lento, característica do gênero *Bradyrhizobium* (ZILLI et al., 2004; 2006). Entretanto, alguns trabalhos já evidenciaram que rizóbios de crescimento rápido também são capazes de induzir nódulos em feijão-caupi (ZHANG et al., 2007).

Em nódulos isolados de feijão-guandu, foi notado maior percentual de colônias com crescimento rápido, 91,27% durante a estação chuvosa, enquanto que na estação seca apresentou 84,37%, esses dados corroboram os resultados obtidos por Fernandes Júnior (2009) após a caracterização cultural de 310 isolados, obtendo 71% de isolados com crescimento rápido. Por sua vez, em nódulos isolados de siratro e mimosa apresentaram os maiores percentuais de formação de colônias em até dois dias. Siratro apresentou 93,30% durante a estação seca e 100% durante a estação chuvosa, enquanto que mimosa apresentou 100% de formação de colônias em até dois dias durante a estação seca e 98,75% durante a estação chuvosa (Figura 4).



**Figura 4:** Percentual do tempo de crescimento de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas entre 01 e 02 dias.

Fernandes e Fernandes (2000), observaram colônias com características de rápido crescimento e acidificação do meio de cultura e grande produção de muco em 13 das 16 estirpes avaliadas, o que segundo estes autores possivelmente indica um padrão freqüente de rizóbios nativos de solos de tabuleiros costeiros capazes de nodular feijão-guandu, feijão-de-porco e feijão-caupi.

Medeiros et al. (2009) avaliaram a diversidade cultural de 304 isolados obtidos de plantas-isca de feijão-caupi em solos do Estado do Rio Grande do Norte. Todos os isolados apresentaram crescimento rápido, em apenas 01 dia, e acidificaram o meio de cultura. Leite et al. (2009) demonstraram que a maioria dos isolados (aproximadamente 70%) oriundos dos cinco cultivares de feijão-caupi estudados apresentaram crescimento rápido e reação ácida no meio 79.

Segundo Sprent (1994), rizóbios de crescimento rápido são mais comuns em regiões áridas. Esta característica constitui uma estratégia de sobrevivência, uma vez que sobreviver é mais importante que fixar nitrogênio, principalmente porque são mais tolerantes à seca do que os de crescimento lento e se multiplicam rapidamente em curto espaço de tempo úmido, o que explicaria sua maior freqüência nos solos das regiões semiáridas (SANTOS et al., 2007). Entretanto segundo Marinez-Drets e Arias (1972), a velocidade de crescimento seria também uma consequência de uma falha metabólica, uma vez que a forma de utilização da sacarose pelas colônias determina o efeito sobre o meio 79, assim, a caracterização metabólica é importante do ponto de vista prático pois fornece um método simples de identificação.

Os isolados obtidos a partir de solo rizosférico coletados no período seco apresentaram maior percentual de colônias formadas em até 02 dias, com exceção dos obtidos de siratro na estação chuvosa, que apresentaram 100% de isolados com formação de colônias em até 02 dias.

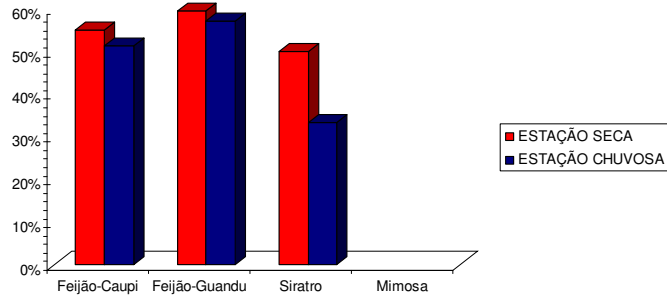
Esse resultado corrobora com os dados obtidos por Santos et al. (2007), que avaliando a diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais, obtiveram um total de 433 isolados de rizóbio, por meio de nódulos de espécies de *Arachis*, *Stylosanthes* e *Aeschynomene*, em que cerca de 90% dos isolados formaram colônias com até dois dias de crescimento, caracterizando estirpes de crescimento rápido.

Há estudos que demonstram que o grupo de rizóbio que nodula feijão-caupi apresenta crescimento lento, característica do gênero *Bradyrhizobium* (ZILLI et al., 2003). Enquanto outros autores já evidenciaram que rizóbios de crescimento rápido também são capazes de induzir nódulos em caupi (ZHANG et al., 2007). Figueiredo et al. (1996) que mostraram que a ocorrência de rizóbio de crescimento lento ou rápido parece estar relacionada com aspectos ambientais, como adaptabilidade ao clima, solo e espécies vegetais.

### **O metabolismo das colônias em meio 79**

Em nódulos de feijão-caupi e feijão-guandu, os isolados não seguiram a tendência dominante de alterar a coloração, de verde para amarelo, em relação ao pH do meio, mesmo com crescimento rápido, mantendo o meio neutro.

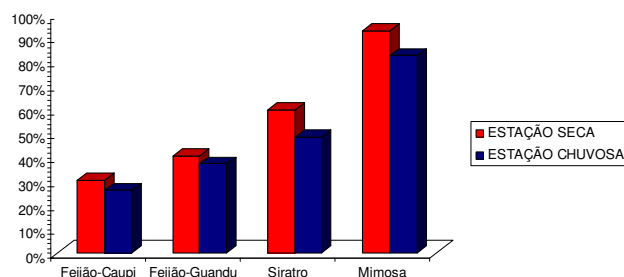
A maior parte dos isolados de feijão-caupi demonstraram a capacidade de neutralizar o meio de cultura. Esta característica estava presente em 54,09% dos isolados de feijão-caupi durante a estação seca e em 51,28% durante a estação chuvosa, característica também observada na planta-isca de feijão-guandu que apresentou formação de 59,37% de colônias com característica alcalina na estação seca e 57,14% na estação chuvosa (Figura 5). Fernandes Júnior (2009), caracterizando fenotípicamente e a produção de biopolímeros por bactérias isoladas de nódulos de guandu, observou que com relação à alteração do pH do meio, a maioria dos isolados (59%) apresentou crescimento ácido, enquanto os isolados de crescimento alcalino ou neutro apresentaram um quantitativo de 25 e 16%, respectivamente. Silva et al. (2007), ao avaliarem a formação de ácido e álcalis, na caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semiárida de Pernambuco, verificaram que de 09 isolados, apenas 02 apresentaram reação neutra; outros 02 ácida, e o restante apresentaram reação alcalina.



**Figura 5.** Percentual de colônias neutralizantes do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas entre estações seca e chuvosa.

A habilidade de alcalinizar o meio pode representar uma vantagem seletiva em relação à temperatura, porque em geral solos tropicais são tipicamente ácidos. Ao avaliar as características dos isolados de diferentes regiões do Nordeste brasileiro, Martins (1996) observou que os isolados que não alteravam o pH do meio são mais frequentes nas áreas do Sertão, onde os solos apresentam maior tendência a variar de neutros a alcalinos.

Porém, nas demais espécies avaliadas, foram observados maiores percentuais de acidificação do meio, com siratro apresentando 60% de acidificação na estação seca e 48,40% na estação chuvosa, e mimosa, com 100% colônias ácidas na estação seca e 98,75% na estação chuvosa (Figura 6). Os dados obtidos corroboram os de Chagas Junior (2007) que teve como resultado de seu estudo de caracterização agrônômica e ecológica de rizóbios isolados de solos ácidos e de baixa fertilidade da Amazônia, que a quase totalidade de isolados com reação ácida ao meio, 19 de um total de 20 isolados. Foi observado que algumas estirpes com crescimento rápido inicialmente alcalinizavam o meio, porém após alguns dias o meio de cultura tornava-se ácido.



**Figura 6:** Percentual de colônias acidificantes do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas entre estações seca e chuvosa.

A análise química das amostras de solo (Tabela 4) coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas em Crateús-Ceará confirma a predominância de solo pobre com características ácidas (UFC, 1993).

**Tabela 4.** Análise de solo rizosférico dos pontos de coleta na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús-Ce.

Amostra	P	K	Ca	Mg	Na	C	Al	E CaCO <sub>3</sub>	pH H <sub>2</sub> O	pH KCl
	mg/kg	cmolc/kg	cmolc/kg	cmolc/kg	cmolc/kg	g/kg	Cmolc/kg	g/kg		
1	0,51	0,26	1,00	0,90	0,46	7,50	0,35	22,00	4,93	4,20
2	1,67	0,34	4,75	0,70	0,31	15,90	0,10	33,00	6,33	5,53
3	0,74	0,30	1,40	1,45	0,31	12,42	0,10	32,00	5,50	4,53
4	0,88	0,36	2,50	0,85	0,29	10,14	0,15	29,50	5,33	4,62
5	0,88	0,31	1,95	3,15	0,30	15,42	0,20	28,00	5,51	4,61
6	1,77	0,32	3,75	2,05	0,36	14,88	0,10	33,75	5,20	4,82
8	4,45	0,30	5,50	2,45	0,30	16,20	0,10	46,50	6,74	6,03
9	4,19	0,29	5,95	2,10	0,35	16,62	0,05	30,50	6,60	5,96
11	2,01	0,40	5,10	2,25	0,35	16,62	0,05	30,50	6,19	5,49

Em relação às concentrações de Ca (cmolc/kg) no solo há predominância de valores que variaram de médio a altos teores. Entretanto a presença de altos teores de salinidade afetam a absorção deste elemento, prejudicando a emergência e crescimento das raízes e reduz potencialmente os pontos de infecção da bactéria (BOUHMOUCH et al., 2004), além disso a salinidade reduz as concentrações dos cátions (Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, K<sup>+</sup>) na parede celular em *Phaseolus vulgaris* (BIGOT et al., 1983).

Os dados relativos ao K (cmolc/kg) e ao P (mg/kg) apresentam baixas concentrações. Avaliando as concentrações de Al (cmolc/kg) as amostras indicam baixas concentrações deste elemento no solo, apresentando-se como fator positivo na área uma vez que concentrações tóxicas de Al ocorrem em diversos solos intemperizados dos trópicos e afetam todas as etapas da FBN, contudo, existe variabilidade entre estirpes de rizóbio quanto à tolerância a temperaturas elevadas e ao Al tóxico (HUNGRIA; VARGAS, 2000). Em relação ao Mg (cmolc/kg) há variações de média a altas concentrações com predominância de altas concentrações deste elemento no solo. Em relação ao pH, o solo da área pode ser caracterizado como ácido.

Uma questão importante ao se tratar de Al e pH é que estes podem diminuir a população de rizóbios que fixam o nitrogênio, solubilizam fosfatos pouco solúveis e aumentam a disponibilidade do fósforo em sistemas produtivos (HARA; OLIVEIRA,

2005). Porém algumas estirpes podem desenvolver mecanismos de tolerância a esses fatores estressantes (WATKIN et al., 2000).

No Brasil, aproximadamente nove milhões de hectares são afetados pela presença de sais, cobrindo sete Estados. A maior área afetada está localizada no Estado da Bahia (44% do total), seguido pelo Estado do Ceará, com 25% da área total do País com presença de solos salinos (GHEYI; FAGEIRA, 1997). O excesso desses sais no solo afetam suas propriedades físicas e químicas, pois o  $\text{Na}^+$  aumenta a espessura da dupla camada iônica difusa, proporcionando a expansão das argilas e, conseqüentemente, reduzindo a porosidade e a permeabilidade do solo (FASSBEIDER; BORNEMUZA, 1987).

A presença de excesso de sais de sódio no solo também provoca a redução generalizada do crescimento das plantas cultivadas com sérios prejuízos para a atividade agrícola. A redução no crescimento é consequência de respostas fisiológicas, incluindo modificações no balanço de íons, potencial hídrico, nutrição mineral, fechamento estomático, eficiência fotossintética e alocação e utilização de carbono (FLOWER et al., 1986; BETHKE; DREW, 1992).

Além do que o excesso de sais no solo reduz a disponibilidade de água para as plantas, além de ocasionar toxicidade por íons tóxicos específicos, afetando o rendimento e a qualidade da produção (ALENCAR et al., 2003). Andrade et al. (2002) alertam para se evitar o aumento gradual dos íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Cl}^-$  na solução do solo, os quais estão diretamente relacionados com a sodicidade, a salinidade do solo e os efeitos tóxicos nas culturas.

A simbiose leguminosa-rizóbio e a formação de nódulos são mais sensíveis à salinidade ou ao estresse osmótico que os rizóbios (ZAHARAN, 1991). Rizóbios de vida livre variam na resposta ao estresse salino, enquanto o crescimento de vários rizóbios é inibido a 100 mM NaCl, outros como *Rhizobium meliloti* apresentam tolerância entre 300 a 700 mM de NaCl (EMBALOMATIS et al., 1994). Isto é devido à osmoadação de muitos microrganismos, que envolve a acumulação de íons de K e um ou mais solutos orgânicos de baixa massa molecular, chamados de solutos compatíveis (WELSH, 2000).

Estes solutos são acumulados em elevadas concentrações intracelulares, com a intenção de balancear a pressão osmótica do meio e manter o turgor da celular. Rizóbios osmotolerantes podem utilizar eficientemente uma ampla gama de substâncias osmoprotetoras, como glutamato (YAP; LIM, 1983), quando expostos a altas taxas de

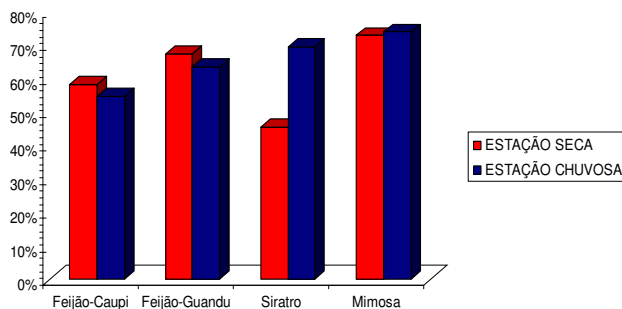
salinidade dependendo da disponibilidade dos mesmos no ambiente (SMITH et al., 1994; ZAHRAN et al., 1997). Além da mudança na resposta fisiológica das células à salinidade com a mudança no padrão de síntese de exopolissacarídeos e lipolissacarídeos (ZAHRAN, 1992).

Com a utilização do meio 79 pode-se observar a diferença biológica entre rizóbios de crescimento lento e rápido, uma vez considerando-se que essas diferentes respostas do meio de cultura sejam relacionadas com as diferenças biológicas e que permitam uma modelagem mais eficiente da simbiose, uma vez que os rizóbios podem ser divididos em três tipos em relação à mudança de pH do meio 79: acidificantes, neutros e alcalinizantes (MARTINS, 1996).

### Coloração das colônias.

O desenvolvimento de maior número de colônias de coloração amarela foi observado em todas as plantas-isca, em detrimento de isolados com coloração branca, rosa, ou alaranjada (Figura 7). Em feijão-caupi foi observado formação de 58,20% de colônias de coloração amarela durante a estação seca e 54,49% durante a chuvosa; em feijão-guandu foi obtido percentual maior, 67,18% durante a estação seca e 63,49% durante o período chuvoso; em siratro a maior presença de colônias amarelas foi observada durante a estação chuvosa com 69,35%, e por fim, mimosa destacou-se com maior presença dessa característica, com 72,72% durante a estação seca e 73,75% durante a estação chuvosa.

Esses resultados diferiram de Silva et al. (2007), uma vez que as colônias observadas, em seu estudo já citado no texto, apresentaram coloração branco leitosa.



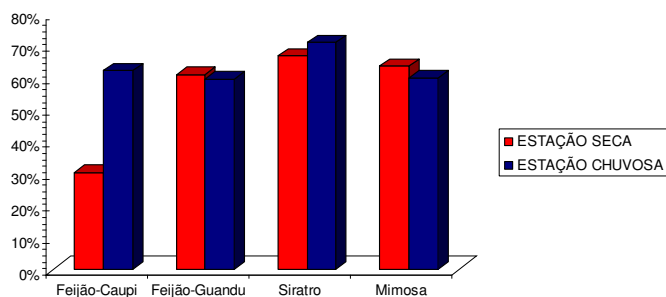
**Figura 7.** Percentual de colônias de coloração amarela do meio obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas entre estações seca e chuvosa.



## Diâmetro das colônias

A caracterização quanto ao diâmetro das colônias com a planta-isca feijão-caupi observou-se presença de colônias com diâmetro <1,0 mm em 42,60% dos isolados durante a estação seca, enquanto que na estação chuvosa foi maior presença de colônias puntiformes, 62,18%, em relação a apenas 30,33% durante a estação seca relacionado às colônias que não formam muco. Em feijão-guandu foi observado percentual semelhante tanto na estação seca quanto na chuvosa de colônias puntiformes, 60,23% durante a estação seca, e 59,52% durante a chuvosa, também relacionadas com a característica de não formação, ou pouca formação de muco. As colônias <1,0 mm foram às seguintes mais presentes, com 23,44% na estação seca e 26,19% na chuvosa.

Em siratro, 70,97% das colônias da estação chuvosa apresentaram característica puntiforme, enquanto que na estação seca foi observado 66,70% com essa característica. Em mimosa, 63,63% das colônias apresentaram essa característica com maior percentual na estação seca, semelhante á estação chuvosa com 60% das colônias puntiformes (Figura 8).



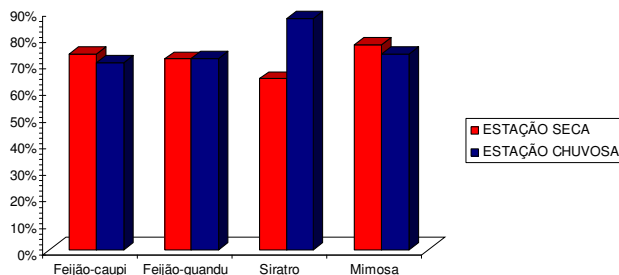
**Figura 8.** Percentual de colônias com diâmetro puntiforme obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas entre estações seca e chuvosa.

## Tipo de borda e elevação das colônias.

A análise do tipo de borda formada pelas colônias apresentou uma marcante dominância de formação de bordas inteiras em todas as plantas-isca, em feijão-caupi 73,77% durante a estação seca e 70,50% na chuvosa; em feijão-guandu, 71,87% na estação seca e 72,22% na chuvosa; em siratro 64,40% na seca e 87,10% na chuvosa e em mimosa 77,27% na seca e 73,75% na chuvosa (Figura 9). Confirmando dados de Silva et al. (2007), que ao caracterizarem e selecionarem populações nativas de rizóbios

de região semi-árida de Pernambuco observaram em todos os isolados formas circulares com elevação convexa.

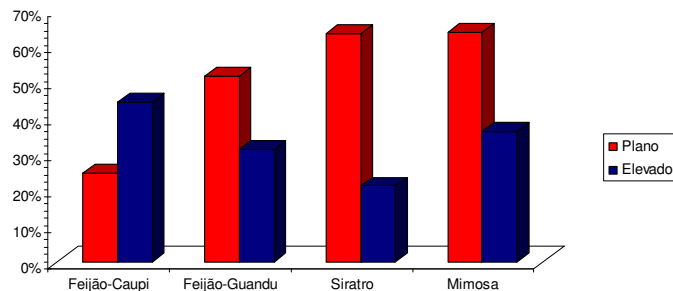
Freitas et al. (2007) ao analisarem as características fenotípicas de 24 isolados, de Jacatupé (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) cultivado em solo salino do Estado de Pernambuco, também observaram colônias circulares, de bordas inteiras, com elevação, produção variável de exopolissacarídeos, com diâmetro variando de 1 a 4 mm e cor branca.



**Figura 9.** Percentual de colônias com bordas inteiras obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas entre estações seca e chuvosa.

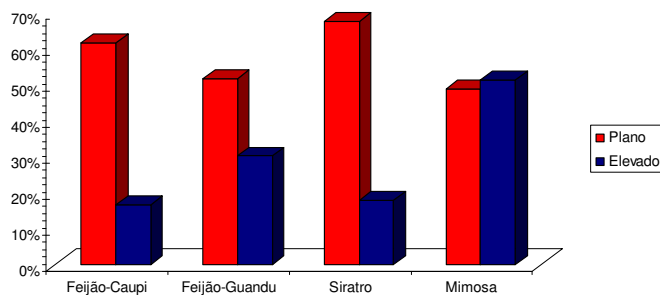
Observando-se a elevação apresentada pelas colônias, 61,54% apresentaram a característica plana em planta-isca feijão-caupi durante a estação chuvosa, em geral, esse parâmetro relaciona-se com a pouca produção ou ausência de muco, comparativamente essa característica se mostrou mais expressiva nas colônias formadas durante a estação chuvosa em todas as plantas-isca, com exceção de mimosa. Coutinho et al. (1999\_b) sugeriram que a produção de muco representaria um mecanismo envolvido no processo de adaptação e sobrevivência. Já Batista et al. (2007) observaram tendência de incremento na produção de muco por isolados de *Bradyrhizobium*, como reflexo da adaptação a condições de solos ácidos no cerrado brasileiro.

Ainda analisando os isolados de feijão-caupi foi observado em 44,26% a formação de muco com característica elevada durante a estação seca. Outro tipo de elevação mais presente foi convexo 29,51% durante a estação seca (Figura 10).



**Figura 10.** Percentual de colônias com tipo de elevação do muco plano e elevado obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.

Em nódulos isolados de feijão-guandu foi observado maior percentual também de colônias planas, semelhante tanto na estação seca quanto chuvosa, em torno de 51%, seguido de colônias com característica elevada, 31,25% na estação seca. Em nódulos isolados de siratro, esse padrão se repetiu, com maior presença de colônias com característica plana durante a estação chuvosa 67,44%, e 63,30% na estação seca. Por sua vez, em mimosa, 63,63% das colônias apresentaram característica planas durante a estação seca, enquanto que durante a estação chuvosa houve maior presença de colônias com característica elevada (Figura 11). Silva et al. (2007), em contrapartida avaliando 27 isolados observaram uma totalidade de isolados com elevação convexa.



**Figura 11.** Percentual de colônias com tipo de elevação do muco plano e elevado obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação chuvosa.

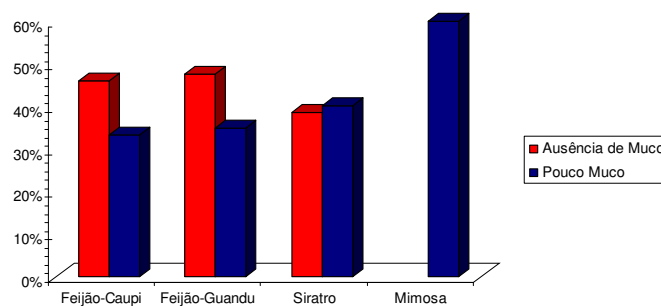
### Característica do muco

Foi encontrada relativa diversidade em relação à consistência do muco, porém essa característica não foi utilizada como diferenciador, decidiu-se dar prioridade à quantidade de muco formada pelas colônias, uma vez que a produção de muco é um fator mais importante para a sobrevivência das colônias no ambiente natural.

Em nódulos isolados de plantas-isca de feijão-caupi foi observada maior presença de colônias com formação de muco durante a estação seca, 46,72% dos isolados com formação de pouco muco, enquanto que na estação chuvosa observou-se maior quantidade colônias sem essa característica, ou seja, 46,15% sem formação de muco. Em nódulos isolados de plantas-isca de feijão-guandu houve, durante a estação seca. Os isolados de feijão-caupi, apresentaram 42,18%, tanto para formação de pouco muco, quanto para ausência de muco com na estação seca, e na chuvosa predominou a característica de ausência de muco com 47,62% das colônias (Figura 12), destoando dos dados obtidos por Fernandes e Fernandes (2000), que relataram que após 07 dias de incubação as colônias em feijão-guandu e feijão-de-corda apresentaram grande quantidade de um muco de consistência aquosa.

A característica de alta produção de exopolissacarídeos vem sendo descrita por vários autores como um mecanismo envolvido no processo de adaptação e sobrevivência dos rizóbios em distintas condições edafoclimáticas, como solos salinos (XAVIER et al., 1998). De acordo com Hollingsworth et al. (1985), a alta produção de muco estaria relacionada a uma maior tolerância a temperaturas elevadas.

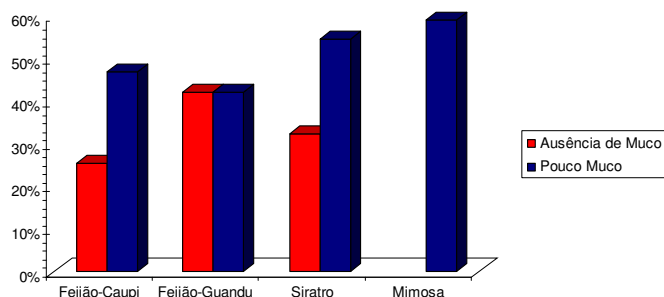
De um modo geral, isolados sem produção de muco são definidos como secos, e os que produzem muito muco, independente da consistência, são chamados de mucosos. Assim, a produção de muco foi considerada, para este estudo, como uma característica importante para agrupar inicialmente os isolados de rizóbio.



**Figura 12.** Percentual de colônias com formação de muco obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-isca avaliadas na estação chuvosa.

Em nódulos isolados de siratro durante a estação seca e chuvosa, observou-se maior percentual de colônias com característica de formação de pouca quantidade de muco, 54,40% e 40,32%, respectivamente. Em nódulos isolados de mimosa, foi verificada a presença de muco, mesmo que em pouca quantidade, geralmente em torno de 60% tanto na estação seca quanto na chuvosa. Estes resultados são similares aos

obtidos por Medeiros et al. (2009) ao avaliar a diversidade cultural de rizóbios isolados de nódulos de feijão-caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte onde a maioria dos isolados obtidos de feijão-caupi apresentou pouco muco (Figura 13).



**Figura 13:** Percentual de colônias com formação de muco obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.

Menor percentual de isolados apresentaram a característica de ter uma colônia, geralmente isolada, opaca no centro e translúcida na borda, no presente trabalho, optou-se por utilizar a terminologia criada por Martins (1996), e definir este tipo de colônia como “ovo”. Foram observadas a existência de isolados que produziram muco com consistência extremamente pegajosa de difícil manuseio, entretanto a presença destas características não foi marcante. De acordo com Coutinho et al. (1999\_a) a produção de muco pode representar uma adaptação para proporcionar a sobrevivência dos rizóbios em diferentes condições de solo e clima.

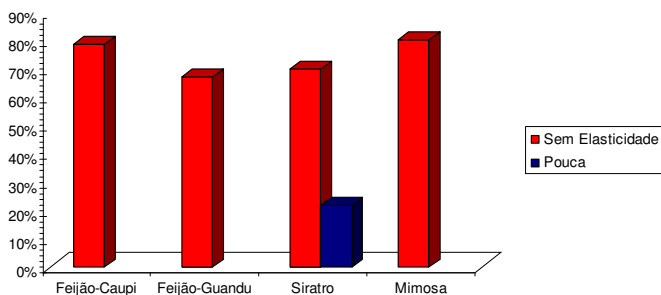
A avaliação da produção de muco foi analisada visual e comparativamente entre os isolados. Notou-se que a produção do muco nem sempre coincidiu com o tempo de crescimento, uma vez que houve maior formação de colônias de crescimento rápido e por sua vez com pouca ou nenhuma produção de muco. A produção de muco, também não encontrou correlação com a reação do meio ao metabolismo das bactérias.

Ressalta-se que de um modo geral as características culturais das espécies bacterianas pertencentes à família Rizobiaceae e capazes de formar nódulos em leguminosas, genericamente identificadas como rizóbio, fornecem informações importantes para sua identificação e agrupamento, as estirpes de rizóbio, inclusive as de crescimento rápido, diferem tanto em quantidade de produção de muco como em qualidade. (MARTINS et al., 1997)

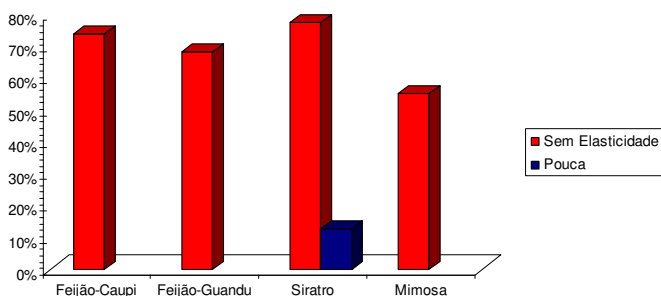
## Elasticidade do muco das colônias isoladas

A maior parte dos isolados de nódulos de feijão-caupi não apresentaram elasticidade no muco, tanto na estação seca quanto na chuvosa, 78,69% e 73,72% respectivamente. Em isolados de nódulos de feijão-guandu houve resultado semelhante, 67,18% não apresentaram elasticidade durante a estação seca e 68,25% durante a chuvosa.

Em isolados de nódulos de siratro, 70% das colônias, tanto na estação chuvosa quanto na seca não apresentaram nenhum tipo de elasticidade. Entretanto, em isolados de nódulos de mimosa foi marcante constatar que 80,30% dos isolados não apresentaram a característica de elasticidade na estação seca, enquanto que na estação chuvosa este percentual se reduz para 55% (Figura 14 e 15).



**Figura 14.** Percentual de colônias com formação de muco, com pouca ou sem elasticidade, obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação seca.



**Figura 15.** Percentual de colônias com formação de muco, com pouca ou sem elasticidade, obtidas a partir de isolados de rizóbios das plantas-iscas avaliadas na estação chuvosa.

Segundo Xavier et al. (2007) é possível que isolados de muco seco e que, em consequência não apresentam elasticidade, sejam mais resistentes à altas temperaturas, fator que garanta a sobrevivência dos mesmos em condições áridas. Martins et al.

(1997) defendem que uma maior produção de exopolissacarídeos é uma forma das colônias de rizóbio conseguirem maior tolerância às condições de salinidade do solo e resistência intrínseca aos antibióticos em rizóbios isolados de feijão-caupi cultivados em solos do Nordeste do Brasil.

Em geral, os isolados que apresentaram crescimento em apenas 01 dia, com reação ácida do meio de cultura e produtores de muco podem sugerir maior capacidade de adaptação às condições do semiárido. Sendo provável que essas características desempenhem papel importante para a sobrevivência e eficiência de rizóbios nessas regiões. Algumas estirpes podem desenvolver mecanismos de tolerância a esses fatores estressantes (KAWAI et al., 2000; WATKIN et al., 2000).

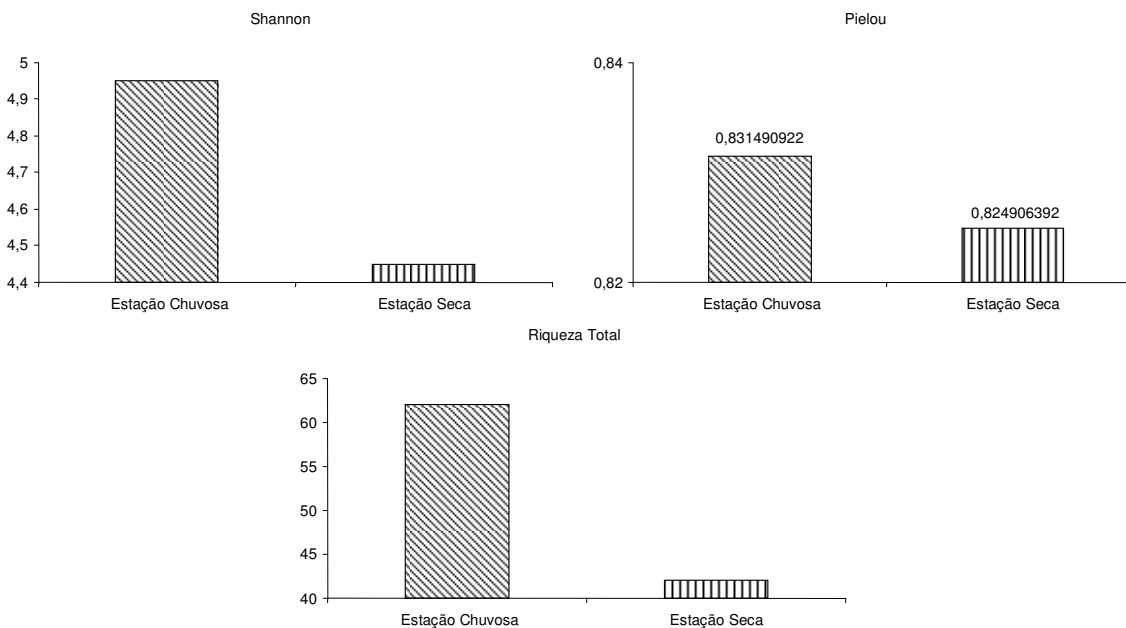
## **6. ÍNDICES DE DIVERSIDADE.**

Vários índices de diversidade têm sido propostos buscando-se entender como determinada comunidade de microrganismos se comporta frente a impactos ou estresses ambientais causados por fenômenos naturais ou pela interferência do homem (SANTOS et al., 2007). Para os grupos culturais presentes nos solos e associados às plantas-isca estudadas foram calculados os índices de riqueza total, de diversidade de Shannon-Weaver e equitabilidade de Pielou.

Os estimadores de diversidade utilizados: índice de riqueza de espécies, índice de diversidade de Shannon-weaver e equitabilidade de Pielou apontam para uma maior diversidade de isolados em solo rizosférico amostrado na estação chuvosa (Figura 16). De modo geral, em ambientes ou épocas com menos fatores em nível limitante, é favorecida a colonização e permanência de um maior número de espécies com populações mais numerosas.

Avaliando os índices ecológicos entre as plantas-isca e estações, é possível observar que todas as plantas-iscas apresentaram índices muito parecidos para a dominância, riqueza e diversidade (Tabela 4), indicando que apesar de haver certa especificidade entre leguminosas e a bactéria, não foi possível identificar esta tendência através dos aplicados.

A utilização de índices ecológicos na avaliação da estrutura de comunidades microbianas associadas às plantas tem sido adotada em diversos estudos de ecologia de rizóbio (McINNES et al., 2004; LEITE et al., 2009).



**Figura 16.** Índices de Riqueza total de espécies, de Shannon-Weaver e índice de equitabilidade de Pielou comparativamente entre estação seca e chuvosa.

Porém vale ressaltar que estes índices são índices faunísticos, aplicados também em comunidades vegetais, que preconizam avaliações regionais da estrutura das comunidades (MAGURRAN, 1988). Para Odum e Barret (2008) o conceito de diversidade de espécies pode ser avaliado por meio de dois componentes: riqueza das espécies, baseada no número total de espécies presentes; e a uniformidade, baseada na abundância relativa de espécies e no grau de dominância.

Historicamente, os estudos de biodiversidade se concentravam em macrorganismos, a maior parte vertebrados. A partir da década de 1990, o foco de atenção é a conservação da diversidade de microrganismos (HAWKSWORTH, 1991).

De acordo com Magurran (1988) a dificuldade de se definir diversidade reside no fato de se constituir, basicamente, de dois componentes: variedade e abundância relativa das espécies, uma vez que a diversidade ecológica ou a variedade e abundância das espécies em diferentes habitats, é um dos temas centrais da ecologia, nos últimos anos. Atualmente, o termo diversidade engloba a organização biológica como um todo, abrangendo do nível molecular ao global (MATOS et al., 1999).

A aplicação dos índices de diversidade para a ecologia de bactérias é criticada por alguns autores sob o argumento de que estes índices foram criados ou adaptados para estudos de diversidade de outros grupos de organismos, muito menos diversos que



os microrganismos (HUGHES et al., 2001). Todavia a utilização destes índices é amplamente difundida na literatura devido à sua simplicidade e facilidade na comparação de comunidades distintas (ZILLI, 2001; JESUS et al., 2005).

**Tabela 5.** Índices de diversidade de Shannon-Weaver, riqueza total e Pielou de isolados de nódulos das plantas-isca feijão-caupi; feijão guandu; siratro e mimosa cultivadas em solos rizosférico da Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra das Almas em Crateús-CE.

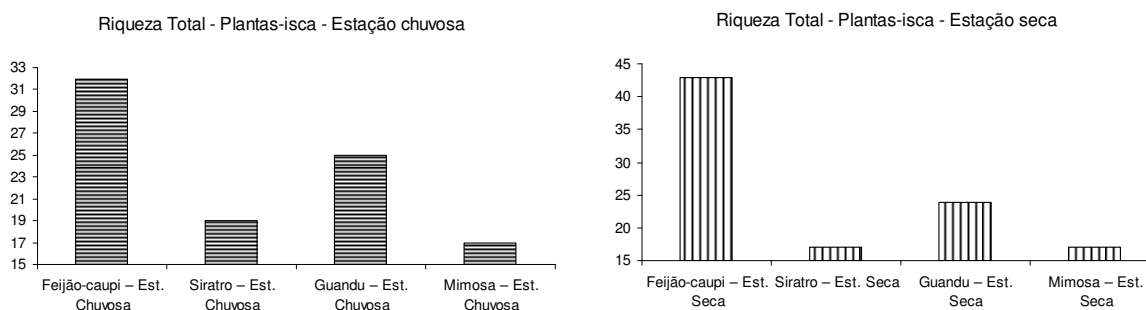
<b>Grupo</b>	<b>Riqueza Total</b>	<b>Shannon</b>	<b>Pielou</b>
<b>Estação Chuvosa</b>	62	4,95	0,83
<b>Estação Seca</b>	42	4,45	0,82
<b>Feijão-caupi – Est. Seca</b>	43	4,70	0,87
<b>Feijão-caupi – Est. Chuvosa</b>	32	4,53	0,91
<b>Siratro – Est. Chuvosa</b>	19	3,59	0,84
<b>Siratro – Est. Seca</b>	17	3,30	0,81
<b>Guandu – Est. Chuvosa</b>	25	3,96	0,85
<b>Guandu – Est. Seca</b>	24	3,93	0,85
<b>Mimosa – Est. Chuvosa</b>	17	3,01	0,73
<b>Mimosa – Est. Seca</b>	17	2,96	0,72

Os maiores valores de riqueza total, foram observados para os isolados de nódulos das plantas-iscas de feijão-caupi e guandu os maiores, com pequena variação entre estações para guandu. Entretanto, a exceção foi observada nos isolados dos nódulos da planta-isca de feijão-caupi que apresentaram uma variação superior em comparação com os demais e maior valor do índice para a estação seca, indicando maior diversidade durante este período do ano provavelmente sugerindo que os isolados capturados nesta planta-isca apresentem maior grau de adaptação ao bioma caatinga (Figura 17).

Em contrapartida os isolados de nódulos da planta-isca mimosa apresentaram o mesmo índice independente da estação avaliada, indicando ausência de variação na diversidade entre estações e possivelmente favorecimento a um determinado grupo de rizóbio para a nodulação com esta planta.

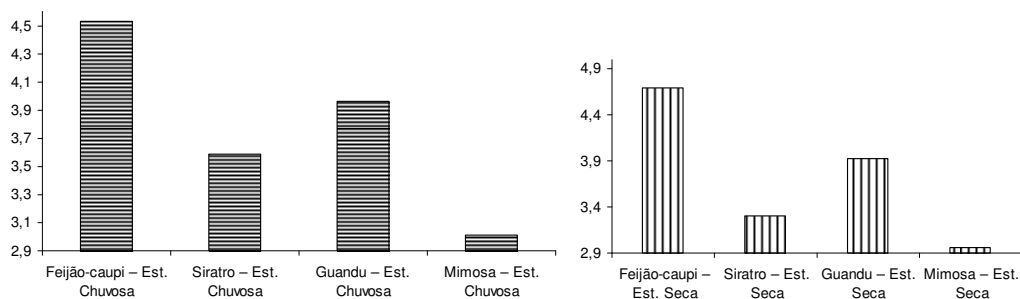
De acordo com o índice de Shannon-Weaver, foi notado o mesmo padrão, onde os índices indicam maior diversidade para a estação chuvosa, para os isolados de nódulos das plantas-iscas de siratro e mimosa, entretanto obteve-se um maior índice de

diversidade para isolados de nódulos de feijão-caupi e guandu durante a estação seca (Figura 18), confirmando os resultados indicados para a riqueza total.



**Figura 17.** Valores do índice de riqueza total para plantas isca durante estação chuvosa e seca.

O índice de Shannon-Weaver, já tradicionalmente designado como índice de Shannon, é a medida de diversidade mais consagrada (ROSSO, 1996). Para Wihlm (1972), esta equação é a mais satisfatória dentre as desenvolvidas para diversidade específica e de dominância, pois expressa a importância relativa de cada espécie e não apenas a proporção entre espécies e indivíduos. Este índice aponta para a maior diversidade presente na estação chuvosa para siratro e mimosa enquanto a maior diversidade na seca para feijão-caupi e guandu. Assim como o cálculo da diversidade de Shannon-Weaver, o índice de riqueza de grupos indica que a estação chuvosa é mais rica com maiores valores para determinado grupo de rizóbios enquanto a seca favorece outros



**Figura 18.** Valores do índice de Shannon para plantas isca durante estação chuvosa e seca.

Shannon-Weaver foi proposto para ser utilizado em análise da diversidade de comunidades biológicas por Ramon Margalef em 1956. O cálculo deste índice representa o cálculo de incerteza de qual espécie (ou grupo) será amostrada em uma

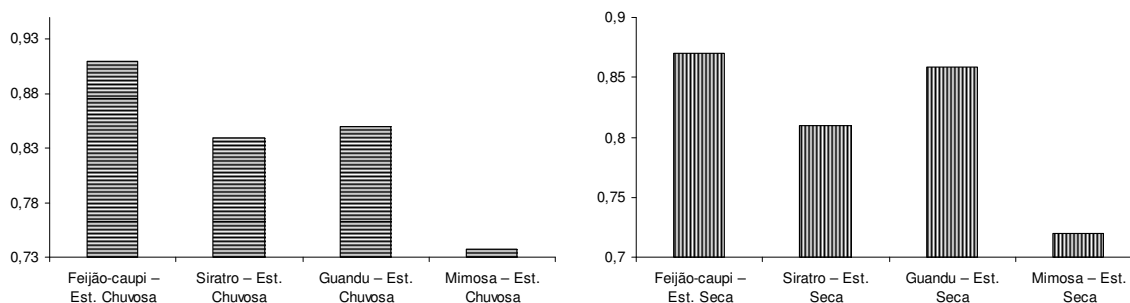
determinada área. Quanto maior o índice de Shannon-Weaver, menor será a chance de se determinar qual a espécie (ou grupo) pode ser o “capturado” na amostra (ou maior será a incerteza) (PINTO-COELHO, 2000).

Segundo Berger e Parker (1970) e Simpson (1949) a dominância reflete a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na comunidade pertencerem à mesma espécie, para esses autores, quanto mais alto for o resultado, maior a probabilidade dos indivíduos serem da mesma espécie, ou seja, maior a dominância e menor a diversidade. Porém em relação à equitabilidade tanto a estação chuvosa quanto a estação seca apresentam índice semelhante indicando distribuição equilibrada ao longo do ano.

Para Magurran (1988), a equitabilidade representa a situação hipotética em que todas as espécies se encontram com a mesma proporção na comunidade estudada.

Vale ressaltar que a estação chuvosa apresentou um número maior de grupos culturais, 67 de um total de 121, a maior diversidade foi apontada pelo índice de Shannon-Weaver justamente para esta estação. Este índice é calculado utilizando não só a quantidade de grupos taxonômicos estudados, mas também a frequência de cada um dos grupos.

Para a planta-isca feijão-guandu, os índices de diversidade de Shannon e riqueza total apresentam valores semelhantes indicando pouca variação entre as estações para cada caso, e o índice de Pielou indicando a mesma equitabilidade entre as estações para guandu. O mesmo padrão se repetindo para a planta-isca mimosa, uma vez que, o índice de riqueza total apresenta o mesmo valor entre as estações, e o índice de Pielou uma variação pequena, indicando equitabilidade, e o índice de Shannon com variação indicando diferença de diversidade entre as estações. Verificou-se que essa dominância foi proporcional a equitabilidade (Figura 19).



**Figura 19:** Valores do índice de equitabilidade de Pielou para plantas-isca durante a estação chuvosa e seca.

Houve efeito da estação na diversidade de rizóbios, com padrões diferenciados entre as espécies de acordo com a estação, especificamente para isolados de siratro e mimosa maior diversidade na estação chuvosa, e na seca para isolados de plantas-isca de feijão-caupi e guandu de acordo com Shannon. Verificou-se ausência de variação da equitabilidade para a planta-isca de feijão-guandu em comparação entre as estações, talvez demonstrando maior especificidade destas espécies para formar simbiose com populações nativas destes solos, e provavelmente melhores resposta por este grupo às alterações climáticas ao longo das estações.

Bezerra (2009) observou maior índice de riqueza no fragmento de área ocupado por vegetação nativa (hiperxerófila), onde também foi encontrado o maior índice de diversidade, sugerindo que a retirada da vegetação exerce importância fundamental na diminuição da diversidade de rizóbios capazes de nodular o feijão-caupi.

Estudos que exploram a diversidade de grupos-chave de microrganismos são importantes, pois, além de fornecerem um indicativo do efeito de diferenças no ambiente sobre a diversidade destes grupos, possibilitam, ainda, isolamento de estirpes com potencial para aproveitamento econômico e ambiental. Uma vez que o solo é considerado um ponto focal dinâmico e de grande importância para a sustentabilidade global, ocorrendo neste sistema processos vitais, tais como: ciclagem de nutrientes, fixação de N, produção de CO<sub>2</sub> e formação de matéria orgânica, o estudo das relações entre diversidade e funcionamento passa a ser particularmente importante no solo, por ser um local constituído por habitats diversos. Neste contexto, é importante estimar os efeitos das forças antropogênicas sobre a diversidade microbiana (MATOS et al., 1999).

A região semi-árida 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 seja uma indicação da capacidade do sistema de manter o grupo funcional sob condições de estresse (SANTOS et al., 2007).

Portanto, a grande diversidade de rizóbios encontrada na RPPN Serras das Almas, 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 e demonstram a importância de estudos em áreas protegidas da caatinga como modo de manutenção da biodiversidade.

## **7. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS FENOTÍPICOS.**

### **7.1. Dendrogramas de similaridade gerados com características selecionadas por espécie hospedeira e estação.**

Com os dados da caracterização cultural, foram elaborados uma série de dendrogramas de similaridade entre os isolados. Para tanto, inicialmente foram classificados de acordo com as características culturais. Os resultados ilustram uma grande diversidade entre os isolados com a formação de vários grupos (VER ANEXO).

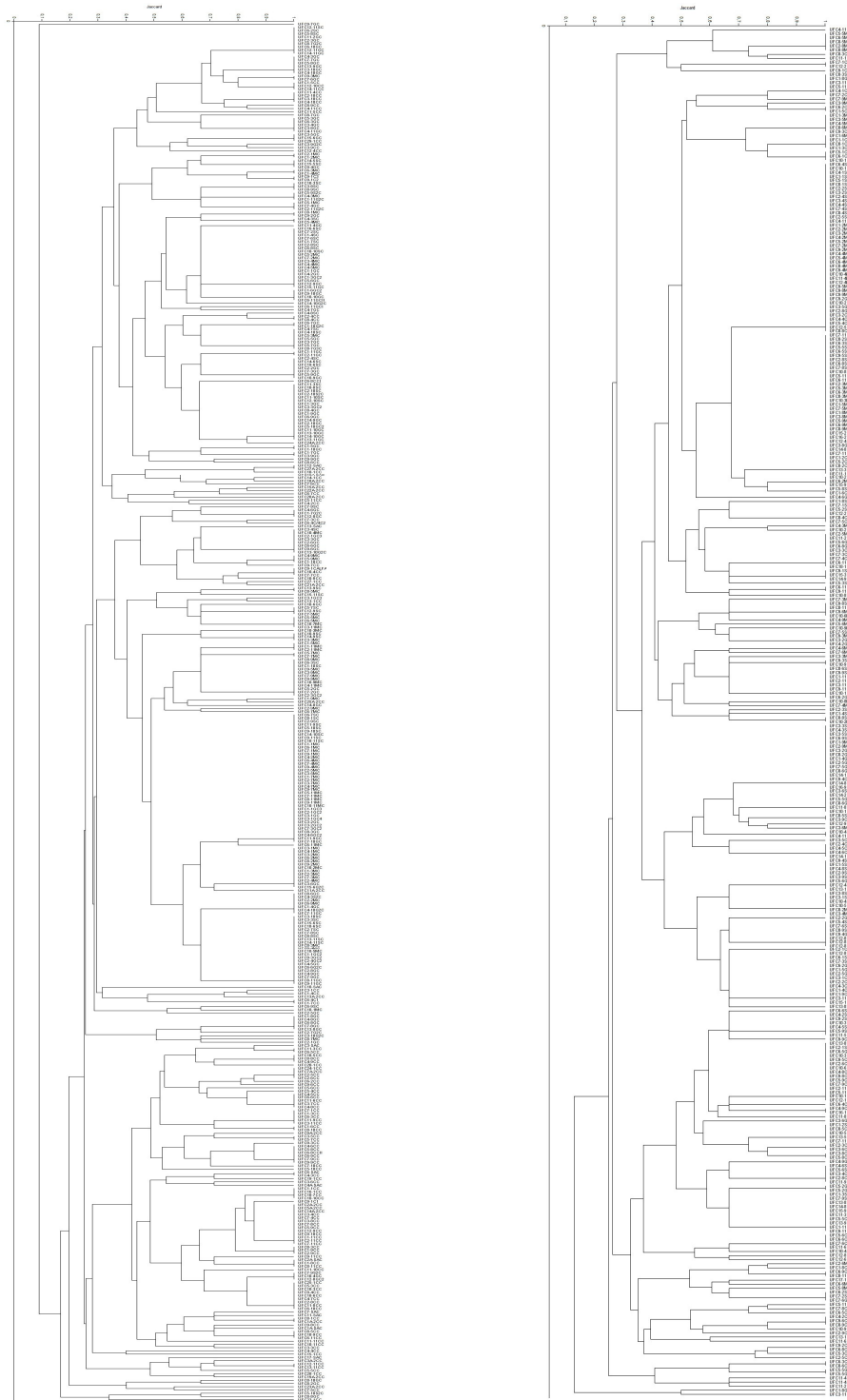
Foram obtidos e caracterizados 776 isolados da região semi-árida do Ceará, no município de Crateús (Figura 20). O agrupamento dos isolados de acordo com o coeficiente de Jaccard foi realizado gerando-se dendrogramas de acordo com as estações e as plantas-iscas utilizadas. Analisando a árvore gerada pelos dados fenotípicos das colônias, observou-se a formação de 04 grupos de acordo com as plantas-iscas, a 45% de similaridade, e que a distância entre isolados variou de 15% a 100%, para a estação chuvosa, e novamente a formação de 04 grupos relativos às plantas-iscas bem definidos à similaridade de 50%, com distância entre 35% a 100% (Figura 21).

Deste agrupamento formaram-se 121 grupos culturais entre os níveis de 50 a 60% de similaridade, dos quais foram selecionados isolados representativos dos grupos formados para avaliação da resistência a variações crescente de temperatura (VER ANEXO).

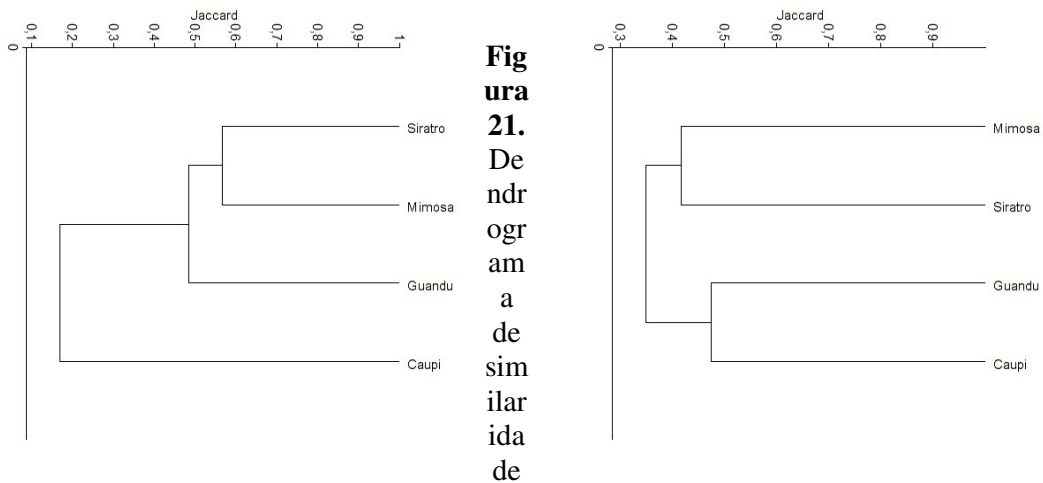
O estudo das características culturais revela uma diversidade bastante ampla de isolados de rizóbio e costuma estar bem relacionado com avaliações de DNA. Estes dados são importantes, uma vez que o conhecimento das comunidades nativas por meio destas ou e outras técnicas revelam-se fundamentais para se conhecer a diversidade das espécies (MARTINS et al., 1997).

Não foi verificada a formação de grupos culturais exclusivos associados às estações ou às plantas-iscas. No entanto, estudos com inoculação entre os grupos exclusivos e as cultivares testadas são necessários para confirmação destes resultados.

Não foi verificada a formação de grupos culturais exclusivos associados às estações ou às plantas-iscas. No entanto, estudos com inoculação entre os grupos exclusivos e as cultivares testadas são necessários para confirmação destes resultados.



**Figura 20:** Panorama geral dos dendrogramas de similaridade gerados – coleção completa com base nos grupos culturais de rizóbio associados a quatro espécies de leguminosas e capturados de amostras de solos coletados respectivamente em período chuvoso e de seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús, Ceará.



hospedeira com base nos grupos culturais de rizóbio associados a quatro espécies de leguminosas e capturados de amostras de solos coletados respectivamente em período das chuvas e da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús, Ceará.

## 7.2. - Grupos fenotípicos dos isolados.

Inicialmente os isolados foram classificados de acordo com as características culturais que mais diferenciaram: tempo de crescimento, pH do meio, tamanho, cor e quantidade de muco. Deste agrupamento formaram-se 121 grupos culturais entre os níveis de 50 a 60% de similaridade, de acordo com o índice de Jaccard e num dendrograma baseado no método de agrupamento UPGMA (Tabela 6).

Destes 67 grupos são referentes à estação chuvosa e 54 à estação seca. Tanto no período chuvoso, quanto no seco, foram obtidos grupos culturais de feijão-caupi e feijão-guandu a 50% e de siratro e mimosa a 60% de similaridade.

Sendo 107 grupos com características de crescimento rápido, deste, 57 do período chuvoso e 50 do período seco. Obtendo-se 05 grupos de crescimento intermediário e 09 grupos de crescimento lento. Nota-se, pelo número de grupos formados, que os isolados de crescimento rápido, são mais diversos.

Os grupos G4 de feijão-caupi, G6 de feijão-guandu, ambos do período chuvoso foram os mais abundantes. Estes dois grupos apresentaram características típicas dos gêneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium* quanto ao hábito de crescimento (rápido), entretanto a reação do pH foi neutra. Do total foram formados 43 grupos raros com 01 ou 02 isolados. Uma forte indicação da diversidade encontrada neste grupo de micorganismos no bioma caatinga.

**Tabela 6.** Grupos culturais gerados a partir das características culturais tempo de crescimento, pH no meio de cultivo, tamanho e cor da colônia e quantidade de muco, de isolados de rizóbio de siratro (*Macropitillium atropurpureum*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), feijão-guandu (*Cajanus cajan*) e mimosa (*Mimosa pudica*). Considerando o período chuvoso e o de estiagem no solo.

Grupo	Nº de isolados % de similaridade	Tempo de crescimento	pH do meio	Tamanho da colônia(mm)	Cor da colônia	Quantidade de muco
<b>Período chuvoso</b>						
<b>CAUPI</b>	<b>50%</b>					
G1	1	lento	ácido	puntiforme	laranja	Muito
G2	1	lento	ácido	puntiforme	branco	Médio
G3	1	médio	ácido	1	branco	Médio
G4	31	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	Nenhum
G5	14	rápido	alcalino	puntiforme	branco	Nenhum
G6	4	rápido	neutro	2	amarelo	Pouco
G7	19	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	Pouco
G8	7	rápido	neutro	puntiforme	bege	Nenhum
G9	3	rápido	neutro	>1	branco	Médio
G10	5	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	Nenhum
G11	1	rápido	alcalino	puntiforme	branco	Nenhum
G12	2	rápido	neutro	<1	bege	Médio
G13	5	rápido	alcalino	puntiforme	branco	Pouco
G14	7	rápido	ácido	1	amarelo	Pouco
G15	5	rápido	neutro	2	ovo	Pouco
G16	7	rápido	alcalino	puntiforme	laranja	Pouco
G17	5	rápido	neutro	1	ovo	Pouco
G18	3	rápido	ácido	2	ovo	Muito
G19	2	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	Muito
G20	3	rápido	ácido	1	branco	Muito
G21	3	médio	neutro	1	amarelo	Muito
G22	16	médio	ácido	puntiforme	bege	Nenhum
G23	2	médio	neutro	puntiforme	branco	Pouco
G24	7	médio	neutro	puntiforme	amarelo	Nenhum
G25	2	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	Nenhum
<b>GUANDU</b>	<b>50%</b>					
G1	4	rápido	neutro	>1	bege	Médio
G2	3	rápido	neutro	<1	laranja	Médio

Continuação tabela 6...



<b>G3</b>	1	médio	neutro	>1	ovo	médio
<b>G4</b>	1	rápido	alcalino	<1	ovo	médio
<b>G5</b>	15	rápido	Alcalino	<1	amarelo	nenhum
<b>G6</b>	32	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G7</b>	4	médio	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G8</b>	2	médio	ácido	<1	amarelo	nenhum
<b>G9</b>	6	rápido	alcalino	puntiforme	laranja	nenhum
<b>G10</b>	3	rápido	ácido	<1	laranja	nenhum
<b>G11</b>	18	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	pouco
<b>G12</b>	12	rápido	neutro	<1	branco	pouco
<b>G13</b>	14	rápido	neutro	<1	amarelo	pouco
<b>G14</b>	1	rápido	ácido	>2	bege	nenhum
<b>G15</b>	9	rápido	ácido	>2	amarelo	muito
<b>G16</b>	2	rápido	ácido	1	branco	pouco
<hr/>						
<b>SIRATRO</b>	<b>60%</b>					
<b>G1</b>	1	rápido	ácido	2	bege	médio
<b>G2</b>	3	rápido	ácido	>1	amarelo	médio
<b>G3</b>	4	rápido	neutro	>1	branco	médio
<b>G4</b>	1	rápido	alcalino	<1	branco	médio
<b>G5</b>	17	rápido	ácido	puntiforme	branco	pouco
<b>G6</b>	5	rápido	neutro	<1	amarelo	pouco
<b>G7</b>	8	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G8</b>	9	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G9</b>	3	rápido	ácido	puntiforme	branco	pouco
<b>G10</b>	2	rápido	ácido	>2	amarelo	muito
<b>G11</b>	2	rápido	ácido	<1	branco	nenhum
<b>G12</b>	6	rápido	neutro	puntiforme	bege	nenhum
<b>G13</b>	1	rápido	neutro	puntiforme	bege	nenhum
<hr/>						
<b>MIMOSA</b>	<b>60%</b>					
<b>G1</b>	2	rápido	neutro	puntiforme	bege	pouco
<b>G2</b>	2	rápido	ácido	>2	amarelo	pouco
<b>G3</b>	26	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	pouco
<b>G4</b>	12	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	médio
<b>G5</b>	4	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G6</b>	3	rápido	ácido	<1	amarelo	Nenhum
<b>G7</b>	3	rápido	ácido	<1	amarelo	muito
<b>G8</b>	2	rápido	ácido	<1	laranja	pouco
<b>G9</b>	17	rápido	ácido	<1	ovo	pouco
<b>G10</b>	1	rápido	ácido	<2	bege	médio

Continuação tabela 6...

<b>G11</b>	3	rápido	neutro	puntiforme	branco	nenhum
<b>G12</b>	3	rápido	neutro	puntiforme	branco	nenhum
<b>G13</b>	2	rápido	neutro	>1	bege	médio
<b>Período da</b>						
<b>seca</b>						
<b>CAUPI</b>	<b>50%</b>					
<b>G1</b>	5	rápido	neutro	>1	branco	muito
<b>G2</b>	10	rápido	neutro	<1	branco	médio
<b>G3</b>	25	rápido	neutro	<1	amarelo	pouco
<b>G4</b>	4	rápido	neutro	puntiforme	laranja	pouco
<b>G5</b>	2	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	médio
<b>G6</b>	13	rápido	alcalino	<1	bege	pouco
<b>G7</b>	3	rápido	alcalino	<1	branco	pouco
<b>G8</b>	10	rápido	neutro	<1	bege	nenhum
<b>G9</b>	10	rápido	alcalino	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G10</b>	3	rápido	neutro	puntiforme	laranja	nenhum
<b>G11</b>	11	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	pouco
<b>G12</b>	8	rápido	ácido	<1	amarelo	nenhum
<b>G13</b>	5	rápido	ácido	>1	amarelo	muito
<b>G14</b>	8	rápido	ácido	1	amarelo	médio
<b>G15</b>	5	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	muito
<b>GUANDU</b>	<b>50%</b>					
<b>G1</b>	4	rápido	neutro	>2	amarelo	muito
<b>G2</b>	15	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G3</b>	7	rápido	ácido	<1	amarelo	pouco
<b>G4</b>	12	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G5</b>	12	rápido	neutro	puntiforme	branco	pouco
<b>G6</b>	1	rápido	neutro	1	branco	pouco
<b>G7</b>	7	lento	neutro	<1	amarelo	nenhum
<b>G8</b>	1	médio	neutro	1	ovo	muito
<b>G9</b>	1	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G10</b>	1	rápido	neutro	>1	laranja	nenhum
<b>G11</b>	1	rápido	neutro	>1	bege	médio
<b>G12</b>	1	lento	neutro	<1	bege	pouco
<b>G13</b>	1	lento	ácido	1	ovo	Pouco
<b>SIRATRO</b>	<b>60%</b>					
<b>G1</b>	3	rápido	neutro	<1	laranja	nenhum
<b>G2</b>	1	rápido	ácido	<1	laranja	nenhum
<b>G3</b>	4	rápido	neutro	<1	amarelo	nenhum

Continuação tabela 6...

<b>G4</b>	2	rápido	ácido	>1	branco	médio
<b>G5</b>	2	rápido	ácido	puntiforme	branco	médio
<b>G6</b>	1	rápido	ácido	puntiforme	bege	pouco
<b>G7</b>	15	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G8</b>	6	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G9</b>	2	rápido	ácido	>2	amarelo	muito
<b>G10</b>	7	rápido	neutro	<1	branco	pouco
<b>G11</b>	2	rápido	neutro	1	branco	pouco
<b>G12</b>	10	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	pouco
<b>G13</b>	4	rápido	ácido	<1	bege	pouco
<b>MIMOSA</b>	<b>60%</b>					
<b>G1</b>	3	rápido	neutro	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G2</b>	2	rápido	ácido	>1	laranja	pouco
<b>G3</b>	21	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	pouco
<b>G4</b>	14	rápido	ácido	puntiforme	amarelo	nenhum
<b>G5</b>	2	rápido	ácido	puntiforme	branco	médio
<b>G6</b>	2	rápido	ácido	<1	ovo	pouco
<b>G7</b>	6	rápido	ácido	1	ovo	pouco
<b>G8</b>	8	rápido	ácido	1	amarelo	pouco
<b>G9</b>	2	rápido	ácido	>2	ovo	pouco
<b>G10</b>	2	rápido	ácido	1	bege	nenhum
<b>G11</b>	2	rápido	ácido	>1	branco	pouco
<b>G12</b>	3	rápido	ácido	>2	branco	nenhum
<b>G13</b>	1	rápido	ácido	puntiforme	branco	nenhum

## 8. AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA A ESTRESSES AMBIENTAIS

### 8.1 Avaliação da tolerância de rizóbios a níveis crescentes de temperatura

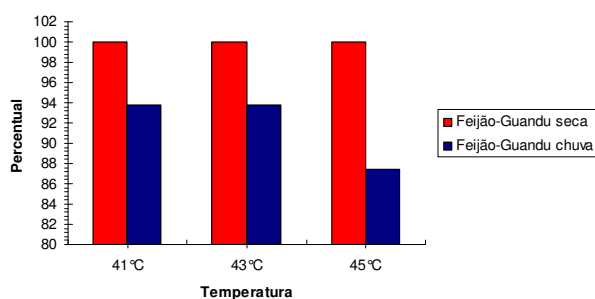
Todas as estirpes foram inicialmente isoladas a 28°C, onde 100% apresentaram crescimento no meio 79, e testadas quanto a sua tolerância a temperaturas crescentes que variaram de 41°,43° a 45° C. Foi observado que à medida que se eleva a temperatura reduz-se a porcentagem de isolados tolerantes.

Em relação à origem climática das estirpes, os resultados deste estudo mostraram que a maioria dos isolados apresentaram resistência e sobreviveram sob esta condição estressante. Corroborando dados de Lindstrom e Lehtomaki (1998) que avaliaram diversas estirpes de rizóbios oriundos de regiões semiáridas estimando as

faixas de temperaturas em que as mesmas se desenvolviam variando de 31°C (*R. leguminosarum*) a 41°C (*Rhizobium. meliloti*), possivelmente os rizóbios presentes nesta área de estudo estejam próximos ao *Rhizobium. meliloti* apesar de estas estirpes ainda não terem sido identificadas geneticamente.

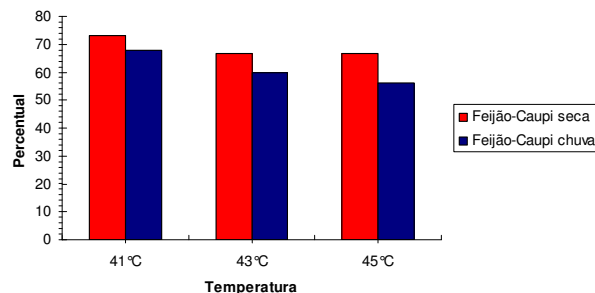
A tabela 4 exemplifica os grupos culturais identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de seus isolados representativos, indicando o comportamento dos mesmos sob as diferentes variações de temperatura.

Dos 28 isolados testados obtidos de nódulos da planta isca feijão-guandu, 13 da estação seca e 15 da chuvosa, 100% cresceram sob as diversas variações de temperatura durante a estação seca, com variações durante a estação chuvosa, onde 93,75% sobreviveram a 41° e 43° C e 87,5% a 45° C (Figura 22). Dados que confirmam os obtidos por Fernandes Júnior (2009) que isolando, caracterizando fenotipicamente e avaliando a produção de biopolímeros por bactérias isoladas de nódulos de guandu concluiu que a maioria dos isolados testados foram capazes de crescer quando incubados a temperaturas de 42°C.



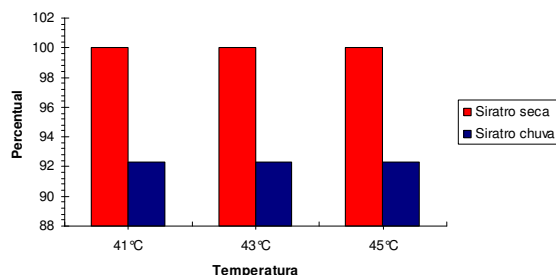
**Figura 22.** Distribuição dos isolados de feijão-guandu resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.

Ao avaliar os isolados de nódulos da plantas-isca de feijão-caupi para os vários níveis de tolerância à temperatura para as estações seca e chuvosa foram obtidos 32 isolados, dos quais 14 são da estação seca e 18 da chuvosa, 73,33% sobreviveram a 41°C e 66,70% tanto a 43°C quanto a 45°C para a estação seca. Durante a estação chuvosa foi notada maior variação com 68% sobrevivendo a 41°C, com 60% sobrevivendo a 43°C e apenas 56% sobrevivendo a 45°C (Figura 23). Para os isolados obtidos diretamente dos nódulos de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*), coletados durante a estação chuvosa, 04 no total, (100%) sobreviveram a 41°, a 43° e a 45°C.



**Figura 23:** Distribuição dos isolados de feijão-caupi resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.

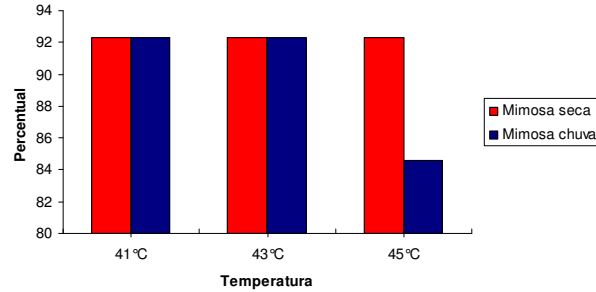
Para isolados de nódulos da planta-isca siratro foram avaliadas 27 estirpes, 13 da estação seca e 14 da chuvosa. Os resultados obtidos demonstraram que 100% das estirpes provenientes da estação seca sobreviveram às crescentes variações de temperatura, e na estação chuvosa 92,31% das estirpes sobreviveram sob 41°, 43° e 45°C (Figura 24).



**Figura 24:** Distribuição dos isolados de Siratro resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.

Para os isolados de nódulos de plantas-iscas de mimosa 92,31% das estirpes avaliadas sobreviveram a 41°e 43°C, e 84,61% a 45°C para a estação chuvosa. Para a estação seca 92,31% sobreviveram às diversas variações de temperatura. Foram obtidos 25 isolados desta planta-isca, onde 13 da estação seca e 12 da chuvosa (Figura 25). A tendência observada foi de elevada taxa de sobreviventes apesar do aumento da temperatura com exceção dos isolados de nódulos de feijão-caupi que resultou nas menores taxas de sobrevivência tanto na estação seca quanto na chuvosa (Figura 26).

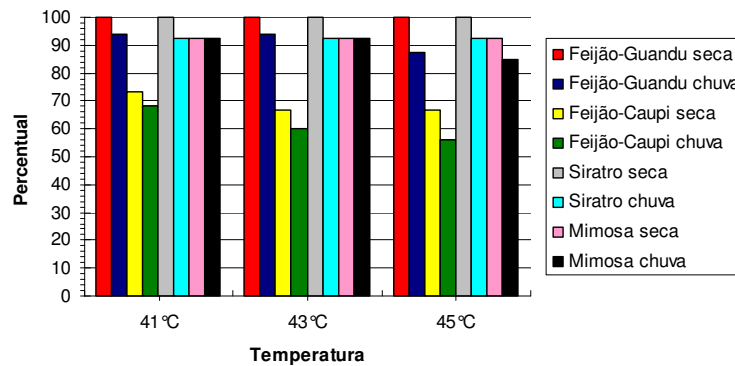
Estes resultados corroboram com os obtidos por Martins (1996) ao avaliar a resistência a temperaturas elevadas de isolados de feijão-caupi oriundos de solo da região Nordeste do Brasil (Pernambuco).



**Figura 25:** Distribuição dos isolados de Mimosa resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.

Dos 78 isolados, obtidos por este autor, 75% cresceram a 39°C, dos quais 865 oriundos do sertão, 28% do agreste e 68% da zona da mata, resultando em 182 estirpes, a 42°C somente 25% dos 78 isolados apresentaram crescimento em meio de cultura, destes 30% do sertão, 14% do agreste e 18% da zona da mata totalizando 62 estirpes.

A tabela 5 exemplifica os grupos culturais de isolados representativos identificados de acordo com as plantas-iscas utilizadas e com as características de tempo de crescimento e quantidade de muco comparando-as com a sobrevivência dos mesmos à temperatura de 45° C.

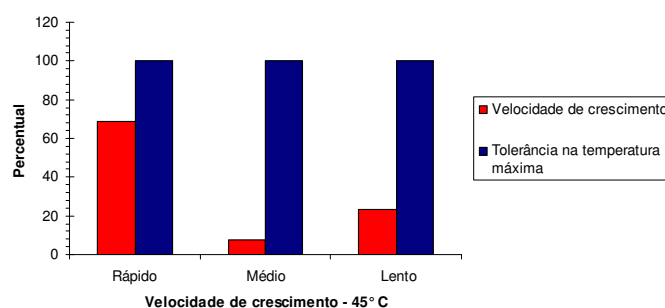


**Figura 26:** Distribuição dos isolados resistentes a altas temperaturas (41°C; 43 e 45°C) de acordo com a estação seca e chuvosa.

Os isolados de nódulos da planta-isca de feijão-guandu na estação seca, ao se comparar a taxa de velocidade de crescimento em dias com a taxa de sobrevivência dos isolados à máxima temperatura, apresentaram alta tolerância a este estresse uma vez que foi notada a sobrevivência de 100% dos isolados sob esta situação, isso pode ser explicado devido ao fato que a maior parte dos isolados, 69% apresentaram crescimento rápido (Figura 27), porém outros fatores devem ter influenciado nesta resposta como a pressão do ambiente selecionando estirpes tolerantes.

Estes resultados corroboram os dados de Silva et al. (2007) que caracterizando e selecionando populações nativas de rizóbios de solo da região semiárida de Pernambuco quanto a tolerância à temperatura, observaram que dos 09 isolados obtidos, todos suportaram a temperatura de 37° C, assim como a estirpe padrão *Bradyrhizobium* sp. Semia 6145. Porém avaliando temperatura mais elevada, ou seja a 39° C foi observado o crescimento de somente 03 estirpes, que demonstraram maior capacidade de sobrevivência em períodos de estresse térmico em relação aos demais isolados.

Temperaturas elevadas têm, representado um dos principais fatores limitantes a FBN em regiões tropicais, já que afetam praticamente todas as etapas de crescimento do rizóbio e das plantas hospedeiras, sendo os efeitos ainda mais críticos na relação simbiótica (HUNGRIA; VARGAS, 2000).

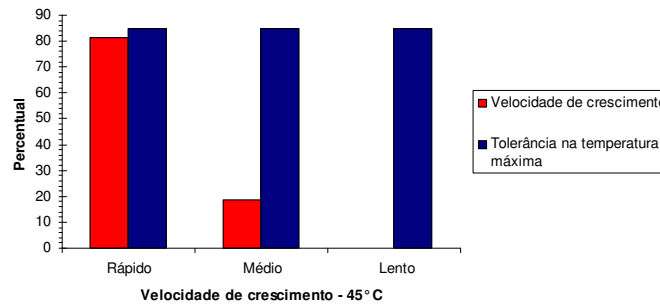


**Figura 27:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-guandu na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.

Avaliando a estação chuvosa para isolados de nódulos da planta-isca feijão guandu, observou-se a ausência de isolados de crescimento lento, e maior concentração na faixa de crescimento rápido - 81,25% - com sobrevivência de 87,50% dos isolados (Figura 28). A rápida velocidade de crescimento dos isolados poderia por si só ser uma explicação para a elevada taxa de sobrevivência, o próprio cultivo em meio 79 inclusive, oferecendo condições ótimas de nutrição poderia contribuir nesta elevada taxa, entretanto outras características intrínsecas dos próprios isolados poderiam atuar de forma positiva. Para os isolados de nódulos de feijão-guandu, a produção de muco pareceu não ser tão influente na taxa de sobrevivência, uma vez que 75% dos isolados apresentaram as características de pouca produção de muco ou ausência de produção, tanto na estação seca (Figura 29) quanto na estação chuvosa (Figura 30).

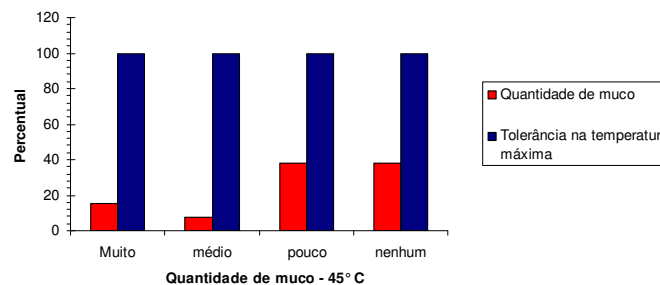
De acordo com Hollingsworth et al. (1985), a alta produção de muco por estirpes de rizóbio estaria associada à capacidade destas bactérias em tolerar altas temperaturas, entretanto, os resultados para quaisquer dos isolados das plantas-iscas avaliadas, não

apresentaram esta característica, uma vez que a maioria dos isolados não produziram muco, ou produziram pouco muco, e mesmo assim apresentaram elevadas taxas de sobrevivência.



**Figura 28:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-guandu na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.

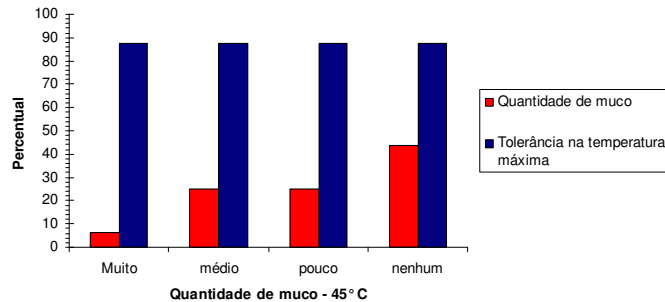
Xavier et al. (1998), em estudos com isolados de caupi de solos da região semi-árida do Estado de Pernambuco, observaram que o padrão de resistência à alta temperatura, salinidade e antibióticos não podem ser relacionados com qualquer característica de crescimento, características que têm sido relacionadas à maior competitividade. Entretanto é importante salientar que assim como as plantas, que na estação seca perdem suas folhas para economia de água e redução do metabolismo, é provável que, os microrganismos em questões “adotem” padrão semelhante, desse modo produzindo menor quantidade de muco ou não produzindo de forma a economizar água, uma resposta à redução do metabolismo devido à escassez de água.



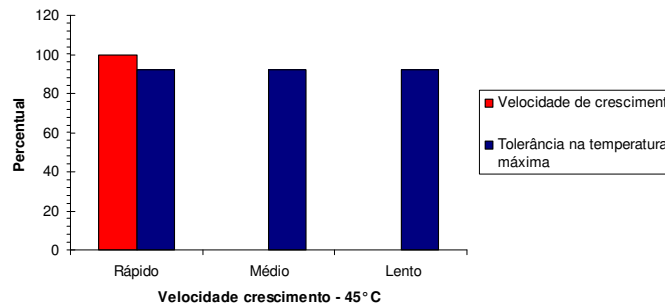
**Figura 29:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-guandu na estação seca e a taxa de sobrevivência à temperatura máxima de 45° C.



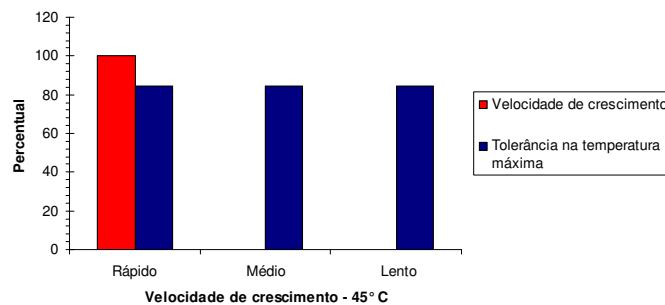
Em relação aos isolados de nódulos da planta-isca mimosa foi observado maior percentual de isolados de crescimento rápido, 84,61% à temperatura de 45°, com 100% dos isolados apresentando crescimento rápido na estação seca (Figura 31). Para a estação chuvosa, os isolados de mimosa apresentam percentual mais elevado de sobrevivência na temperatura máxima avaliada 92,31% e 100% dos isolados apresentaram velocidade rápida de crescimento (Figura 32).



**Figura 30:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-guandu na estação chuvosa e a taxa de sobrevivência à temperatura máxima de 45° C.

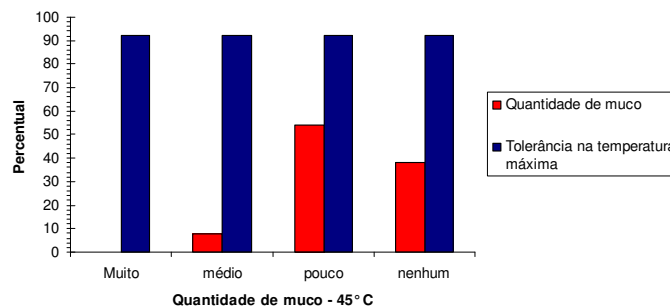


**Figura 31:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de mimosa na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.

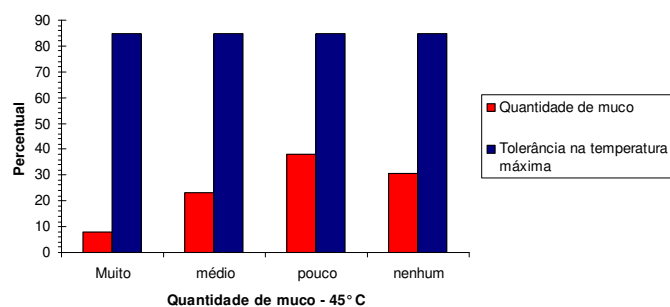


**Figura 32:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de mimosa na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.

A produção de muco dos isolados de mimosa apresentaram maior concentração na faixa de pouca produção – 53,9% na estação seca (Figura 33) e 38% na estação chuvosa (Figura 34). Mais uma vez a produção de muco parece não ter sido fator primordial na elevada taxa de sobrevivência dos isolados para esta planta-isca, uma vez que foi notada ausência de elevada produção de muco na estação seca e menos de 10% do isolados da estação chuvosa com esta característica.

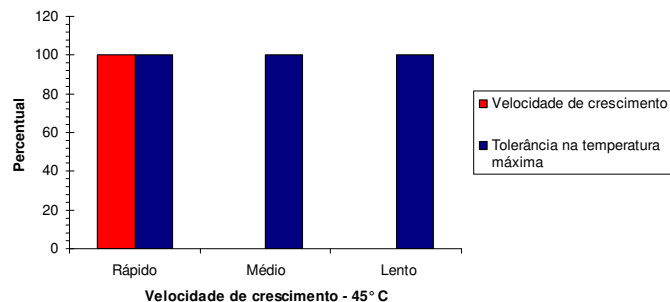


**Figura 33.** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de mimosa na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.

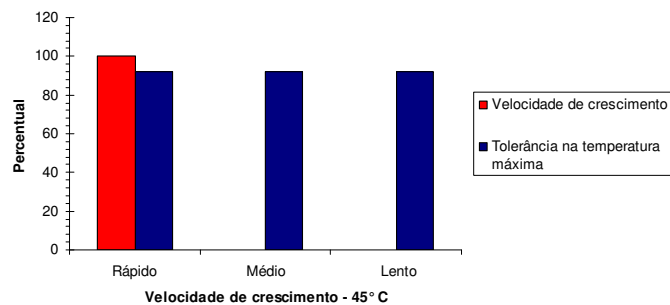


**Figura 34.** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de mimosa na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.

Os isolados de nódulos de siratro apresentaram o mesmo comportamento dos isolados das plantas-iscas anteriores com elevado percentual apresentando crescimento rápido – 100% para a estação seca (Figura 35) e 100% para a estação chuvosa (Figura 36). Com taxa de tolerância de 100% para os isolados de nódulos de siratro na estação seca e 92,31% na estação chuvosa à temperatura de 45°C.

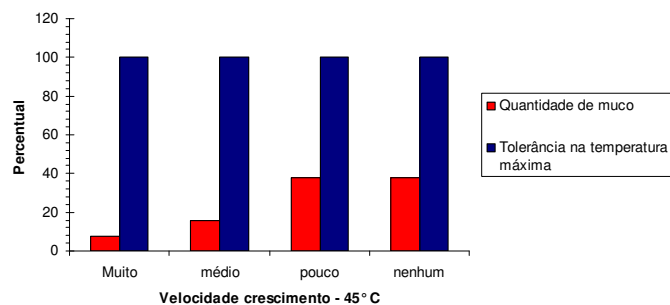


**Figura 35:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de siratro na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.

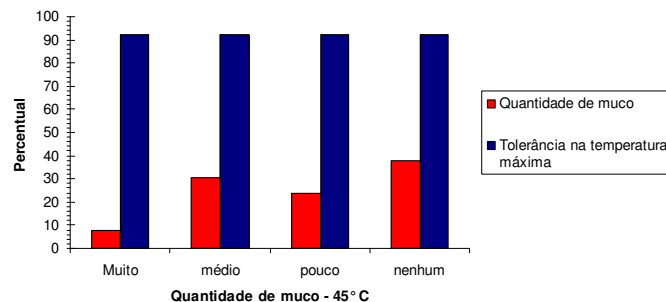


**Figura 36:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de siratro na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45°C.

Analisando a produção de muco dos isolados de nódulos de siratro observou-se maior concentração de isolados com característica de pouca produção de muco ou ausência, tanto na estação seca quanto na chuvosa. Mais de 75% apresentaram pouco ou nenhuma produção de muco na estação seca (Figura 37) e cerca de 60% as mesmas características na estação chuvosa (Figura 38), mesmo assim, foi constatada elevada taxa de tolerância ao estresse da temperatura elevada.



**Figura 37:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de siratro na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.



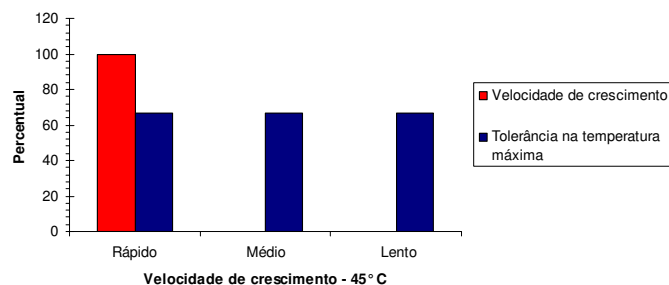
**Figura 38:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de siratro na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima avaliada – 45° C.

As bactérias que nodulam feijão-caupi são em geral consideradas como pertencentes ao grupo *Bradyrhizobium* spp. que compreendem um número de estirpes de crescimento lento capazes de nodular inúmeras espécies de leguminosas herbáceas (JORDAN, 1984). Curiosamente os isolados de feijão-caupi apresentaram maior percentual de isolados de crescimento rápido e foram os que apresentaram menor taxa de tolerância às elevações da temperatura. Somente 66,7% dos isolados na estação seca sobreviveram (Figura 39) e apenas 56% na estação chuvosa (Figura 40) a 45° C, apesar de mais de 70% dos isolados terem apresentado crescimento rápido. Para Hartel; Alexander (1984) estirpes de feijão-caupi podem diferir na habilidade de sobreviver e crescer acima de um limite de temperatura, o mesmo pode ser possível para os demais isolados de outras plantas-iscas.

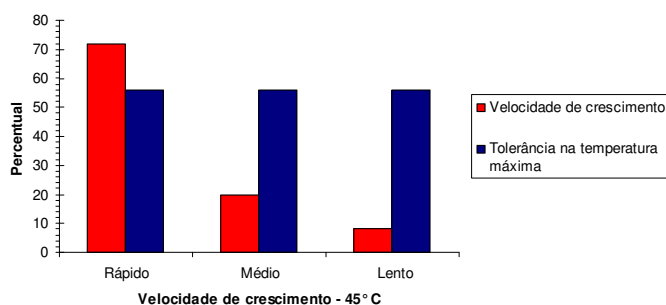
Trabalhando com feijoeiro e 14 isolados do município de Araripina (PE), Silva et al. (2000), observaram que a maior parte resistiu a temperaturas de 36° C, 38 ° C e 40°C quando comparados com a estirpe padrão *Rhizobium tropici* CIAT 899. Resultados similares foram obtidos por Medeiros et al. (2007), que avaliando a tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio, à salinidade e temperatura, provenientes de municípios do RN, observou que a 30°C o comportamento dos isolados foi semelhante ao observado na temperatura de 28°C, e que nas temperaturas de 34°C e 36°C não houve diferença em relação ao comportamento dos isolados.

Por sua vez Fernandes et al. (2003), selecionando rizóbios nativos para feijão-guandu, feijão-caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe, observaram que o crescimento de cinco estirpes não foi alterado a 35°C, comparando com a temperatura de 28°C, somente uma estirpe cresceu a 45°C e o diâmetro das colônias nesta temperatura foi equivalente à metade do observado quando a bactéria foi incubada a 28°C. Ressalta-se que a temperatura e pH do solo são fatores determinantes para o

sucesso da estirpe de rizóbio em promover uma nodulação eficiente nas leguminosas associadas (NEVES; RUMJANEK, 1998).



**Figura 39:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-caupi na estação seca e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.



**Figura 40:** Comparação entre a velocidade de crescimento de isolados de feijão-caupi na estação chuvosa e a taxa de tolerância destes à temperatura máxima de 45° C.

Para a produção de muco, os isolados de feijão-caupi foram os que apresentaram maiores taxas de isolados com características de muita produção de muco, 20% tanto na estação seca (Figura 41) quanto na estação chuvosa (Figura 42). Hollingsworth et al. (1985) estudando rizóbios isolados de feijão-caupi, constataram maior produção de muco quando as bactérias foram submetidas a temperatura elevada (42°C). o que nem sempre foi constatado neste estudo.

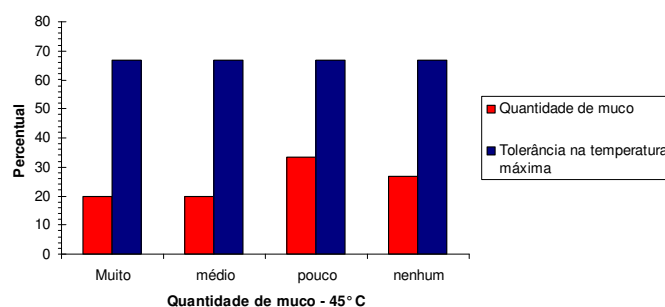
Segundo Martins (1996) por definição o muco apresenta como componentes principais carboidratos e polissacarídeos, embora o mecanismo de ação não seja ainda conhecido, é possível que estirpes produtoras de muco apresentem uma variação de tolerância.

Segundo dados de Nandal et al. (2005) ao avaliar as mudanças ocorridas após a indução de altas temperaturas nos expolissacarídeos, lipopolissacarídeos e proteínas de mutantes resistentes ao calor de *Rhizobium sp.(Cajanus)*, foi observado que a elevação da temperatura induz mudanças na quantidade de expolissacarídeos e no padrão eletroforético dos lipopolissacarídeos e proteínas dos extratos mutantes de *Rhizobium sp.*

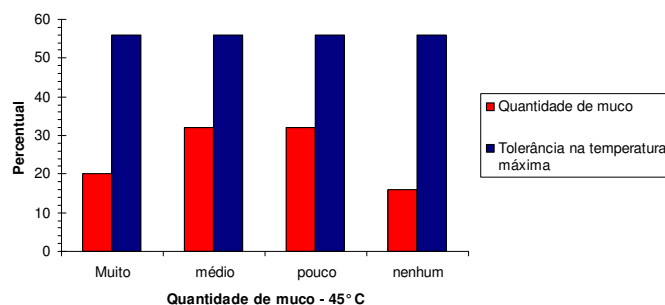
(*Cajanus*). Os resultados afirmam que em elevadas temperaturas (43°C) os mutantes mostraram um incremento na produção de exopolissacarídeos em relação ao extrato padrão (PP201), que produziu somente (15 mg/mL) de exopolissacarídeos, provavelmente devido à sua inabilidade em sobreviver em altas temperaturas, e esta característica indica um mecanismo adaptativo em relação à altas temperaturas com alterações na parede celular.

Ainda segundo Nandal et al. (2005) há estudos que relatam que o efeito de altas temperaturas na síntese de proteínas em mutantes que produziram, proteínas adicionais à 43° C, atuando como fator importante para a termotolerância, mesmo que ainda seja incerto se estas proteínas sejam isoladamente responsáveis por determinar a tolerância ao calor.

Tem-se considerado, tradicionalmente, que os limites de temperatura para a FBN com leguminosas tropicais se situam entre 27°C e 40°C (HUNGRIA; VARGAS, 2000). No entanto há diversos relatos sobre diferenças entre espécies e estirpes de rizóbio quanto à tolerância a temperaturas elevadas (HUNGRIA et al., 1997; HUNGRIA; VARGAS, 2000).

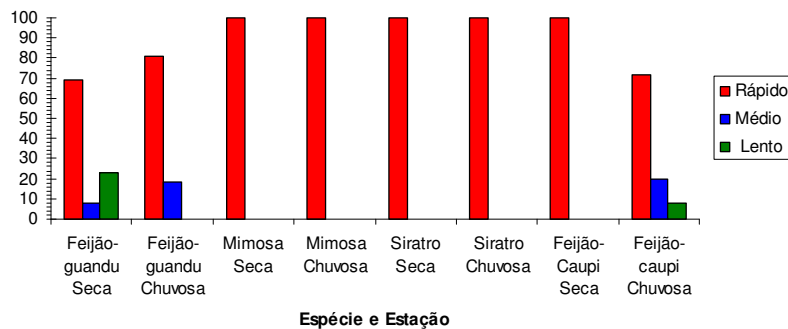


**Figura 41:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-caupi na estação seca e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.

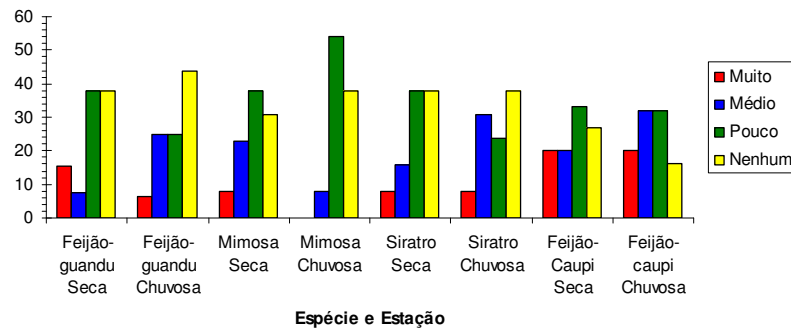


**Figura 42:** Comparação entre a quantidade de muco produzido por isolados de feijão-caupi na estação chuvosa e a taxa de tolerância à temperatura máxima de 45° C.

Esses isolados podem revelar-se com grande potencial para a agricultura e recuperação de solos degradados para a região semiárida, por apresentarem características importantes de tolerância aos estresses ambientais presentes no bioma caatinga, e provavelmente venham, também a ser úteis num cenário global de mudanças climáticas e aquecimento global, onde possam vir a ser utilizados em outras regiões do planeta como fonte genética adaptada aos efeitos do aquecimento global, uma vez que já se mostram tolerantes a locais com temperatura elevada e solos salinos, como a caatinga (Figuras 43 e 44).



**Figura 43:** Comparação percentual do tempo de crescimento de isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.



**Figura 44:** Comparação percentual da quantidade de mucoproduzida pelos isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.

Segundo Carmo Filho et al. (1991) o clima da região é seco e muito quente, com duas estações climáticas definidas: uma seca e outra chuvosa, apresentando temperatura média anual de 27,4°C e precipitação pluviométrica anual irregular, fato que torna os isolados dessas bactérias adaptadas e, conseqüentemente tolerantes a tais variações de temperatura.

Embora os resultados apresentem algumas diferenças, em alguns casos nas taxas de sobrevivência de acordo com a variação da temperatura, é possível não haver

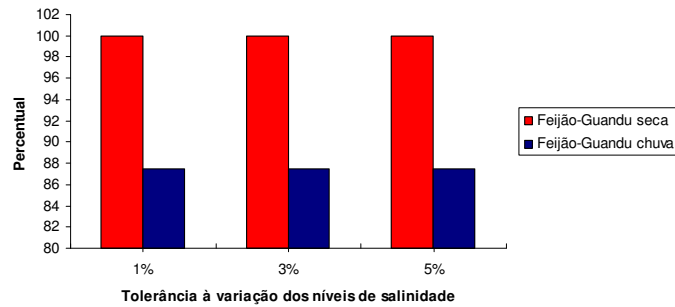
correlação com a habilidade de nodular e eficiência simbiótica. Estas razões evidenciam a necessidade de mais estudos sobre os efeitos da tolerância a temperaturas elevadas e níveis crescentes de NaCl no desempenho da simbiose, com a finalidade de selecionar estirpes capazes de sobreviver na caatinga e realizar a simbiose de modo eficiente.

## **8.2. Avaliação da tolerância de rizóbios a níveis crescentes de salinidade.**

Um aspecto importante da tolerância bacteriana à salinidade é a sua habilidade em sobreviver em concentrações de sais que inibem o crescimento (BOUHMOUCH et al., 2004). A salinização é um dos processos mais importantes entre os que atuam na redução da produtividade nas regiões semi-áridas. A seleção de estirpes de rizóbio adaptáveis ao estresse de salinidade, alto pH e temperaturas elevadas da região semi-árida amplia as chances de sucesso para a introdução e estabelecimento da bactéria (BEZERRA, 2009). Mais de 4 milhões de hectares do semiárido são afetados pela salinidade e há potencialmente cerca de 9 milhões de hectares com riscos de salinização no Nordeste do Brasil (PEREIRA et al., 1985). Os representantes dos grupos de bactérias estudados, quanto à diversidade em solos do semiárido foram testados em níveis crescentes de sódio solúvel em meio de cultura a 28° C, uma vez que o NaCl tem sido considerado bom indicador da tolerância de bactérias à sais (ABDELMOUMEN et al., 1999).

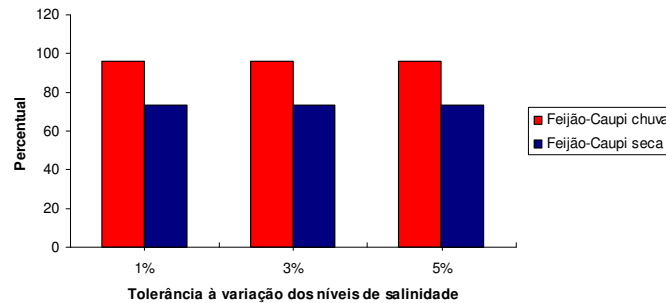
Assim como as plantas, as bactérias fixadoras de nitrogênio apresentam grande variação na tolerância à salinidade. Essa tolerância ao estresse salino pode ser atribuída a variações de pH, temperatura, fonte de carbono solúvel e à presença de solutos osmoprotetores (GRAHAM, 1992), como também mudanças na quantidade de exopolissacarídeos e no padrão eletroforético dos lipolissacarídeos e proteínas destas bactérias (NANDAL et al., 2005). Diferentemente de seus hospedeiros, as leguminosas, rizóbios tolerantes podem sobreviver na presença de níveis extremamente elevados de salinidade e demonstram marcante variação de tolerância à salinidade (BOUHMOUCH et al., 2004). Os resultados obtidos para isolados de nódulos da planta-isca feijão-guandu apontam para maior tolerância destes isolados à salinidade durante a estação seca (Figura 45).





**Figura 45:** Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para feijão-guandu nas estações seca e chuvosa.

Resultado oposto foi obtido na avaliação das estirpes isoladas de nódulos de feijão-caupi, onde foi observada maior tolerância aos níveis crescentes de salinidade durante o período chuvoso, em detrimento do período seco (Figura 46).



**Figura 46:** Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para feijão-caupi nas estações seca e chuvosa.

A produção de muco nos isolados apresentou tendência à pouca produção de exopolissacarídeos, entretanto os dados sobre salinidade apontam elevada taxa de tolerância, fato que não corresponde aos dados obtidos por Martins et al. (1997) que correlacionaram maior produção de exopolissacarídeos com maior tolerância às condições de salinidade do solo e resistência intrínseca aos antibióticos em rizóbios isolados de feijão-caupi cultivados em solos do Nordeste do Brasil.

Trabalhos realizados com leguminosas temperadas relatam o efeito da salinidade afetando a nodulação, principalmente no sistema radicular alterando o desenvolvimento dos rizóbios (TU, 1981). Estudos sobre tolerância à salinidade de rizóbios de lentilhas (*Lens culinaris* L.) relatam variações entre diferentes estirpes em concentrações crescentes de NaCl (RAÍ, 1983; RAÍ et al, 1985). Estresse salino reduz a nodulação em leguminosas inibindo nos processos iniciais dos eventos simbióticos. Por exemplo, a

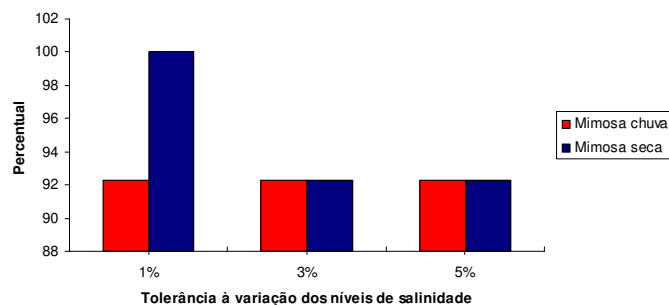
redução da nodulação em soja (*Glycine max*) sob condições salinas tem sido atribuído à redução da colonização das raízes (TU,1981).

Por sua vez L`taief et al. (2006) avaliando os efeitos da salinidade na condutância de oxigênio em nódulos de raízes de quatro variedades de grão-de-bico (*Cicer arietinum*) em simbiose com *Mesorhizobium ciceri* obtiveram como resultado que o aumento dos teores de salinidades levaram a uma redução na produção de nódulos, por exemplo a 25mM NaCl, somente a variedade Amdoun 1 demonstrou significativa redução na produção de biomassa, em concentrações superiores de NaCl. A biomassa de todas as variedades apresentaram redução em relação ao crescimento das raízes, entretanto, os nódulos foram órgãos mais sensíveis à salinidade a 25 mM NaCl, uma vez que a salinidade evitou a formação de simbiose entre a variedade Amdoun 1 e IRAT 87 e *Mesorhizobium ceceri* UPMCa7 *rhizobia*, em contrapartida as variedades de grão-de-bico INRAT 93-1 e INRAT 88 apresentaram decréscimo na formação de biomassa dos nódulos. Em concentrações superiores a 25mM NaCl, não houve formação de nódulos.

Apesar da condutância de oxigênio em nódulos ser relatada como um dos principais fatores envolvido na inibição da FBN em solos salinos que reduzem severamente a produção de grãos de leguminosas, os resultados obtidos por L`taief et al. (2006) demonstram que a salinidade não alterou a condutância em nódulos de grão-de-bico (*Cicer arietinum*) para a variedade INRAT 93-1, conseqüentemente foi proposto que a tolerância à salinidade parece estar associada com a estabilidade da condutância do nódulo da variedade resistente sob efeito da salinidade, e que diferenças na capacidade de formar nódulos em solos salinos poderia explicar as diferenças na condutância de oxigênio no solo.

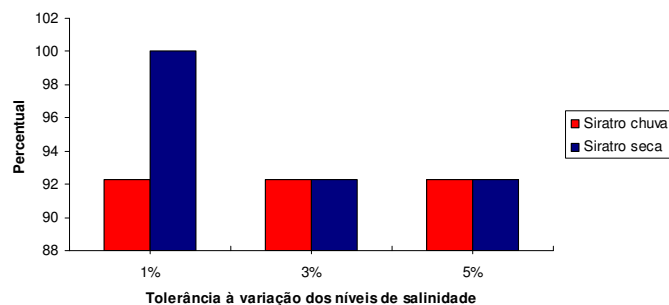
Bhardwaj (1975) demonstrou que os limites de tolerância à salinidade de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* spp. são superiores aqueles apresentados pelas leguminosas, sugerindo que a tolerância do hospedeiro possivelmente oriente o sucesso da simbiose entretanto considerável variabilidade genética em relação a tolerância à salinidade entres espécies de leguminosas tem sido discutido. Algumas leguminosas como *Prosopis* e *Acacia* spp. são altamente tolerantes à salinidade (BOUHMOUCH et al., 2004), apesar do estresse salino afetar a fixação de nitrogênio em leguminosas, uma vez que a salinidade afeta as partes vegetativas, as raízes e parece reduzir a disponibilidade de nutrientes requeridos para o crescimento e desenvolvimento das plantas (BOUHMOUCH et al., 2004).

Avaliando os isolados de nódulos das plantas-isca mimosa (Figura 47) e siratro (Figura 48), foi notado comportamento semelhante ocorrendo elevado nível de tolerância na estação seca na concentração de 1% e estabilidade nos demais níveis de salinidade.



**Figura 47:** Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para mimosa nas estações seca e chuvosa.

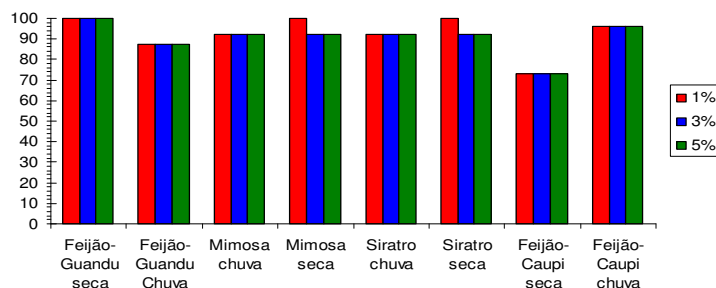
Os resultados aqui mostrados não correspondem aos obtidos por Xavier et al. (2007) que estudando a tolerância de rizóbio isolados de feijão-caupi à salinidade e temperatura *in vitro* obtiveram como resultados nas concentrações de 1,0; 2,0 e 3,0% de NaCl, que à medida que a concentração de NaCl aumentava, ocorria uma redução na porcentagem de isolados tolerantes. Destas estirpes, cerca de 40% foram capazes de crescer em meio de cultura contendo 1% de NaCl. Na concentração de 2% de NaCl, foram capazes de crescer 17% do total de isolados, sendo que destes, 15% foram isolados de solos da região do Sertão e 24% da Zona da Mata. Já na concentração de 3% deste sal, somente 12% das estirpes testadas foram capazes de crescer nesta condição.



**Figura 48:** Comparação da taxa de tolerância ao aumento dos níveis de salinidade para siratro nas estações seca e chuvosa.

O alto nível de tolerância à salinidade dos isolados (Figura 49), pode ser explicado pelo fato de terem sido isolados diretamente de uma região árida na qual é

comum possuir solos salinos em virtude das características de clima, relevo, geologia, entre outros fatores determinarem condições favoráveis à ocorrência de solos afetados por excesso de sais. Para Graham e Parker (1964) muitas espécies de rizóbio podem tolerar níveis acima de 2% de NaCl no meio de cultura.



**Figura 49:** Comparação percentual da tolerância a níveis crescentes de salinidade de isolados de rizóbios entre estações de acordo com as plantas-isca utilizadas.

Nóbrega et al. (2004) observaram que as estirpes provenientes do Ceará eram as mais tolerantes à salinidade, uma vez que apresentaram padrões de crescimento para todas as concentrações testadas, exceto a concentração de 50 g L<sup>-1</sup> de NaCl. Isso é explicado pelas características edafoclimáticas das regiões nas quais tais isolados foram coletados.

O isolamento e a seleção de rizóbios com características de tolerância ao estresse salino vêm revelando alto grau de diversidade nas populações deste microrganismo nos solos, principalmente em regiões tropicais (NEVES; RUMJANEK, 1998). Bouhmouch et al. (2004) avaliando a influência de cultivares hospedeiras e espécies de rizóbios no crescimento e performance simbiótica de *Phaseolus vulgaris* sob estresse salino, obtiveram como resultado que a viabilidade às concentrações de sais que inibam o crescimento, e não somente a tolerância à salinidade. Essa é uma importante característica a ser levada em consideração quando se seleciona extratos para serem inoculados em solos salinos. Assim estes podem sobreviver e iniciar a multiplicação no solo, e que estes parâmetros dependem essencialmente da concentração de sais no solo e das capacidades intrínsecas de cada extrato bacteriano.

Entretanto, nos estudos de Sinclair e Eaglesham (1984), as estirpes que formaram exopolissacarídeos foram mais eficientes em fixar nitrogênio atmosférico que aquelas que produziam colônias secas sob condições salinas, uma vez que essa alta produção da mucosidade pode representar uma forma de proteção da bactéria aos

estresses ocorridos, desse modo, é provável que os isolados avaliados não apresentem taxas eficientes de FBN, sendo necessários mais testes para confirmar esta hipótese.

A “Coleção de Culturas” formada com isolados obtidos da RPPN Serra das Almas é grande importância, já que dentre os 776 isolados, 84,93% apresentaram tolerância a altas temperaturas a 45° C. e 90,75% isolados apresentaram tolerância às concentrações salinas a 5% de NaCl, características essas comuns ao bioma caatinga. Entretanto não é possível afirmar que realizem FBN com eficiência, sendo necessários estudos futuros.

## 9 – CONCLUSÕES

A grande diversidade de rizóbios encontrada na Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra das Almas sugere estabilidade dos solos quanto à fixação de N<sub>2</sub>, tolerando os estresses ambientais do bioma caatinga; isto pode ser resultado de um processo de adaptação dos rizóbios juntamente com a diversidade de leguminosas nativas da caatinga.

Houve efeito das estações chuvosa e seca na diversidade de rizóbios, com comportamentos diferenciados entre as espécies de acordo com a estação.

Em relação à tolerância à salinidade e a temperaturas elevadas, verificou-se que 84,93% dos isolados toleraram altas temperaturas a 45°C, e 90,75% dos isolados foram tolerantes às concentrações salinas a 5% de NaCl, indicando relação entre a tolerância à salinidade e à temperaturas elevadas.

Isolados com características de crescimento rápido, com formação de colônias em até dois dias e alto percentual de acidificação do meio.

## 10-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELMOUMEN, H.; FILALI-MALTOUF, A.; NEYRA, M.; BELABED, A.; IDRISSE, M. M. Effect of high salts concentration on the growth of rhizobia and responses to added osmótica. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 889-898, 1999.

AGNEW, C.; WARREN, A. A framework for tackling drought and land degradation. **Journal of Arid Environment**. v. 33, p 309–320, 1996.

ALENCAR, R.D.FILHO, F.Q.P.; MEDEIROS, J.F.; HOLANDA, J.S.; PORTO, V.C.N.; NETO, M.F. Crescimento de cultivares de melão amarelo irrigadas com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 07, n. 02, p. 221-226, 2003.

ANDRADE, E. M.; MEIRELES, A.C.M.; NESS, R.L.L.; CRUZ, M.G.M. Modelagem da concentração de íons no extrato de saturação do solo, na Região da Chapada do Apodi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 33, n. 02, p. 5-12, 2002.

AKCAY, E.; ROUGHGARDEN, J. Negotiation of mutualism: rhizobia and legumes. **Proceedings of the Royal Society**, v.274, p. 25–32, Sep. 2006.

ALLEN, O.N.; ALLEN, E.K. The leguminosae: a source book of characteristics use and nodulation. Wisconsin, **University of Wisconsin Press**, p.812,1981.

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, F.S.; COSTA, R.C.; FIGUEIREDO, M.A.; NUNES, P.E. Vegetação e flora fanerogâmica da área Reserva Serra das Almas. In: Análise das variações da biodiversidade do bioma caatinga - Suporte a estratégias regionais de conservação, **Ministério do Meio Ambiente**, Brasil, p. 94-122. 2005.

ARAÚJO FILHO, J.A.; SILVA, N.L. Avaliação de leguminosas arbóreas, para recuperação de solos e repovoamento em áreas degradadas, Quixeramobim-Ce. Resumos do V CBA – Outras temáticas. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.2, n.2, p.4, 2007.

ARAÚJO, J.B.S.; BALBINO, J.M.S. Manejo de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) sob dois tipos de poda em lavoura cafeeira. **Coffee Science**, Lavras, v.2, n.1, p.61-68. 2007.

ARRUDA, M. B. **Ecosistemas Brasileiros**. Edição: IBAMA, 2001.

BHARDWAJ, K.K.R. Survival and symbiotic characteristics of *Rhizobium* in saline-alkali soils. **Plant Soil**, v.43, p.377–85. 1975.

BALA, A.;MURPHY, P.J.; OSUNDE, A.O.; GILLER, K.E. Nodulation of tree legumes and the ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. **Applied Soil Ecology**, v.22, p.211-223, 2003.

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**, v.4, n.1, p.145-153, 1998.

BARRET,C.F.;PARKER,M.A.Prevalence of *Burkholderia* sp. nodule symbionts on four *mimosoid* legumes from Barro Colorado Island, Panama. **Systematic and Applied Microbiology**,Stuttgart, v. 28,n.1, p. 57-65,2005.

BATISTA, J. S. S.; HUNGRIA, M.; BARCELLOS, F. G.; FERREIRA, M. C.; MENDES, I. C. Variability in *Bradyrhizobium japonicum* and *B. elkanii* seven years after introduction of both the exotic microsymbiont and the soybean host in a cerrados soil. **Microbial Ecology**, v. 53, n. 2, p. 270-284, 2007.

BETHKE, C.P.; DREW, C.M. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annum* during progressive exposure to NaCl salinity. **Plant Physiology**, Bethesda, v.99, p.219-226, 1992.

BENINTENDE, S.M.; BENINTENDE, M.C.; STERREN, M.A.; BATTISTA, DE J.J. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. **Ecological Indicators**, v. 8, p. 704-708, 2008.

BERGER, W.H.; PARKER, F. L..Diversity of planktonic foraminifera in deep seasediments. **Science**, n. 168,p. 1345-1347,1970.

BEZERRA, R.V. Biodiversidade e efetividade de rizóbios nativos de solos do semi-árido de Pernambuco em caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Dissertação de Mestrado**.Pós-graduação em Agronomia.UFRPE- **Ciências do Solo**,p.70, 2009.

BIGOT, J., LE SAOS, J., BINET, P. Effet de NaCl sur la composition cationique de quelques fractions subcellulaires des racines de haricot et de *Cochlearia anglica*. **Physiology. Vegetal**, v.21, p.3-13, 1983.

BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; NEVES, M.C.P.; SUHET, A. R.; PERES, J.R. Quantification of the contribution of N<sub>2</sub> fixation to field-grown grain legume – a strategy for the practical application of the 15N isotope dilution technique. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 22, p. 649-655,1990.

BOUHMOUCH, I.; SOUAD-MOUHSINE, B.; BRHADA, F., AURAG, J. Influence of host cultivars and *Rhizobium* species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.1103-1113, 2004.

BRAGA, R. As plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Ed. **Imprensa Oficial**, Fortaleza, p. 540, 1960.



BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Biology of Microorganisms**. Ed. 7, New Jersey: **Prentice Hall**, p.909.1994.

BROCKWELL, J.; BOTTOMLEY, P.J.; THIES, J.E. Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. **Plant and Soil**, v. 174, p 143–180, 1995.

CAMPELLO, E.F.C. O papel de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas na recuperação de áreas degradadas. In: BALENSIEFER, M., coord. Recuperação de áreas degradadas. **III Curso de Atualização**, Curitiba, p.11-16, 1996.

CARMO FILHO; ESPÍNOLA SOBRINHO, J. F.; MAIA NETO. Dados meteorológicos de Mossoró. Mossoró: ESAM/FGD, **Coleção Mossoroense**, série c, v.630, p. 110, 1991.

CARVALHO, M.A.C.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S.; SANTOS, N.C.B.; BASSAN, D.A.Z. Produtividade e qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sob influência de parcelamentos e fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 25, p 617-624, 2001.

CHAGAS JUNIOR, A.F. Características agrônômicas e ecológicas de rizóbios isolados de solos ácidos e de baixa fertilidade da Amazônia. **Tese**. Pós-Graduação em Biotecnologia. Convênio UFAM-INPA. UFAM – Manaus – Amazonas, p. 172, 2007.

CHEN, W.M.; LEAVENS, S.; LEE, T.M.; COENYE, T.; DE VOS, P.; MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. Nov. isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.51, p.1729-1735.2001.

CHEN, W.M.; JAMES, E.K.; PRESCOTT, A.R.; KIERANS, M.; SPRENT, J.L. Nodulation of *Mimosa* spp. by the B-Proteobacterium *Ralstonia taiwanensis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v.16, n.12, p.1051-1061.2003.

CHEN, W.M.; DE FARIA, S.M.; JAMES, E.K.B.; ELLIOTT, G.N.; SPRENT, J.L.; VANDAMME, P. *Burkholderia nodosa* sp. nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, p.1055-1059, 2007.

COHN, J.; DAY, R.B.; STACEY, G. Legume nodule organogenesis. **Elsevier Science Ltd**, v. 3 ,n. 3, p.1360-1385, 1998.

CORREA, M.; PENNA, L. DE A. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, **IBDF- Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**, v.6, p.1, 1978.

COSTA, M. G.DA. O sabiá. Mossoró (Coleção Mossoroense), **ESAM**, v. 16, p. 514 (Série B). 1988.

CORDEIRO, A. M; TROVÃO, D. M de B., Espécies ameaçadas de extinção no Cariri

Paraibano-Uma visão Etnobotânica. In: Encontro de Iniciação Científica, 6. **Anais...** Campina Grande. Universidade Estadual da Paraíba, 1999.

COUTINHO, H.L.C.; KAY, H.E.; MANFIO, G.P.; NEVES, M.C.P.; RIBEIRO, J.R. DE A.; RUMJANEK, N.G. ; BERINGER, J. Molecular evidence for shifts in polysaccharide composition associated with adaptation of soybean *Bradyrhizobium* strains to the Brazilian Cerrado soil. **Environmental Microbiology**, London, v.1, n.5, p 401-408, 1999\_a.

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M.; LOVATO, A.; MAIA, A. H. N.; MANFIO, G. P. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, v. 13, n. 2, p. 159-167, 1999\_b.

DAKORA, F.D.; KEYA, S.O. Nitrogen fixation in sustainable agriculture: the African experience. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29,p. 809-818, 1997.

DAKOTA, F.D., KEYA, O., Contribution of legume nitrogen fixation to sustainable agriculture in Sub-Saharan Africa. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p, 809–817. 1997a.

DATTA,C.;BASU, P.S. Indol acetic acid production by a *Rhizobium* specie from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*.**Microbiology Resource**, v.155, p.123-27,2000.

DEAKER, R.; ROUGHLEY, R.J.; KENNEDY, I.R. Legume seed inoculation technology - a review. Ross St. Building A03, University of Sydney. Sydney, Australia. NSW, **Soil and Biochemistry** , v.36, p. 1275-1288, 2006.

DEYN, G.B. DE; RAAIJMAKERS, C.E.; VAN DER PUTTEN, W.H. Plant community development is affected by nutrients and soil biota. **Journal of Ecology**,v.92, p 824–834, 2004.

DENISON, R. F.Legume sanctions and the evolution of symbiotic cooperation by rhizobia. **The American Naturalist**, v.156, p. 567-576, 2000.

DENISON, R. F.; KIERS, E. T. Why are most rhizobia beneficial to their plant hosts, rather than parasitic? **Microbes and Infection. Agronomy and Range Science**. University of California,, v. 6, p. 1235-239, 2004.

DOYLE, J.J. Phylogenetic perspectives on nodulation: evolving views of plants and symbiotic bacteria. Trends in plant science reviews. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 3, n. 12, 1998.

DORAN, J.W.;PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN,J.W.; COLEMAN, D.F.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds.), Defining soil quality for a sustainable environment. **Soil Science Society of America**, Madison, WI, Special Publication, v. 35, p. 3–21, 1994.

DRUMOND, M. A. et al. Estratégias para o Uso Sustentável da Biodiversidade da Caatinga.**Anais**. Petrolina, 2000.

DUARTE, D. P. Considerações sobre a vegetação da Caatinga. **Departamento de Fitotecnia**. CCA/UFPB Areia, 1995.

ECHEVERRÍA, S.R.; FERNÁNDEZ.M.A.P. Short communication Potential use of Iberian shrubby legumes and rhizobia inoculation in revegetation projects under acidic soil conditions. **Applied Soil Ecology**, p. 203–208, 2005.

EMBALOMATIS, A., PAPACOSTA, D.K., KATINAKIS, P. Evaluation of *Rhizobium meliloti* strain isolated from indigenous populations in northern Greece. **Journal of Agriculture and Crop Science**, v. 172, p. 37–80. 1994.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análises de solo. Ed. 2. ver. atual. Rio de Janeiro, (EMBRAPA-CNPS. Documentos), v.1, p. 212, 1997.

ESPÍNDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; PERIN, A.; TEIXEIRA, M.G.; ALMEIDA, D.L.; U RQUIAGA, S.; BUSQUET, R.N.B. Bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes utilizadas como coberturas vivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, p.415-420, 2006.

ESPINDOLA, J. A. A. Adubação verde com leguminosas. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**; Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Coleção Saber), v.5, p.49, 2005.

FANG, S.; XIE, B.; LIU, J. Soil nutrient availability, poplar growth and biomass production on degraded agricultural soil under fresh grass mulch. **Forest Ecology and Management**. p. 1802–1809, 2008.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; JESUS, R.M.; MENANDRO, M. de S.; BAITELLO, J.B.; MUCCI, E.S.F.; DOBEREINER, J.; SPRENT, J.I. New nodulating legume trees from southeast Brazil. **New Phytologist**, v. 98, p.317-328, 1984.

FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I.; SUTHERLAND, J.M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, v. 111, p. 607-619, 1989.

FASSBEIDER, H.W.; BORNEMUZA, E. Química de suelos de América Latina. Ed. 2. San José: **II CA**, p. 420, 1987.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; HUNGRIA, M. Seleção de rizóbios nativos para guandu, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 7, p. 835-842, 2003.

FERNANDES, M.F.; FERNANDES, R.P.M. Seleção inicial e caracterização parcial de rizóbios de tabuleiros costeiros quando associados ao Guandu. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 24, p.321-327, 2000.

FERNANDES JÚNIOR, P.I. Caracterização fenotípica e produção de biopolímeros por bactérias isoladas de nódulos de guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. UFRR-RJ – **Tese**. Instituto de agronomia. Pós-graduação em Agronomia - Ciência do solo. Seropédica, Rj, p.222, Nov. 2009.

FIGUEIREDO, M. V. B.; STAMFORD, N. P.; MEDEIROS, R.; SANTOS, C. E. R. S. Efeito da adubação com diferentes relações potássio/magnésio no jacatupé em latossolo amarelo com e sem inoculação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 20, n. 1, p. 49-54, 1996.

FLOWER, T.J.; HAJIBAGHERI, M.A.; CHIPSON, N.J.W. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.28, p.89-121, 1986.

FRANCO, A.A.; BALIERO, F.C. Fixação biológica de nitrogênio: uma alternativa aos fertilizantes nitrogenados. In: SIQUEIRA J.O.; MOREIRA, F.M. S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E. & CARVALHO, J.G., eds. Inter-relações e fertilidade. **Biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras, p.577-596, 1999.

FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.; SILVA, E.M.R. da; FARIA, S.M. de . **Revegetação de solos degradados**. Seropédica: EMBRAPA-CNPBS,. (EMBRAPA-CNPBS. Comunicado Técnico), v.9, p.11, 1992.

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 Biology Biochemistry**, v. 29, p. 897-903, 1997.

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

FRANCO, A. A.; CAMPOS NETO, D.C.; CUNHA, C.O.; CAMPELLO, E.F.; MONTEIRO, E.M.S.; SANTOS, C.J.S.; FONTES, A.M.; FARIA, S.M. de. **Revegetação de solos degradados**. In: Workshop sobre recuperação de áreas degradadas, I, 1990, Itaguaí-RJ. **Anais...** Itaguaí: UFRRJ, Departamento de Ciências Ambientais, p.133-156, 1991.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. Laboratory manual of general microbiology with special reference to the microorganisms of the soil. New York: **Mc-GawHill**, 1928.

FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.A.; RIBEIRO, V.Q. Ed. Feijão-caupi: Avanços tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 519, 2005.

FREIRE FILHO, F. R; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D. e SANTOS, C. A. Melhoramento genético do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na região do Nordeste. In: Workshop, Petrolina, [S. I.], **Embrapa Semi-Árido**, 1998.

FREITAS, D.S.; VIERA C.L.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P.; LYRA, M.C.C.P. Caracterização de rizóbios isolados de Jacatupé cultivado em solo salino do Estado de Pernambuco, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.3, p.497-504, 2007.

FUHRMANN, J. Symbiotic effectiveness of indigenous soybean bradrhizobia as related to serological, morfological, rhizobitoxine, and hydrogenase phenotypes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.56, p.224-229, 1990.

GHEYI, H.; FAGEIRA, N.K. Efeitos dos sais sobre as plantas. In: Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada. Campina Grande, PB: **UFPB**, p.125-131. 1997.

GIONGO, A.; AMBROSINI, A.; VARGAS, L.K.; FREIRE, J.R.J.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; PASSAGLIA, L.M.P. Evaluation of genetic diversity of bradyrhizobia strains nodulating soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] isolated from South Brazilian fields. Agriculture, ecosystems & environment. **Applied Soil Ecology**, v. 38, n.3, p. 261-269, 2008.

GONÇALVES, F.S. Especificidade hospedeira de estirpes de rizóbio para leguminosas florestais. UFRRJ. Instituto de Florestas. **Monografia** – Graduação em Engenharia Florestal. Seropédica-RJ, p.26, 2009.

GRAHAM, P.H.; VANCEB C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. **Field Crops Research**. University of Minnesota, St Paul, MN 55108, USA, p. 93-106, 1999.

GRAHAM, P. H. Stress tolerance in *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 38, p. 474-484, 1992.

GRAHAM, P.H.; PARKER, C.A. Diagnostic features in the root nodule bacteria of legumes. **Plant and Soil**, The Hague, v.20, p.383-396, 1964.

HAI, R.; WEIBING, D.; JUN, W.; ZUOYUE, Y.; QINFENG, G. Natural restoration of degraded rangeland ecosystem in Heshan hilly land. **Acta Ecologica Sinica**, v.27 p. 3593–3600, 2007.

HAN, G.; ZHOU, G.; XU, Z.; YANG, Y.; LIU, J.; SHI, K. Biotic and abiotic factors controlling the spatial and temporal variation of soil respiration in an agricultural ecosystem. **Soil Biology & Biochemistry**, p 418–425, 2005.

HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p.667-672, 2005.

HARTEL, P.G.; ALEXANDER, M. Temperature and desiccation tolerance of cowpea rhizobia. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.30, p. 820-823, 1984.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**, Cambridge, v.95, n. 6, p.641-655, 1991.

HOLTKAMP, R.; KARDOL, P.; VAN DER WAL, A.; DEKKER, S.C.; VAN DER PUTTEN, W.H.; DE RUITER, P.C. Soil food web structure during ecosystem development after land abandonment a Environmental Sciences. **Applied Soil Ecology**.

Copernicus Institute, Utrecht University, Netherlands Institute of Ecology (NIOO-KNAW). Netherlands, v. 39, p. 23–34, 2008.

HOLLINGSWORTH, R.; SMITH, E.; AHMAD, M.H. Chemical composition of extracellular polysaccharides of cowpea rhizobia. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.142, p.18-20, 1985.

HUGHES, J.B.; HELLMANN, J.J.; RICKETTS, T.H. & BOHANNAN, B.J.M. Counting the uncountable: Statistical approaches to estimating microbial diversity. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, p.4399-4406, 2001.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, p. 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos Cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 189-295, 1997.

IBAÑEZ F., TAURIAN, T., ANGELINI, J., TONELLI, M.L., FABRA, A. Rhizobia phylogenetically related to common bean symbionts *Rhizobium giardinii* and *Rhizobium tropici* isolated from peanut nodules in Central Argentina. Short Communication. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, p. 537–539, 2008.

JESUS, E. D. C.; MOREIRA, F. M. S.; FLORENTINO, L.A.; RODRIGUES, M. I. D.; OLIVEIRA, M. S. Leguminosae nodulating bacteria diversity from three different land use systems in Brazilian Western Amazon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 769-776, 2005.

JORDAN, D.C.; Family III rhizobiacea. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G., ed. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, p.234-256, 1984.

KACI, Y.; HEYRAUD, A.; BARAKAT, M.; HEULIN, T. Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. **Research in Microbiology**, v.156, p. 522–531, 2005.

KADIATA, B.D., MULONGOY, K., ISIRIMASH, N.O. Time course of biological nitrogen fixation, nitrogen absorption and biomass accumulation in three woody legumes. **Biology Agriculture and Horticulture**, v. 13, p. 253–266. 1996.

KARDOL, P.; BEZEMER, T.M.; VAN DER PUTTEN, W.H. Temporal variation in plant-soil feedback controls succession. **Ecology Letters**, v.9, p. 1080–1088, 2006.

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CAMPO, R.J. Genetic diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. **Applied Soil Ecology**, v.32, n.2, p. 210–220, 2006.

KAWAI, F.; ZHANG, D.; SUGIMOTO, M. Isolation and characterization of acid and Al-tolerant microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v.189, p.143-147, 2000.

KIERS, E.T., WEST, S.A., DENINSON, R.F. Maintaining cooperation in the Legume-Rhizobia symbiosis; identifying selection pressures and mechanisms. Nitrogen fixation: origins, applications, and research progress. **Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses**, v.7, p. 59-76, 2008.

LEKBERG, Y.; KOIDE, R.T. Arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, available soil P and nodulation of groundnut (*Arachis hypogaea*) in Zimbabwe. **Ecosystems and Environment** 110. Department of Horticulture, The Pennsylvania State University, University Park, USA. Agriculture, p. 143–148. 2005.

LINDSTROM, K.; LEHTOMAKI, S. Metabolic properties, maximum growth temperature and phage sensitivity of *Rhizobium* sp. (galega) compared with other fast growing rhizobia. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.50, p.277-287, 1998.

LIRA JUNIOR, M. DE A.; LIMAA, A. S. T.; ARRUDAA, J. R. F.; SMITH, D. L. Effect of root temperature on nodule development of bean, lentil and pea. **Soil Biology & Biochemistry**, p 235–239, 2004.

LIU, J.; WANG, E. T.; CHEN, W. X. Diverse rhizobia associated with woody legumes *Wisteria sinensis*, *Cercis racemosa* and *Amorpha fruticosa* grown in the temperate zone of the China. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v.28, n.5, p.465-77, 2005.

LOPES, E. S.; LOVADINI, L. A. C.; MIYASAKA, S.; LEON, J. C.; Capacidade fixadora de nitrogênio de *Rhizobium* autóctone associado com soja perene e siratro, em dois solos do Estado de São Paulo. Boletim científico do instituto agrônomo do Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.30, n.15, p.10, 1971.

L'ATAIEF, B.; SIFI, B.; ZAMAN-ALLAH, M.; DREVON, J.; LACHAÛL, M. Effect of salinity on root-nodule conductance to the oxygen diffusion in the *Cicer arietinum*–*Mesorhizobium ciceri* symbiosis. **Journal of Plant Physiology**. v.116(8), p. 1028—1036. 2006.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. DA. Ecologia e conservação da caatinga: **Uma introdução ao desafio**. Editora Universitária- UFPE. Ed. 2. Recife, p.822. 2005

LEITE, J.; SEIDO, S. L.; PASSOS, S. R.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V. Biodiversity of rhizobia associated with cowpea cultivars in soil of the lower half of the São Francisco River Valley. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33. no prelo. 2009.

MACEDO, M. O.; RESENDE, A. S.; GARCIA, P. C.; BODDEY, R. M. B.; 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**, p. 1516–1524, 2008.

MCGILL, B.; COLLINS, C. A unified theory for macroecology based on spatial patterns of abundance. **Evolutionary Ecology Research**. p. 469–492,2003.

McINNES, A.; THIES, J. E.; ABBOTT, L. K.; HOWIESON, J. G. Structure and diversity among rhizobial strains, populations and communities – a review. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 53, p. 1118-1121, 2004.

MAIOR JÚNIOR, S.G.S.; SOUTO, J.S.; SANTOS, R.V.; SOUTO, P.C. Produção de fitomassa do feijão guandu em diferentes arranjos populacionais. **Tecnologia e Ciências Agropecuárias**, João Pessoa, v.3, n.1, p.1-5. 2009.

MAGURRAN, A.E. **Ecological diversity and its measurement**. Princeton, Princeton University Press, p.179, 1988.

MARRA, L.M. Fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fosfatos por bactérias isoladas de nódulos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Dissertação de Mestrado**, Pós-graduação em Ciências do Solo Lavras: UFLA, p.87, 2009.

MARTINS, P.L., BARACUHY, J.G.V., TROVÃO, D.M.B.M., COSTA, G.M., CAVALCANTI, M.L.F., ALMEIDA, M.V.A., As essências florestais utilizadas nas fogueiras de São João, na cidade de Campina Grande-Pb. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Pb. primeiro semestre, v.4 .n.01.2004.

MARTINS, L.M.V.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of *rizobia* isolated from *cowpea* nodules of the northeast of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n.5-6; p.1005-1010, 1997.

MARTINS, L. M. V. Características ecológicas e fisiológicas de rizóbio de caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) isolados a partir de solos da região nordeste do Brasil. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, p.213, 1996.

MARTINEZ-DRETS, G.; ARIAS, A. Enzymatic basis for differentiation of *Rhizobium* into fast and slow-growing groups. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.109, p 467-470, 1972.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F M. S.; SIQUEIRA, J O. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco cobre e cádmio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 343-355, 2002.

MATOS, R.M.B.; SILVA, E.M.R. da; BERBARA, R.L.L. **Biodiversidade e Índices**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, (Embrapa- CNPAB. Documentos,) v.107, p. 20, 1999.

MEDEIROS, E.V.; MARTINS, C.M.; LIMA, J.M.A.; FERNANDES, Y.T.D.; OLIVEIRA, V.R.; BORGES, W.L. Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 31, n.3, p. 529-535, 2009.



MEDEIROS, E.V.; SILVA, K.J.P.; MARTINS, C.M.; BORGES, W.L. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n. 2, p.9, 2007.

MELLONI, R. ;MOREIRA. F.M.S.;NÓBREGA, R.S.A.;SIQUEIRA, J.O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam Caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 30, p.235-246, 2006.

MENDES, B. V. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth): valiosa forrageira arbórea e produtora de madeira das caatingas. Mossoró, **Coleção Mossoroense** (série B),v. 660, p.31, 1989.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA, M.C.; REZENDE, A.R.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Flora vascular do Cerrado. In: SANO S.M.; ALMEIDA, S.P. DE. Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, DF: **Embrapa-CPAC**, p. 286-556. 1998.

MIDGLEY, J.M. ; BOND, W.J. A synthesis of the demography of African acacias. **Journal of Tropical Ecology**, v.17, p. 871–886, 2001.

MONTEIRO, L. H. A.Sistemas Dinâmicos (2ed, revisada e ampliada). 2. ed. São Paulo: **Editores Livraria da Física**, v. 1, p. 625, 2006.

MOREIRA,F.M.S.Characterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de divergência de Leguminosas introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica, **Tese de Doutorado**, UFRRJ, Rio de Janeiro, p.160, 1991.

MOREIRA, F.M.S.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSTERS, K.; FRANCO, A.A.Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic Applied Microbiology**, Jena, v.16, p.135-146, 1993.

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

MOTA, F. O. B.; OLIVEIRA, J. B. Mineralogia de solos com excesso de sódio no estado do Ceará. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n. 4, p.799-806, 1999.

MOULIN, L.; CHEN, W.M.; BÈNA, G.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. *Rhizobia*: the family is expanding. In: FINAN, T.M.; O'BRIAN,M.R.;LAYZELL, D.B.;VESSEY,J.K.;NEWTON,W.Nitrogen fixation:global perspectives.**Oxon**:CAB International,p.61-65,2002.

NANDAL, K.; SEHRAWAT, A.R.; YADAV, A.S.; VASHISHAT, R.K.; BOORA, K.S. High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium* sp. (*Cajanus*). **Microbiological Research**, p. 367—373, 2005.

NARAYANAN, A.; SYAMALA, R. Response of pigeonpea (*Cajanus cajan*) genotypes to aluminium toxicity. **Indian Journal of Plant Physiology**, v.32, p. 17-24, 1989

NASH, J.F. The bargaining problem. *Econometrica*, v.18. n.2 p.8. 1950.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. p. 15-60. In MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Ecologia microbiana**. Embrapa- CNPMA, Jaguariúna. p.486, 1998.

NÓBREGA, R. S. A.; MOTTA, J. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas à salinidade *in vitro*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 899-905. 2004.

NORRIS, D.O. Acid production by *Rhizobium* a unifying concept. **Plant and Soil**, The Hague, v.22,n.2, p. 143-166, 1965.

ODUM, E.P., BARRET, G.W. Fundamentos de Ecologia. São Paulo. **Thomson Learning** Edições Ltda, São Paulo, p. 612, 2008.

PAFFETTI, D.; DAGUIN, F.; FANCELLI, S.; GNOCCHI, S.; LIPPI, F.; SCOTTI, C.; BAZZICALUPO, M. Influence of plant genotype on the selection of nodulating *Sinorhizobium meliloti* strains by *Medicago sativa*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.73, p. 3–8, 2004.

PEINETTI, H.R.; MENEZES, R.S.C.; TIESSEN, H.; MARIN, A.M.P. Simulating plant productivity under different organic fertilization practices in a maize/native pasture rotation system in semi-arid NE Brazil. **Computers and Electronics in Agriculture**. p. 204–222, 2008.

PERRET, X., STAEHELIN, C., BROUGHTON, W.J., Molecular basis of symbiotic promiscuity. **Microbiology and Molecular Biology Review**, v. 64, p. 180–201, 2000.

PEREIRA, J. R.; VALDIVIESO, C. R.; CORDEIRO, G. C. Recuperação de solos afetados por sódio através do uso do gesso. In: **Seminário Sobre o Uso de Fosfogesso na Agricultura**, Brasília, p.85-105, 1985.

PERIN, A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. Cobertura do solo e acúmulo de nutrientes pelo amendoim forrageiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 791-796, 2003.

PIELOU, E.C. **Population and community ecology.-principles and methods**, p.424, 1983.

PINTO-COELHO, R.M. **Fundamentos em ecologia**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul. p. 251, 2000.

PNUD/FAO/IBAMA/Governo da Paraíba. Consumo de energéticos florestais no setor Domiciliar do Estado da Paraíba, João Pessoa. **PNUD**. 1994.

PROSSER, J.I.; BOHANNAN, B.J.M.; CURTIS, T.P.; ELLIS, R.J.; FIRESTONE, M.K.; FRECKLETON, R.P.; GREEN, J.L.; GREEN, L.E.; KILLHAM, K.; LENNON, J.J.; OSBORN, M.; SOLAN, M.; VAN DER GAST, C.J.; YOUNG, J.P.W. The role of ecological theory in microbial ecology - Essay – Perspectives. **Nature Reviews - Microbiology**, v. 5. Disponível em: [www.nature.com/reviews/micro](http://www.nature.com/reviews/micro). May. 2007.

PUPO, N.I.H. Manual de pastagens e forrageiras. Campinas: **Instituto Campineiro de Ensino Agrícola**, p. 343, 1979.

QUEIROZ, L.P. Distribuição das espécies de Leguminosae na Caatinga. In: SAMPAIO, E.V.S.B.; GIULIETTI, A.M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C. **Vegetação e flora da Caatinga**. APNE/CNIP, Recife, PE, p. 141-153, 2002.

RAI, R.; NASAR, S.K.T.; SINGH, S.J.; PRASAD, V. Interactions between *Rhizobium* strains and lentil (*Lens culinaris* L.) genotypes under salt stress. **Journal of Agricultural Sciences**, Cambridge, v.104, p-199-205, 1985.

RAI, R. The salt tolerance of *Rhizobium* strains and lentil genotypes and the effect on salinity aspects of symbiotic N-fixation. **Journal of Agricultural Sciences**, Cambridge, v.100, p.81-86, 1983.

RATNIEKS, F.L.; MONNIN, T.; FOSTER, K.R. Inclusive fitness theory: novel predictions and stress in eusocial *Hymenoptera*. **Annales Zoologici Fennici**, v.38, p.201-214, 2001.

REIS JÚNIOR, F.B. FARIA S.M. MENDES, I.C. SIMON, M.F. LOUREIRO, M.F. ELLIOT, G.N. YOUNG, P. SPRENT, J.I.; JAMES, E.K. "Beta-Rizóbios": os novos simbioses encontrados em espécies de *Mimosa*. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados** (Documentos), p.20, 2006.

RIBEIRO, M.C.C. BARROS, N.M.S. BARROS JÚNIOR, A.P. SILVEIRA, L.M. Tolerância do sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth) à salinidade durante a germinação e o desenvolvimento de plântulas. UFERSA. **Revista Caatinga** (Mossoró, Brasil), v.21 n.5 (Número Especial), p.123-126, 2008.

RIZZINI, C. T. MORS, W. B. Botânica econômica brasileira. São Paulo, **EPU, EDUSP**, p. 235, 1976.

ROLPH, F.J. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.01g. **Applied Biostatistics Inc.**, New York, USA. 1997.

ROSSO, S. Amostragem, repartição espacial e diversidade/dominância de comunidades de costões rochosos: uma abordagem metodológica. **Laboratório de Ecologia Marinha/USP**, p. 30, 1996.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P. Fixação Biológica de Nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; SILVA, P. H. S.; VIANA, F.M. P. (Org.). **Feijão caupi: avanços tecnológicos**, p. 281-335, 2005.

RUMJANEK, N.G. Protocolo da Embrapa Agrobiologia para Isolamento de Rizóbio a partir de Nódulo de Planta-Isca. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia** - Embrapa-CNPAB. Documentos, v. 105, p. 8, 1999.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; SILVA, F.B.R. Fertilidade dos solos do semi-árido do Nordeste. **CPATSA-EMBRAPA/SBCS**, Petrolina, Brazil, p. 51–71. 1995.

SANTOS, D.R.; COSTA, M.C.; MIRANDA, J.R.P.; SANTOS, R.V. Micorriza e rizóbio no crescimento e nutrição em N e P de mudas de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan.). UFERSA-Universidade Federal Rural do Semi-árido. **Revista Caatinga** (Mossoró), v.21,n.1 p.76-78,2008.

SANTOS, C. E. DE R.; STAMFORD, N.P.; NEVES, M.C.P., RUMJANEK, 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, Recife, PE, UFRPE, 2007.

SANTOS, C. A. F. Guandu PetrolinaA: Opção na Produção de Grãos para a Agricultura Familiar. Petrolina EMBRAPA/CPATSA (**Instruções Técnicas**), v.46, p.6, 2000.

SCHIMEL, J.; BALSER, T.C.; WALLENSTEIN, M. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. **Ecological Society of America** - on line journals. \_v.88, p.1386-1394, 2007.

SCHOLES, R.J.; HALL, D.O. The carbon budget of tropical savannas, woodlands and grasslands. **Modelling Terrestrial Ecosystems** (eds A. Breymeyer, D. Hall, J. Melillo & G. Agren), Wiley, Chichester, p. 69–100, 1996.

SCHUBERT, K.R. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis, transport and metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, California, v. 37, p. 537-574, 1986.

SEIFFERT, N.F.; THIAGO, L.R.L. Legumineira: cultura forrageira para produção de proteína. Campo Grande: **EMBRAPA Gado de Corte** (Circular Técnica), v.13, p.52, 1983.

SHANNON, C.E. "A mathematical theory of communication". **Bell System Technical Journal**. v.27, p. 379-423 e 623-656, 1948.

SHELDRAKE, A.R.; MARAYANAN, A. Growth, development, and nutrient uptake in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) **Journal of Agricultural Science**, v. 52, p. 513-526, 1979.

SILVA, E.F.L., MIRANDA, J.M.S., ARAÚJO, A.S.F., CARVALHO, E.M.S., NUNES, L.A. P.L. Nodulação natural de leguminosas em solos de cerrado do Estado do Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** Recife, PE, UFRPE, v.4, n.3, p.274-277, 2009.

SILVA, V.N.; SILVA, L.E.S.F.; FIGUEIREDO, M.V.B.; CARVALHO, F.G.; SILVA, M.L.R.B.; SILVA, A.J.N. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de

solo da região semi-árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.37(1), p. 16-21, 2007.

SILVA, F.G.; SILVA, V.N.; SILVA, M.L.R.B.. Caracterização de rizóbios nativos que nodulam feijoeiro em solo ácido. In Congresso de Iniciação Científica, 10. **Anais... Resumos**. Recife, Pernambuco. p. 401-402, p. 651, 2000.

SIMPSON, E.H. Measurement of diversity. **Nature**, London. v.163, p. 688, 1949.

SINCLAIR, N.; EAGLESHAM, A.R.J. Intrinsic antibiotic resistance in relation to colony morphology in three populations of west African cowpea rhizobia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 16, p.247-251, 1984.

SIVIERO, M.A.; MOTTA, A.M.; LIMA, D.S.; BIROLI, R.R.; HUH, S.Y.; SANTINONI, I.A.; MURATE, L.S.; CASTRO, A.; MIYAUCHI, M.Y.H.; ZANGARO, W.; NOGUEIRA, M.A.; ANDRADE, G. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. **Applied Soil Ecology**, v.39, p.144 – 152, 2008.

SLATTERY., J.F.; PEARCE, D.J.; SLATTERY, W.J. Effects of resident rhizobial communities and soil type on the effective nodulation of pulse legumes. **Soil Biology & Biochemistry**, v.36. Department of Primary Industries, Rutherglen Research Institute, Rutherglen, Vic. 3685, Australia. p. 1339–1346, 2004.

SMITH, L.T., SMITH, G.M., DE SOUZA, M.R., POCARD, J.M., LE RUDULIER, D., Madkour, M.A. Osmoregulation in *Rhizobium meliloti*: mechanism and control by other environmental signals. **Journal of Experimental Zoology**, v. 268, p. 162–165. 1994.

SMITH, K. P.; GOODMAN, R. M. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. **Annual Reviews of Phytopathology**, v. 37, p. 473–491, 1999.

SOARES, A.L. DE L.; FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, J. PA. R.; VALE, H.M.M. DO; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B. DE; MOREIRA, F.M. de S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG): II – feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p. 803-811, 2006.

SOUCHIE, E.L.; ABOUD, A.C.S. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.1, p. 11-18, mar. 2007.

SOUZA, L.A.G.; NETO, E.B.; SANTOS, C.E.R.S.; STAMFORD, N.P. Desenvolvimento e nodulação natural de leguminosas arbóreas em solos de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.2, p.207-217, 2007.

SPRENT, J.I. Nitrogen fixation and growth of non-crop legume species in diverse environments. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 2/2, p.149–162, 1999.

SPRENT, J.I. Nodulation in Legumes. **Royal Botanic Gardens**, Kew, p. 146, 2001.

SPRENT, J.I. Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis: chaos theory? **Plant and soil**, Dordrecht, v.161, p.1-10,1994.

STACEY, G.;LIBAULT, M.;BRECHENMACHER, L.;WAN, J.;D MAY, G. Genetics and functional genomics of legume nodulation. Review. **Current Opinion in Plant Biology** , v. 9. p. 110–121. 2006.

STOCCO, P.; SANTOS, J.C.P.;VARGAS, V.P.; HUNGRIA,M. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**,v.32,p.1107-1120, 2008.

STRALIOTTO, R., RUMJANEK, N.G. Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**. Embrapa- CNPAB. Documentos,v. 94. p. 51.Nov. 1999\_a.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. Aplicação e evolução dos métodos moleculares para o estudo da biodiversidade do rizóbio. Seropédica: **EMBRAPA-CNPAB** (Documentos),v. 93, p. 70 ,1999\_b.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. p. 719,2004.

TEIXEIRA, F.C.P.; REINERT, F.; RUMJANEK, N.G.; BODDEY, R.M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to *Cratylia mollis* using the <sup>15</sup>N natural abundance technique in the semi-arid Caatinga region of Brazil. **Soil Biology & Biochemistry**. p. 1989–1993, 2006.

THRALL, P.H.; SLATTERY, J.F.;BROADHURST, L.M.; † BICKFORD, S. Geographic patterns of symbiont abundance and adaptation in native Australian Acacia – rhizobia interactions. **Journal of Ecology**. CSIRO Plant Industry, GPO Box 1600, Canberra ACT 2601, Australia. p. 1110–1122. 2007.

TIGRE, C. B. Estudos de silvicultura especializada do Nordeste. Mossoró, **ESAM** (Coleção Mossoroense), v. 41, p. 236, 1976.

TRINICK, M.J. Relationships Amongst the Fast-growing Rhizobia of *Lablab purpureus*, *Leucaena leucocephala*, *Mimosa* spp., *Acacia farnesiana* and *Sesbania grandiflora* and their Affinities with Other Rhizobial Groups. **Journal of Applied Bacteriology**,v. 49,p. 39-53,1980.

TU, J.C. Effects of salinity on *Rhizobium* root hair interaction, nodulation and growth of soybean.**Canadian Journal of Plant Sciences**, Ontario, v.61, p.231-239, 1981.

UFC - Universidade Federal do Ceará.Recomendações de adubação e calagem para o Estado do Ceará-Fortaleza.**UFC**,p.248.1993.

VARGAS, M.A.T.; M. HUNGRIA. Biologia dos solos dos cerrados. **Embrapa-CPAC**, PLANALTINA, DF, p.524, 1997.

VASCONCELOS, J.I.P.; ALMEIDA, R.T. Fixação biológica do nitrogênio em plantas de interesse econômico do Nordeste. **Relatórios técnicos**, Fundação Cearense de Pesquisa e Cultura, v. I, II e III, p. 15, 1980.

VALARINI, M.J.; GODOY, R. Contribuição da fixação simbiótica de nitrogênio na produção de guandu (*Cajanus cajan*(L.) Millsp). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.51, n.3, p.500-504, 1994.

VESSEY, J. K.; CHEMINING'WA, G. N. The genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* in cultivated soils of the eastern Canadian prairie. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38. Department of Plant Science, University of Manitoba, Winnipeg, Canada R3T 2N2. p.153–163. 2006.

VIEIRA, R F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R.F. Leguminosas graníferas. Viçosa: Editora UFV, p.206, 2001.

VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. **Oxford:Blackwell Scientific**, p. 164,1970.

WALKER, K.J.; STEVENS, P.A.; STEVENS, D.P.; MOUNTFORD, J.O.; MANCHESTER, S.J.; PYWELL, R.F. The restoration and recreation of species-rich lowland grassland on land formerly managed for intensive agriculture in UK. **Biology Conservation**, v.119, p. 1–18, 2004.

WARDLE, D.A.; BARDGETT, R.D.; KLIRONOMOS, J.N.; SETA" LA" , H.; VAN DER PUTTEN, W.H.; WALL, D. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. **Science**, v.304, p. 1629 – 1633, 2004.

WARDLE, D.A. Linking the Aboveground and Belowgrounds Components. **Communities and Ecosystems** - Princeton University Press, New Jersey, USA, p. 392, 2002.

WATKIN, E.L.J.; O'HARA, G.W.; HOWIESON, J.G.; GLENN, A.R. Identification of tolerance to soil acidity in inoculant strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.32, p.1393-1403, 2000.

WELSH, D.T. Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p. 263–290, 2000.

WHITTAKER, R.H. Dominance and diversity in land plant communities. **Science**, v.147, n.3655, p.250-260, 1965.

WILHM, J. Graphic and mathematical analyses of biotic communities in polluted streams. **Annual Review of Entomology**, v.17, p.223-252, 1972.

XAVIER, G.R.; MARTINS, L.M.V.; NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Edaphic factors as determinants for the distribution of intrinsic antibiotic resistance in a cowpea, rhizobia population. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.27, p.386-392, 1998.

XAVIER, G.R.; MARTINS, L.M.; RUMJANEK, N.G.; NEVES, M.C.P. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição *in vitro*. UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-árido. **Revista Caatinga** (Mossoró), v.20, n.4, p 01-09, 2007.

YAP, S.F., LIM, S.T. Response of *Rhizobium* sp. UMKL 20 to sodium chloride stress. **Archives of Microbiology**, v. 135, p. 224–228, 1983.

ZAHARAN, H.H., Conditions for successful *Rhizobium*–legume symbiosis in saline environments. **Biology and Fertility Soils**, v.12, p. 73–80, 1991.

ZAHARAN, H.H. Characterization of root-nodule bacteria indigenous in the salt-affected soils of Egypt by lipopolysaccharide, protein and plasmid profiles. **Journal of Basic Microbiology**, v. 32, p. 279–287, 1992.

ZAHARAN, H.H. MOHAMMAD, E.M., EMAM, M.M., ISMAEL, S.S. The chemical composition, structure, and ultrastructure of a halotolerant *rhizobia* isolated from Egypt. In: Proceedings of the 9th Microbiology Conference, Cairo, Egypt. March, v. 25–27, p. 121–148, 1997.

ZAHARAN, H.H., SPRENT, J.L. Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*. **Planta**, v. 167, p. 303–309. 1989.

ZAHARAN, H. H. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. **Journal of Biotechnology**, Botany Department, Faculty of Science, Beni-Suef .v. 91, p.143–153. May 2001.

ZHANG, W. T.; YANG, J. K.; YUAN, T. Y.; ZHOU, J. C. Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 1, p. 201-210, 2007.

ZILLI, J. E.; VALICHESKI, R. R.; RUMJANEK, N. G.; SIMOES-ARAÚJO, J. L.; FREIRE, F. R.; NEVES, M. C. P. Symbiotic efficiency of cowpea *Bradyrhizobium* strains in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 811-818, 2006.

ZILLI, J. E.; VALISHESKI, R. R.; FREIRE, F. R.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Assessment of cowpea rhizobium diversity in Cerrado areas of Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 281-287, 2004.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M.C.P. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**. v.20(3),p. 391-411, 2003.

ZILLI, J. L. E. Caracterização e seleção de estirpes de rizóbio para inoculação de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] em áreas do cerrado. **Dissertação** (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. p. 137, 2001.



## ANEXOS

**Tabela 7.** Características culturais de rizóbios isolados de feijão-caupi.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICA	ESTAÇÃO SECA	ESTAÇÃO CHUVOSA
Cor	Amarelo	58,20%	54,49%
Diâmetro das Colônias	Puntiforme	30,33%	62,18%
	<1	42,60%	9,61%
Elevação das Colônias	Plano	24,59%	61,54%
	Elevado	44,26%	16,70%
	Convexo	29,51%	14,74%
Quantidade de Muco	Ausência de Muco	25,41%	46,15%
	Pouco Muco	46,72%	33,33%
Elasticidade do Muco	Sem Elasticidade	78,69%	73,72%
pH	Ácido	30,33%	26,28%
	Neutro	54,90%	51,28%
Crescimento	1 a 2 dias	96,70%	75,00%
Tipo de Borda	Inteiro	73,77%	70,50%

**Tabela 8.** Características culturais de rizóbios isolados de feijão -guandu.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICA	ESTAÇÃO SECA	ESTAÇÃO CHUVOSA
Cor	Amarelo	67,18%	63,49%
	Branco	18,75%	14,28%
Diâmetro das Colônias	Puntiforme	60,94%	59,52%
	<1	23,44%	26,19%
Elevação das Colônias	Plano	51,56%	51,58%
	Elevado	31,25%	30,16%
Quantidade de Muco	Ausência de Muco	42,18%	47,62%
	Pouco Muco	42,18%	34,92%
Elasticidade do Muco	Sem Elasticidade	67,18%	68,25%
	Pouca	21,87%	12,69%
pH	Ácido	40,62%	37,30%
	Neutro	59,37%	57,14%
Crescimento	1 a 2 dias	84,37%	91,27%
Tipo de Borda	Inteiro	71,87%	72,22%

**Tabela 9.** Características culturais de rizóbios isolados de siratro.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICA	ESTAÇÃO SECA	ESTAÇÃO CHUVOSA
Cor	Amarelo	45,50%	69,35%
	Branco	28,80%	17,74%
Diâmetro das Colônias	Puntiforme	66,70%	70,97%
Elevação das Colônias	Plano	63,30%	67,44%
	Elevado	21,10%	17,74%
Quantidade de Muco	Ausência de Muco	32,20%	38,71%
	Pouco Muco	54,40%	40,32
Elasticidade do Muco	Sem Elasticidade	70,00%	77,42%
pH	Ácido	60,00%	48,40%
	Neutro	50,00%	33,30%
Crescimento	1 a 2 dias	93,30%	100,00%
Tipo de Borda	Inteiro	64,40%	87,10%

**Tabela 10.** Características culturais de rizóbios isolados de mimosa.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICA	ESTAÇÃO SECA	ESTAÇÃO CHUVOSA
Cor	Amarelo	72,72%	73,75%
Diâmetro das Colônias	Puntiforme	63,63%	60,00%
Elevação das Colônias	Plano	63,63%	48,75%
	Elevado	36,36%	51,25%
Quantidade de Muco	Pouco Muco	59,09%	60,00%
Elasticidade do Muco	Sem Elasticidade	80,30%	55,00%
pH	Ácido	92,92%	82,50%
Crescimento	1 a 2 dias	100,00%	98,75%
Tipo de Borda	Inteiro	77,27%	73,75%

**Tabela 11.** Percentual de tolerância dos isolados das plantas-isca estudadas em relação à variação de temperatura.

Espécie	Estação	41°C	43°C	45°C
Feijão-guandu	Seca	100	100	100
Feijão-guandu	Chuvosa	93,75	93,75	87,5
Mimosa	Seca	92,31	92,31	84,61
Mimosa	Chuvosa	92,31	92,31	92,31
Siratro	Chuvosa	92,31	92,31	92,31
Siratro	seca	100	100	100
Feijão-Caupi	seca	73,33	66,7	66,7
Feijão-caupi	chuvosa	68	60	56
Feijão-caupi	nódulo-chuvosa	100	100	100

**Tabela 12:** Percentual da velocidade de crescimento dos isolados das plantas-isca avaliadas

<b>Espécie</b>	<b>Estação</b>	<b>Rápido</b>	<b>Médio</b>	<b>Lento</b>
Feijão-guandu	Seca	69	7,69	23,07
Feijão-guandu	Chuvosa	81,25	18,75	0
Mimosa	Seca	100	0	0
Mimosa	Chuvosa	100	0	0
Siratros	Chuvosa	100	0	0
Siratros	seca	100	0	0
Feijão-Caupi	seca	100	0	0
Feijão-caupi	chuvosa	72	20	8

**Tabela 13:** Percentual da quantidade de muco produzido pelos isolados das plantas-isca avaliadas.

<b>Espécie</b>	<b>Estação</b>	<b>Muito</b>	<b>Médio</b>	<b>Pouco</b>	<b>Nenhum</b>
Feijão-guandu	Seca	15,38	7,69	38	38
Feijão-guandu	Chuvosa	6,25	25	25	43,75
Mimosa	Seca	7,7	23,07	38	30,77
Mimosa	Chuvosa	0	7,7	53,9	38
Siratros	Chuvosa	7,7	30,6	23,7	38
Siratros	seca	7,7	15,9	38	38
Feijão-Caupi	seca	20	20	33,33	26,7
Feijão-caupi	chuvosa	20	32	32	16

**Tabela 14:** Percentual de tolerância á elevação da concentração de NaCl pelos isolados das plantas-isca avaliadas.

<b>Espécie</b>	<b>Tolerância à elevação da concentração de NaCl</b>		
	<b>1%</b>	<b>3%</b>	<b>5%</b>
Feijão-Guandu seca	100	100	100
Feijão-Guandu Chuva	87,5	87,5	87,5
Mimosa chuva	92,3	92,3	92,3
Mimosa seca	100	92,3	92,3
Siratros chuva	92,3	92,3	92,3
Siratros seca	100	92,3	92,3
Feijão-Caupi seca	73,33	73,33	73,33
Feijão-Caupi chuva	96	96	96

**Tabela 15:** Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de seus isolados, indicando o comportamento dos mesmos sob as diferentes variações de temperatura.

TOLERÂNCIA À TEMPERATURA							
ISOLADO	GRUPO	FAIXAS DE TEMPERATURA					
		41°C		43°C		45°C	
		REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2	REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2	REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2
3 11G S	1	+	+	+	+	+	+
4 2G S	2	+	+	+	+	+	+
6 8G S	3	+	+	+	+	+	+
3 2G S <sup>2</sup>	4	+	+	+	+	+	+
12 8G S	5	+	+	+	+	+	+
7 6G S	6	+	+	+	+	+	+
5 2G S <sup>2</sup>	7	+	+	+	+	+	+
1 8G S	8	+	+	+	+	+	+
311GS <sup>2</sup>	9	+	+	+	+	+	+
9 4G S	10	+	+	+	+	+	+
5 11G S	11	+	+	+	+	+	+
3 6G S	12	+	+	+	+	+	+
4 11G S	13	+	+	+	+	+	+
7 4G C	1	+	+	+	+	+	+
3 5G C	2	+	+	+	+	+	+
9 7G C	3	+	+	+	+	+	+
8 8G C	4	+	+	+	+	+	+
4 3G C	5	+	+	+	+	+	+
2 2G C	6	+	+	+	+	+	+
1 5G C	7	+	+	+	+	+	+
8 2G C	8	+	+	+	+	+	+
6 8G C	9	-	-	-	-	-	-
2 1G C	10	+	+	+	+	+	+
8 3G C	11	+	+	+	+	+	+
6 3G C	12	+	+	+	+	+	+
2 3G C	13	+	+	+	+	+	+
2 5G C	14	+	+	+	+	+	+
2 6G C	15	+	+	+	+	+	+
10 6G C	16	+	+	+	+	-	-
5 3M C	11	+	+	+	+	+	+
4 7M C	3	+	+	+	+	-	-
8 9M C	9	+	+	+	+	+	+
3 2M C	4	+	+	+	+	+	+
105M C	5	+	+	+	+	+	+
1 9M C	2	+	+	+	+	+	+
8 1M C	1	+	+	+	+	+	+
6 3M C	12	+	+	+	+	+	+
4 9M C	7	+	+	+	+	+	+
101M C	10	+	+	+	+	+	+
6 9M C	6	+	+	+	+	+	+
6 7M C	8	+	+	+	+	+	+
4 3M C	13	-	-	-	-	-	-

1 9M S	1	-	-	-	-	-	-
7 4M S	2	+	+	+	+	+	+
8 2M S	3	+	+	+	+	+	+
3 8M S	4	+	+	+	+	+	+
6 2M S	5	+	+	+	+	+	+
4 3M S	6	+	+	+	+	+	+
8 8M S	7	+	+	+	+	+	+
4 5M S	8	+	+	+	+	+	+
4 6M S	9	+	+	+	+	+	+
9 3M S	10	+	+	+	+	+	+
3 3M S	11	+	+	+	+	+	+
106M S	12	+	+	+	+	+	+
2 6M S	13	+	+	+	+	+	+
<hr/>							
8 9S C	1	+	+	+	+	+	+
14 9S C	2	+	+	+	+	+	+
4 8S C	3	+	+	+	+	+	+
510S C <sup>2</sup>	4	+	+	+	+	+	+
6 8S C	5	+	+	+	+	+	+
5 8S C	6	+	+	+	+	+	+
2 10S C	7	+	+	+	+	+	+
2 7S C	8	+	+	+	+	+	+
12 9S C	9	-	-	-	-	-	-
7 9S C <sup>2</sup>	10	+	+	+	+	+	+
13 9S C	11	+	+	+	+	+	+
15 5S C	12	+	+	+	+	+	+
7 9S C	13	+	+	+	+	+	+
<hr/>							
4 6S S	1	+	+	+	+	+	+
1 8S S	2	+	+	+	+	+	+
5 2S S	3	+	+	+	+	+	+
2 3S S	4	+	+	+	+	+	+
10 2S S	5	+	+	+	+	+	+
2 2S S	6	+	+	+	+	+	+
9 5S S	7	+	+	+	+	+	+
4 3S S	8	+	+	+	+	+	+
6 3S S	9	+	+	+	+	+	+
1 2S S	10	+	+	+	+	+	+
6 2S S	11	+	+	+	+	+	+
5 4S S	12	+	+	+	+	+	+
19 3S S	13	+	+	+	+	+	+
<hr/>							
9 9C S	1	+	+	+	+	+	+
2 9C S	2	+	+	+	+	+	+
1 4C S	3	-	-	-	-	-	-
1711CS	4	-	-	-	-	-	-
4 11C S	5	-	-	-	-	-	-
6 9C S	6	+	+	+	+	+	+
12 8C S	7	+	+	+	+	+	+
1 11C S	8	+	+	+	+	+	+
4 6C S	9	+	+	-	-	-	-
3 9C S	10	+	+	+	+	+	+
8 8C S	11	+	+	+	+	+	+

7 5C S	12	+	+	+	+	+	+
1 6C S	13	+	+	+	+	+	+
1 3C S	14	+	+	+	+	+	+
12 2C S	15	-	-	-	-	-	-

---

15 1C C	1	+	+	+	+	-	-
4 4C C	2	-	-	-	-	-	-
23a2CC	3	-	-	-	-	-	-
9 10C C	4	+	+	-	-	-	-
4 8C C	5	+	+	+	+	+	+
16aSAC	6	+	+	-	-	-	-
1 9C C	7	+	+	+	+	+	+
8 11C C	8	-	-	-	-	-	-
8 4C C	9	+	+	+	+	+	+
9 1C' C	10	-	-	-	-	-	-
8 6C C	11	+	+	+	+	+	+
3 9C C	12	-	-	-	-	-	-
28 1C C	13	+	+	+	+	+	+
7 5C C	14	+	+	+	+	+	+
19 1C C	15	+	+	+	+	+	+
3 5C C	16	-	-	-	-	-	-
12 SA C	17	+	+	+	+	+	+
1 4C C	18	+	+	+	+	+	+
25a2CC	19	+	+	+	+	+	+
10 SA C	20	+	+	+	+	+	+
5 11C C	21	+	+	+	+	+	+
3 11C C	22	+	+	+	+	+	+
1a SA C	23	+	+	+	+	+	+
8 1C C	24	-	-	-	-	-	-
7 SA C	25	-	-	-	-	-	-

---

Sinal (+) indica tolerância; sinal (-) morte.

**Tabela 16:** Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de tempo de crescimento e quantidade de muco, indicando a sobrevivência dos mesmos à temperatura de 45° C.

Isolado	Grupo	CARACTERÍSTICAS			
		Culturais		Temperatura - 45°C	
		Tempo de crescimento	Quantidade de muco	Repetição 1	Repetição 2
3 11G S	1	rápido	muito	+	+
4 2G S	2	rápido	nenhum	+	+
6 8G S	3	rápido	pouco	+	+
3 2G S <sup>2</sup>	4	rápido	nenhum	+	+
12 8G S	5	rápido	pouco	+	+
7 6G S	6	rápido	pouco	+	+
5 2G S <sup>2</sup>	7	lento	nenhum	+	+
1 8G S	8	médio	muito	+	+
3 11G S <sup>2</sup>	9	rápido	nenhum	+	+
9 4G S	10	rápido	nenhum	+	+
5 11G S	11	rápido	médio	+	+
3 6G S	12	lento	pouco	+	+
4 11G S	13	lento	Pouco	+	+
7 4G C	1	rápido	médio	+	+
3 5G C	2	rápido	médio	+	+
9 7G C	3	médio	médio	+	+
8 8G C	4	rápido	médio	+	+
4 3G C	5	rápido	nenhum	+	+
2 2G C	6	rápido	nenhum	+	+
1 5G C	7	médio	nenhum	+	+
8 2G C	8	médio	nenhum	+	+
6 8G C	9	rápido	nenhum	-	-
2 1G C	10	rápido	nenhum	+	+
8 3G C	11	rápido	pouco	+	+
6 3G C	12	rápido	pouco	+	+
2 3G C	13	rápido	pouco	+	+
2 5G C	14	rápido	nenhum	+	+
2 6G C	15	rápido	muito	+	+
10 6G C	16	rápido	pouco	-	-
5 3M C	11	rápido	pouco	+	+
4 7M C	3	rápido	pouco	-	-
8 9M C	9	rápido	pouco	+	+
3 2M C	4	rápido	médio	+	+
10 5M C	5	rápido	nenhum	+	+
1 9M C	2	rápido	nenhum	+	+
8 1M C	1	rápido	muito	+	+
6 3M C	12	rápido	pouco	+	+
4 9M C	7	rápido	pouco	+	+
10 1M C	10	rápido	médio	+	+
6 9M C	6	rápido	nenhum	+	+
6 7M C	8	rápido	nenhum	+	+
4 3M C	13	rápido	médio	-	-
1 9M S	1	rápido	nenhum	-	-

7 4M S	2	rápido	pouco	+	+
8 2M S	3	rápido	pouco	+	+
3 8M S	4	rápido	nenhum	+	+
6 2M S	5	rápido	médio	+	+
4 3M S	6	rápido	pouco	+	+
8 8M S	7	rápido	pouco	+	+
4 5M S	8	rápido	pouco	+	+
4 6M S	9	rápido	pouco	+	+
9 3M S	10	rápido	nenhum	+	+
3 3M S	11	rápido	pouco	+	+
10 6M S	12	rápido	nenhum	+	+
2 6M S	13	rápido	nenhum	+	+
<hr/>					
8 9S C	1	rápido	médio	+	+
14 9S C	2	rápido	médio	+	+
4 8S C	3	rápido	médio	+	+
5 10S C <sup>2</sup>	4	rápido	médio	+	+
6 8S C	5	rápido	pouco	+	+
5 8S C	6	rápido	pouco	+	+
2 10S C	7	rápido	nenhum	+	+
2 7S C	8	rápido	nenhum	+	+
12 9S C	9	rápido	pouco	-	-
7 9S C <sup>2</sup>	10	rápido	muito	+	+
13 9S C	11	rápido	nenhum	+	+
15 5S C	12	rápido	nenhum	+	+
7 9S C	13	rápido	nenhum	+	+
<hr/>					
4 6S S	1	rápido	nenhum	+	+
1 8S S	2	rápido	nenhum	+	+
5 2S S	3	rápido	nenhum	+	+
2 3S S	4	rápido	médio	+	+
10 2S S	5	rápido	médio	+	+
2 2S S	6	rápido	pouco	+	+
9 5S S	7	rápido	nenhum	+	+
4 3S S	8	rápido	nenhum	+	+
6 3S S	9	rápido	muito	+	+
1 2S S	10	rápido	pouco	+	+
6 2S S	11	rápido	pouco	+	+
5 4S S	12	rápido	pouco	+	+
19 3S S	13	rápido	pouco	+	+
<hr/>					
9 9C S	1	rápido	muito	+	+
2 9C S	2	rápido	médio	+	+
1 4C S	3	rápido	pouco	-	-
17 11C S	4	rápido	pouco	-	-
4 11C S	5	rápido	médio	-	-
6 9C S	6	rápido	pouco	+	+
12 8C S	7	rápido	pouco	+	+
1 11C S	8	rápido	nenhum	+	+
4 6C S	9	rápido	nenhum	-	-
3 9C S	10	rápido	nenhum	+	+
8 8C S	11	rápido	pouco	+	+
7 5C S	12	rápido	nenhum	+	+
1 6C S	13	rápido	muito	+	+



1 3C S	14	rápido	médio	+	+
12 2C S	15	rápido	muito	-	-
15 1C C	1	lento	muito	-	-
4 4C C	2	lento	médio	-	-
23a2C C	3	médio	médio	-	-
9 10C C	4	rápido	nenhum	-	-
4 8C C	5	rápido	nenhum	+	+
16aSA C	6	rápido	pouco	-	-
1 9C C	7	rápido	pouco	+	+
8 11C C	8	rápido	nenhum	-	-
8 4C C	9	rápido	médio	+	+
9 1C' C	10	rápido	nenhum	-	-
8 6C C	11	rápido	nenhum	+	+
3 9C C	12	rápido	médio	-	-
28 1C C	13	rápido	pouco	+	+
7 5C C	14	rápido	pouco	+	+
19 1C C	15	rápido	pouco	+	+
3 5C C	16	rápido	pouco	-	-
12 SA C	17	rápido	pouco	+	+
1 4C C	18	rápido	muito	+	+
25a2C C	19	rápido	muito	+	+
10 SA C	20	rápido	muito	+	+
5 11C C	21	médio	muito	+	+
3 11C C	22	médio	nenhum	+	+
1a SA C	23	médio	pouco	+	+
8 1C C	24	médio	nenhum	-	-
7 SA C	25	rápido	nenhum	-	-

Sinal (+) indica tolerância; sinal (-) morte.

**Tabela 17:** Isolados representativos identificados de acordo com as plantas-isca utilizadas e com as características culturais de seus isolados, indicando o comportamento dos mesmos sob as diferentes variações de salinidade.

		TOLERÂNCIA À SALINIDADE					
Isolado	Grupo	FAIXAS DE SALINIDADE					
		1%		3%		5%	
		REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2	REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2	REPETIÇÃO 1	REPETIÇÃO 2
3 11G S	1	+	+	+	+	+	+
4 2G S	2	+	+	+	+	+	+
6 8G S	3	+	+	+	+	+	+
3 2G S <sup>2</sup>	4	+	+	+	+	+	+
12 8G S	5	+	+	+	+	+	+
7 6G S	6	+	+	+	+	+	+
5 2G S <sup>2</sup>	7	+	+	+	+	+	+
1 8G S	8	+	+	+	+	+	+
311GS <sup>2</sup>	9	+	+	+	+	+	+
9 4G S	10	+	+	+	+	+	+
5 11G S	11	+	+	+	+	+	+
3 6G S	12	+	+	+	+	+	+
4 11G S	13	+	+	+	+	+	+
7 4G C	1	+	+	+	+	+	+
3 5G C	2	+	+	+	+	+	+
9 7G C	3	+	+	+	+	+	+
8 8G C	4	+	+	+	+	+	+
4 3G C	5	+	+	+	+	+	+
2 2G C	6	+	+	+	+	+	+
1 5G C	7	+	+	+	+	+	+
8 2G C	8	+	+	+	+	+	+
6 8G C	9	+	+	+	+	+	+
2 1G C	10	+	+	+	+	+	+
8 3G C	11	+	+	+	+	+	+
6 3G C	12	-	-	-	-	-	-
2 3G C	13	+	+	+	+	+	+
2 5G C	14	+	+	+	+	+	+
2 6G C	15	-	-	-	-	-	-
106G C	16	+	+	+	+	+	+
5 3M C	11	+	+	+	+	+	+
4 7M C	3	+	+	+	+	+	+
8 9M C	9	+	+	+	+	+	+
3 2M C	4	+	+	+	+	+	+
105M C	5	+	+	+	+	+	+
1 9M C	2	+	+	+	+	+	+
8 1M C	1	+	+	+	+	+	+
6 3M C	12	+	+	+	+	+	+
4 9M C	7	+	+	+	+	+	+
101M C	10	+	+	+	+	+	+
6 9M C	6	-	-	-	-	-	-
6 7M C	8	+	+	+	+	-	-
4 3M C	13	+	+	+	+	+	+

1 9M S	1	+	+	-	-	-	-
7 4M S	2	+	+	+	+	+	+
8 2M S	3	+	+	+	+	+	+
3 8M S	4	+	+	+	+	+	+
6 2M S	5	+	+	+	+	+	+
4 3M S	6	+	+	+	+	+	+
8 8M S	7	+	+	+	+	+	+
4 5M S	8	+	+	+	+	+	+
4 6M S	9	+	+	+	+	+	+
9 3M S	10	+	+	+	+	+	+
3 3M S	11	+	+	+	+	+	+
106M S	12	+	+	+	+	+	+
2 6M S	13	+	+	+	+	+	+
<hr/>							
8 9S C	1	+	+	+	+	+	+
14 9S C	2	+	+	+	+	+	+
4 8S C	3	+	+	+	+	+	+
510S C <sup>2</sup>	4	+	+	+	+	+	+
6 8S C	5	+	+	+	+	+	+
5 8S C	6	+	+	+	+	+	+
2 10S C	7	+	+	+	+	+	+
2 7S C	8	+	+	+	+	+	+
12 9S C	9	-	-	-	-	-	-
7 9S C <sup>2</sup>	10	+	+	+	+	+	+
13 9S C	11	+	+	+	+	+	+
15 5S C	12	+	+	+	+	+	+
7 9S C	13	+	+	+	+	+	+
<hr/>							
4 6S S	1	+	+	+	+	+	+
1 8S S	2	+	+	+	+	+	+
5 2S S	3	+	+	+	+	+	+
2 3S S	4	+	+	+	+	+	+
10 2S S	5	+	+	+	+	+	+
2 2S S	6	+	+	+	+	+	+
9 5S S	7	+	+	+	+	+	+
4 3S S	8	+	+	+	+	+	+
6 3S S	9	+	+	+	+	+	+
1 2S S	10	+	+	+	+	+	+
6 2S S	11	+	+	+	+	+	+
5 4S S	12	+	+	+	+	+	+
19 3S S	13	+	+	-	-	-	-
<hr/>							
9 9C S	1	+	+	+	+	+	+
2 9C S	2	+	+	+	+	+	+
1 4C S	3	-	-	-	-	-	-
1711CS	4	-	-	-	-	-	-
4 11C S	5	-	-	-	-	-	-
6 9C S	6	+	+	+	+	+	+
12 8C S	7	+	+	+	+	+	+
1 11C S	8	+	+	-	-	-	-
4 6C S	9	+	+	+	+	+	+
3 9C S	10	+	+	+	+	+	+
8 8C S	11	+	+	+	+	+	+
7 5C S	12	+	+	+	+	+	+

<b>1 6C S</b>	<b>13</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1 3C S</b>	<b>14</b>	+	+	+	+	+	+
<b>12 2C S</b>	<b>15</b>	-	-	-	-	-	-
<hr/>							
<b>151C C</b>	<b>1</b>	+	+	+	+	+	+
<b>4 4C C</b>	<b>2</b>	-	-	-	-	-	-
<b>23a2CC</b>	<b>3</b>	+	+	+	+	+	+
<b>910C C</b>	<b>4</b>	+	+	+	+	+	+
<b>4 8C C</b>	<b>5</b>	+	+	+	+	+	+
<b>16aSA</b>	<b>6</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1 9C C</b>	<b>7</b>	+	+	+	+	+	+
<b>811C C</b>	<b>8</b>	+	+	+	+	+	+
<b>8 4C C</b>	<b>9</b>	+	+	+	+	+	+
<b>9 1C<sup>1</sup> C</b>	<b>10</b>	+	+	+	+	+	+
<b>8 6C C</b>	<b>11</b>	+	+	+	+	+	+
<b>3 9C C</b>	<b>12</b>	+	+	+	+	+	+
<b>28 1C C</b>	<b>13</b>	+	+	+	+	+	+
<b>7 5C C</b>	<b>14</b>	+	+	+	+	+	+
<b>19 1C C</b>	<b>15</b>	+	+	+	+	+	+
<b>3 5C C</b>	<b>16</b>	+	+	+	+	+	+
<b>12 SA C</b>	<b>17</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1 4C C</b>	<b>18</b>	+	+	+	+	+	+
<b>25a2CC</b>	<b>19</b>	+	+	+	+	+	+
<b>10 SA C</b>	<b>20</b>	+	+	+	+	+	+
<b>5 11C C</b>	<b>21</b>	+	+	+	+	+	+
<b>3 11C C</b>	<b>22</b>	+	+	+	+	+	+
<b>1a SA C</b>	<b>23</b>	+	+	+	+	+	+
<b>8 1C C</b>	<b>24</b>	+	+	+	+	+	+
<b>7 SA C</b>	<b>25</b>	+	+	+	+	+	+

Sinal (+) indica tolerância; sinal (-) morte.

**Tabela 18:** Espécies de leguminosa nativas e codificação de solo coletado.

<b>Espécie</b>	<b>Amostra de solo</b>
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> <b>Tul. (Catingueira)</b>	1
<i>Bauhinia cheilantha</i> <b>(Mororó)</b>	2
<i>Mimosa acustistipula</i> <b>(Jurema-branca)</b>	3
<i>Erythrina fusca</i> <b>(Mulungu)</b>	4
<i>Mimosa tenuiflora</i> <b>(Jurema-Preta)</b>	5
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> <b>(Benth.) Brenan (Angico)</b>	6
<i>Mimosa acustistipula</i> <b>(Jurema-branca)</b>	7
<i>Toresia cearensis</i> <b>Fr. All (Emburana)</b>	8
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> <b>(Sabiá)</b>	9
<i>Erythrina fusca</i> <b>(Mulungu)</b>	10
<i>Toresia cearensis</i> <b>Fr. All (Emburana)</b>	11

**Tabela 19:** Isolados representativos identificados de acordo com as plantas nativas e isolados, com as características culturais de tempo de crescimento e quantidade de muco, indicando a sobrevivência dos mesmos á temperatura de 45° C.

Leguminosa Espécie vegetal	Isolado	Grupo	Culturais		Tolerância	
			Tempo de crescimento	Quantidade de muco	Repetição 1	Repetição 2
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	3 11G S	1	rápido	muito	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	4 2G S	2	rápido	nenhum	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	6 8G S	3	rápido	pouco	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	3 2G S <sup>2</sup>	4	rápido	nenhum	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	12 8G S	5	rápido	pouco	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	7 6G S	6	rápido	pouco	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	5 2G S <sup>2</sup>	7	lento	nenhum	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	1 8G S	8	médio	muito	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	3 11G S <sup>2</sup>	9	rápido	nenhum	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	9 4G S	10	rápido	nenhum	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 11G S	11	rápido	médio	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	3 6G S	12	lento	pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4 11G S	13	lento	Pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	7 4G C	1	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurem-preta)	3 5G C	2	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	9 7G C	3	médio	médio	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	8 8G C	4	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3G C	5	rápido	nenhum	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	2 2G C	6	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurem-preta)	1 5G C	7	médio	nenhum	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	8 2G C	8	médio	nenhum	+	+

<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	6 8G C	9	rápido	nenhum	-	-
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul. (Catingueira)	2 1G C	10	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	8 3G C	11	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 3G C	12	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 3G C	13	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurem-preta)	2 5G C	14	rápido	nenhum	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	2 6G C	15	rápido	muito	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	10 6G C	16	rápido	pouco	-	-
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	5 3M C	11	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 7M C	3	rápido	pouco	-	-
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	8 9M C	9	rápido	pouco	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	3 2M C	4	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	10 5M C	5	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	1 9M C	2	rápido	nenhum	+	+
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	8 1M C	1	rápido	muito	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 3M C	12	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	4 9M C	7	rápido	pouco	+	+
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	10 1M C	10	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	6 9M C	6	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 7M C	8	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3M C	13	rápido	médio	-	-
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	1 9M S	1	rápido	nenhum	-	-

<i>Erythrina fusca</i> (Emburana)	7 4M S	2	rápido	pouco	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	8 2M S	3	rápido	pouco	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	3 8M S	4	rápido	nenhum	+	+
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	6 2M S	5	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3M S	6	rápido	pouco	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	8 8M S	7	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	4 5M S	8	rápido	pouco	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6M S	9	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	9 3M S	10	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	3 3M S	11	rápido	pouco	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	10 6M S	12	rápido	nenhum	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	2 6M S	13	rápido	nenhum	+	+
<hr/>						
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	8 9S C	1	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	14 9S C	2	rápido	médio	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	4 8S C	3	rápido	médio	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	5 10S C <sup>2</sup>	4	rápido	médio	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	6 8S C	5	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	5 8S C	6	rápido	pouco	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	2 10S C	7	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 7S C	8	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	12 9S C	9	rápido	pouco	-	-
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	7 9S C <sup>2</sup>	10	rápido	muito	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	13 9S C	11	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	15 5S C	12	rápido	nenhum	+	+



<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	7 9S C	13	rápido	nenhum	+	+
<hr/>						
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6S S	1	rápido	nenhum	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All. (Emburana)	1 8S S	2	rápido	nenhum	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	5 2S S	3	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 3S S	4	rápido	médio	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	10 2S S	5	rápido	médio	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	2 2S S	6	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	9 5S S	7	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3S S	8	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 3S S	9	rápido	muito	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	1 2S S	10	rápido	pouco	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	6 2S S	11	rápido	pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 4S S	12	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	19 3S S	13	rápido	pouco	+	+
<hr/>						
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	9 9C S	1	rápido	muito	+	+
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	2 9C S	2	rápido	médio	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	1 4C S	3	rápido	pouco	-	-
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	17 11C S	4	rápido	pouco	-	-
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4 11C S	5	rápido	médio	-	-
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	6 9C S	6	rápido	pouco	+	+
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	12 8C S	7	rápido	pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	1 11C S	8	rápido	nenhum	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6C S	9	rápido	nenhum	-	-
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	3 9C S	10	rápido	nenhum	+	+

<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	8 8C S	11	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	7 5C S	12	rápido	nenhum	+	+
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	1 6C S	13	rápido	muito	+	+
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	1 3C S	14	rápido	médio	+	+
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	12 2C S	15	rápido	muito	-	-
<hr/>						
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	15 1C C	1	lento	muito	-	-
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4 4C C	2	lento	médio	-	-
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	23a 2C C	3	médio	médio	-	-
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	9 10C C	4	rápido	nenhum	-	-
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	4 8C C	5	rápido	nenhum	+	+
<i>Nódulo - Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	16a SA C	6	rápido	pouco	-	-
<i>Mimosa caesalpinia</i> (Sabiá)	1 9C C	7	rápido	pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	8 11C C	8	rápido	nenhum	-	-
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	8 4C C	9	rápido	médio	+	+
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	9 1C <sup>1</sup> C	10	rápido	nenhum	-	-
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	8 6C C	11	rápido	nenhum	+	+
<i>Mimosa caesalpinia</i> (Sabiá)	3 9C C	12	rápido	médio	-	-
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	28 1C C	13	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	7 5C C	14	rápido	pouco	+	+
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	19 1C C	15	rápido	pouco	+	+
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	3 5C C	16	rápido	pouco	-	-
<i>Nódulo - Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	12 SA C	17	rápido	pouco	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	1 4C C	18	rápido	muito	+	+

<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	25a 2C C	19	rápido	muito	+	+
<i>Nódulo - Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	10 SA C	20	rápido	muito	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 11C C	21	médio	muito	+	+
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	3 11C C	22	médio	nenhum	+	+
<i>Nódulo - Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	1a SA C	23	médio	pouco	+	+
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	8 1C C	24	médio	nenhum	-	-
<i>Nódulo - Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	7 SA C	25	rápido	nenhum	-	-

Sinal (+) indica tolerância; sinal (-) morte.

**Tabela 20:** Isolados representativos identificados de acordo com as plantas nativas, isolados das plantas-isca e grupos culturais utilizados para análise genética.

Leguminosa	Isolado	Grupo
Espécie vegetal		
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	3 11G S	1
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	4 2G S	2
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	6 8G S	3
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	12 8G S	5
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	7 6G S	6
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	1 8G S	8
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	9 4G S	10
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 11G S	11
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	3 6G S	12
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4 11G S	13
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	9 7G C	3
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3G C	5
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	2 2G C	6

<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	8 2G C	8
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	6 8G C	9
<i>Caesalpinia</i> <i>pyramidalis</i> Tul. (Catingueira)	2 1G C	10
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	8 3G C	11
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 3G C	13
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurem-preta)	2 5G C	14
<i>Anadenanthera</i> <i>macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	10 6G C	16

---

<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	5 3M C	11
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 7M C	3
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	8 9M C	9
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	10 5M C	5
<i>Caesalpinia</i> <i>pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	8 1M C	1
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	4 9M C	7
<i>Caesalpinia</i> <i>pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	10 1M C	10
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	6 9M C	6
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 7M C	8
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3M C	13

---

<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	1 9M S	1
<i>Erythrina fusca</i> (Emburana)	7 4M S	2
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	8 2M S	3
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	3 8M S	4
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Mororó)	6 2M S	5
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	4 3M S	6

<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6M S	9
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	9 3M S	10
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	3 3M S	11
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	2 6M S	13
<hr/>		
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	14 9S C	2
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	4 8S C	3
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	6 8S C	5
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	5 8S C	6
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All(Emburana)	2 10S C	7
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 7S C	8
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	12 9S C	9
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	7 9S C <sup>2</sup>	10
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	13 9S C	11
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	15 5S C	12
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	7 9S C	13
<hr/>		
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6S S	1
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	5 2S S	3
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	2 3S S	4
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	10 2S S	5
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	2 2S S	6
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	9 5S S	7
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	6 3S S	9
<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	1 2S S	10

<i>Bauhinia cheilanta</i> (Mororó)	6 2S S	11
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 4S S	12
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	9 9C S	1
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	4 11C S	5
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	6 9C S	6
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	12 8C S	7
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	4 6C S	9
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> (Sabiá)	3 9C S	10
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	8 8C S	11
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	7 5C S	12
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan (Angico)	1 6C S	13
<i>Mimosa acustistipula</i> (Jurema-branca)	1 3C S	14
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	9 10C C	4
<i>Toresia cearensis</i> Fr. All (Emburana)	4 8C C	5
<i>Mimosa caesalpinia</i> (Sabiá)	1 9C C	7
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	8 11C C	8
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	8 4C C	9
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Jurema-preta)	7 5C C	14
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	1 4C C	18
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	5 11C C	21
<i>Erythrina fusca</i> (Mulungu)	3 11C C	22
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.(Catingueira)	8 1C C	24

**Tabela 21:** Níveis de fertilidade para interpretação de resultados de análise do solo utilizados pelos laboratórios do Estado do Ceará.

<b>Classificação</b>					
<b>Det.</b>	<b>Unid.</b>	<b>Baixo</b>	<b>Médio</b>	<b>Alto</b>	<b>Muito Alto</b>
Al(Al <sup>3+</sup> )	meq/100cm <sup>3</sup>	0-0,5	0,6-1,0	>1,0	-
Ca(Ca <sup>2+</sup> )	meq/100cm <sup>3</sup>	0-1,5	1,6-4,0	>4,0	-
Mg(Mg <sup>2+</sup> )	meq/100cm <sup>3</sup>	0-0,5	0,6-1,0	>1,0	-
K(K <sup>+</sup> )	ug/cm <sup>3</sup>	0-45	46-90	91-180	>180
P(P)	ug/cm <sup>3</sup>	0-10	nov/20	21-40	>40
Mat.Org.(M.O.)	% g/Kg	0-1,5 x 10	1,6-3,0x10	>3,0x10	-

<b>Acidez</b>			
pH(H <sub>2</sub> O)(1:2,5)	Alta	Média	Baixa
	<5,0	5,1-5,9	6,0-6,9

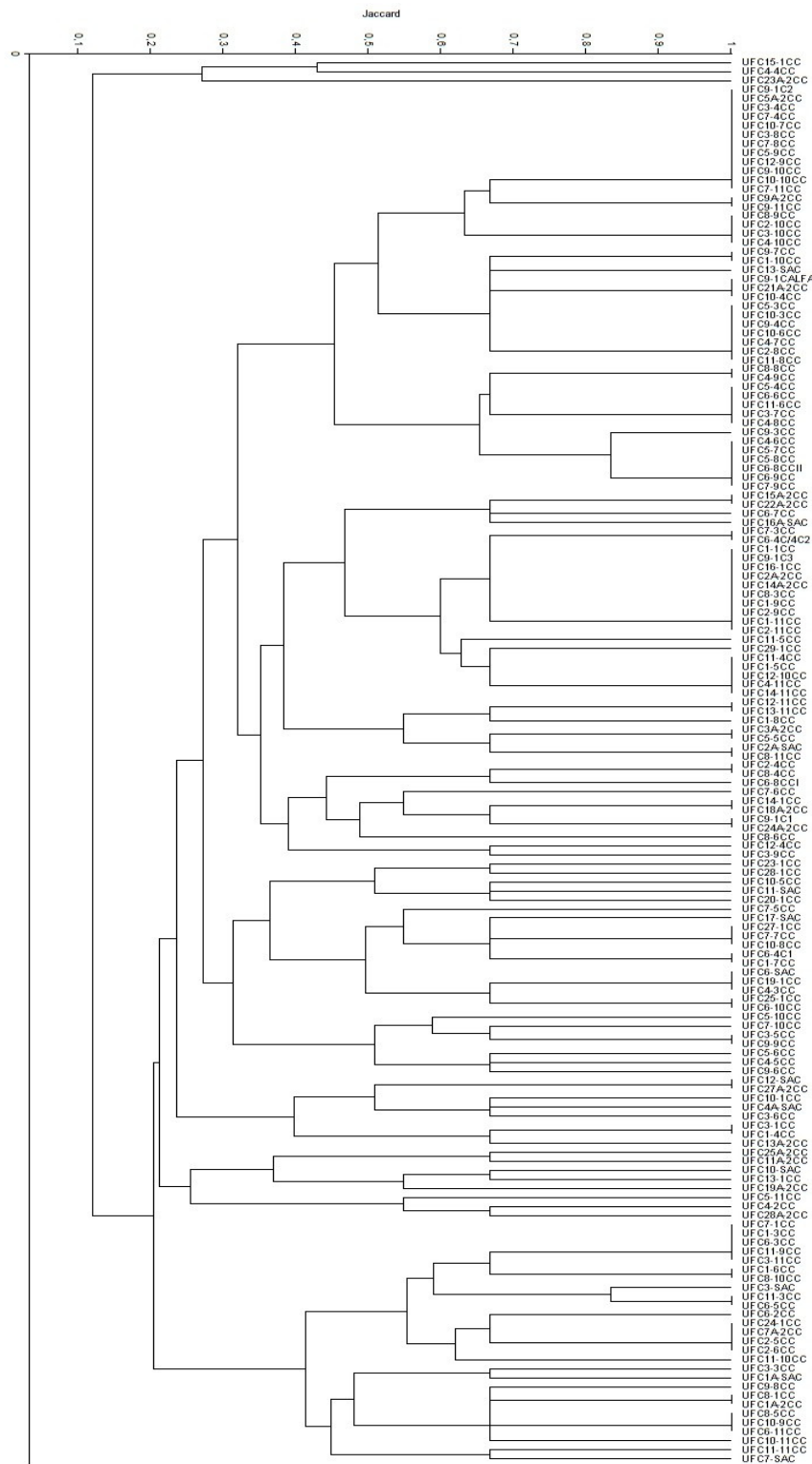
  

<b>Neutralidade</b>	
pH(H <sub>2</sub> O)(1:2,5)	7

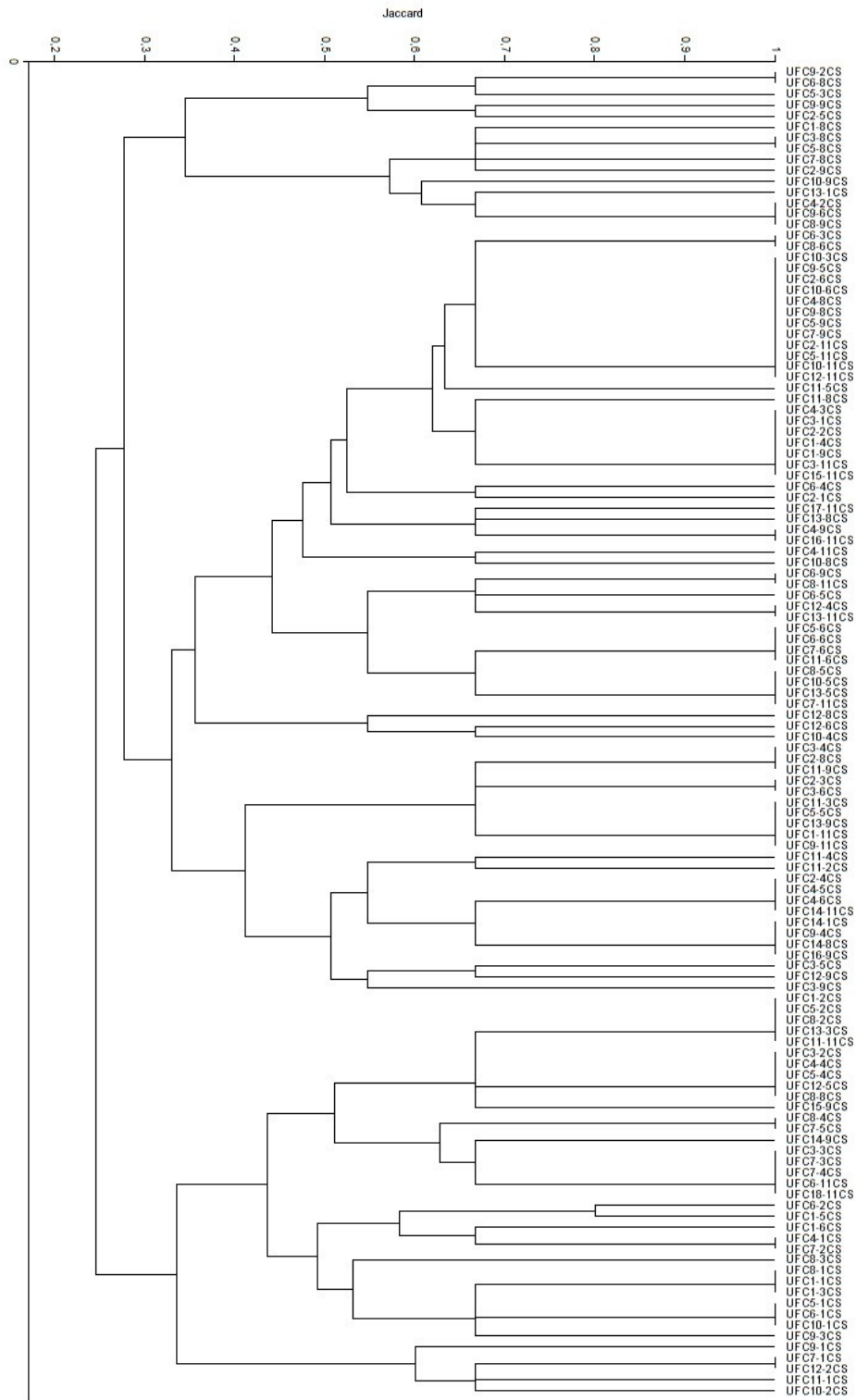
<b>Alcalinidade</b>			
pH(H <sub>2</sub> O)(1:2,5)	Alta	Média	Baixa
	>7,9	7,5-7,9	7,1-7,4

Fonte: Recomendações de adubação e calagem para o Estado do Ceará-Fortaleza.UFC,1993.

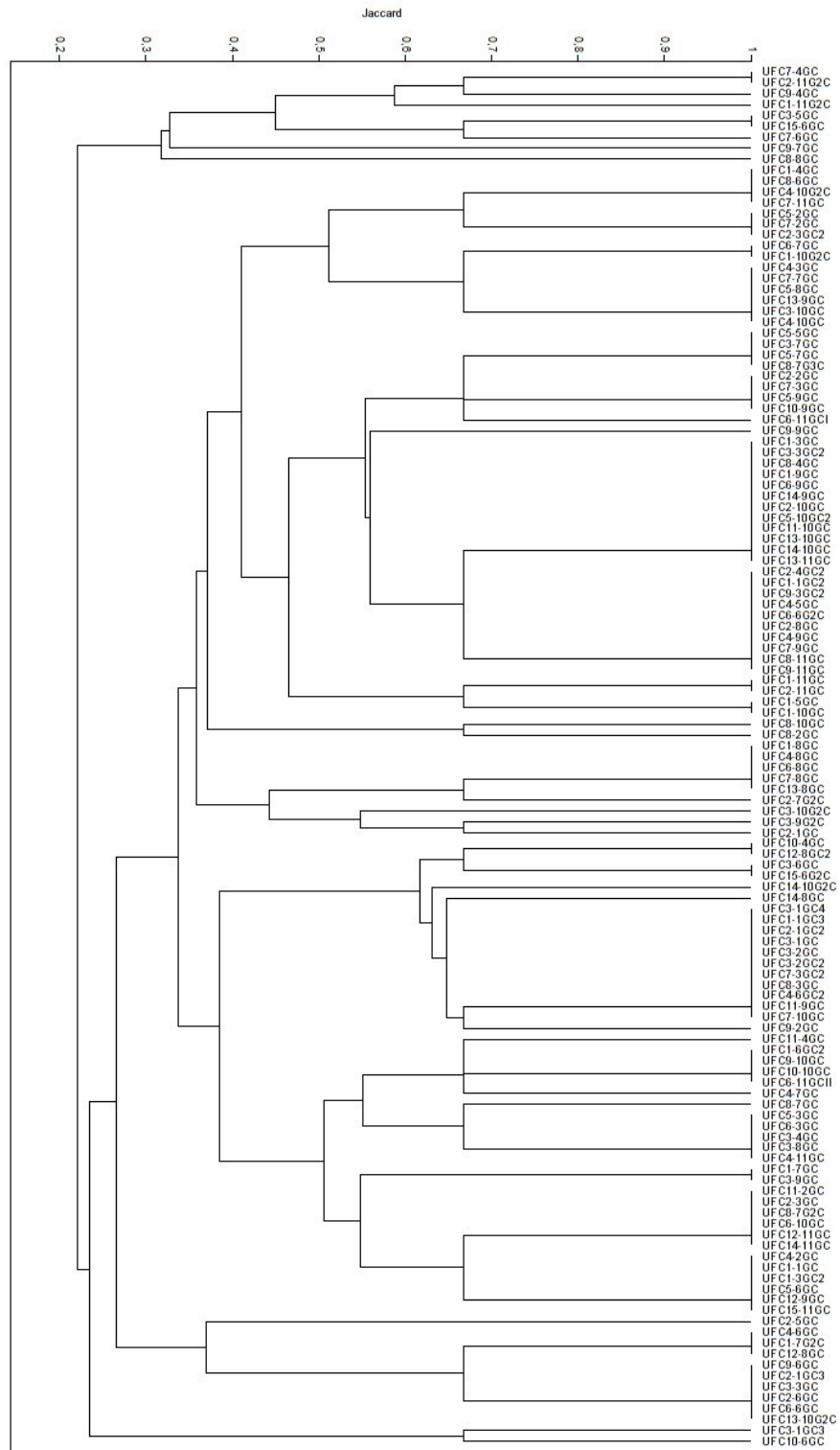


**Figura 63.** Dendrograma de similaridade gerados para Feijão-caupi de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús, -Ceará.

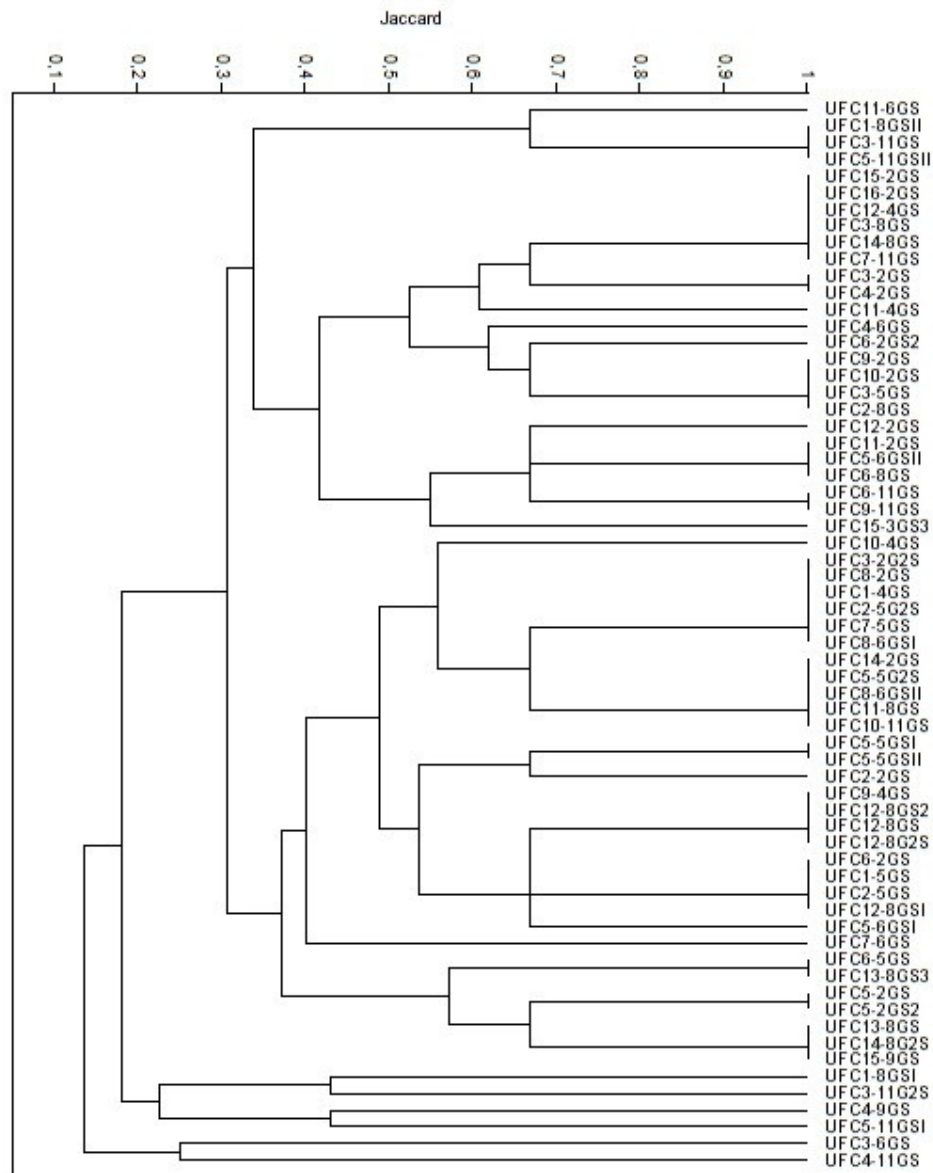




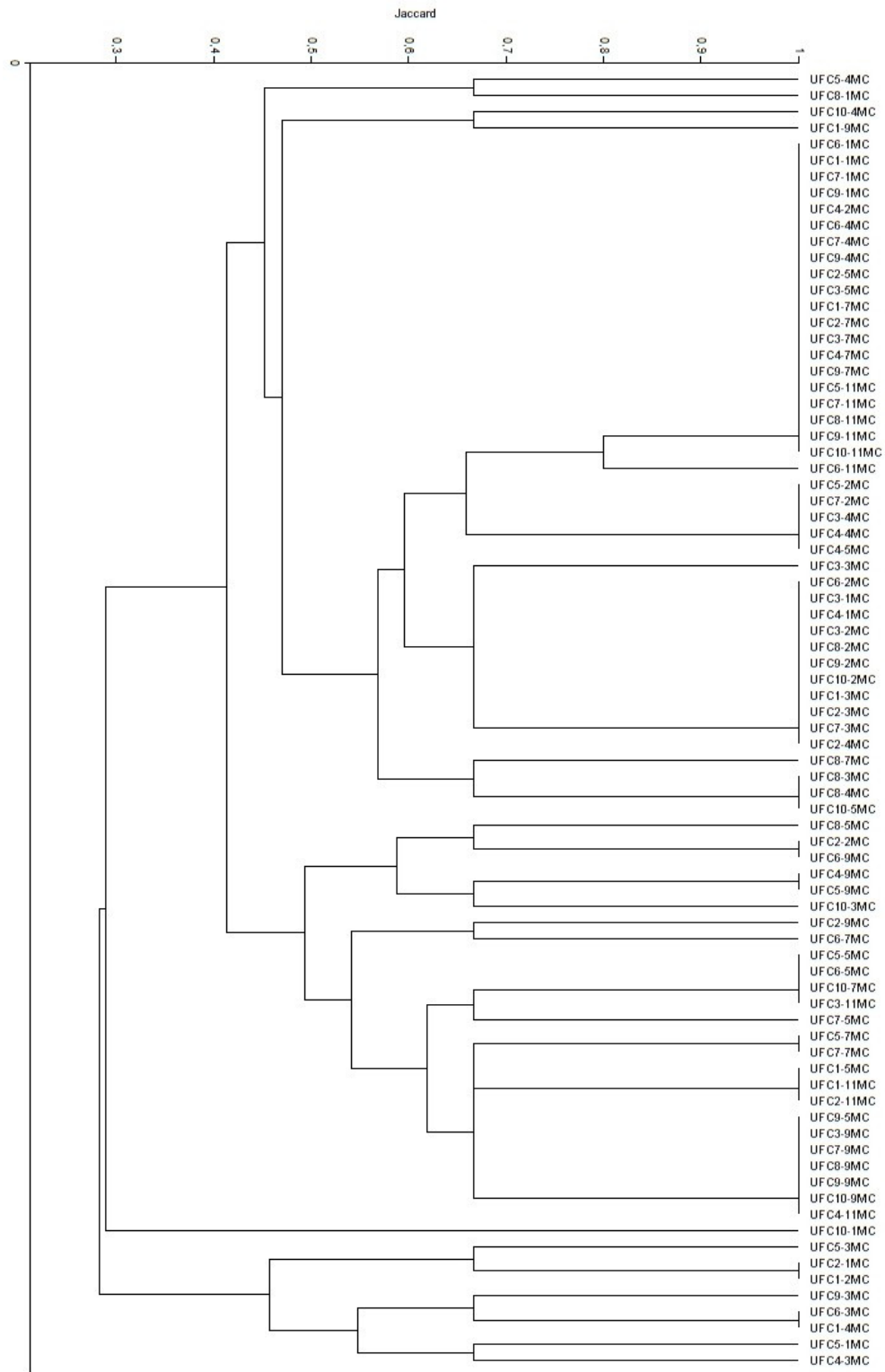
**Figura 64:** Dendrograma de similaridade gerados para Feijão-caupi de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús, Ceará.



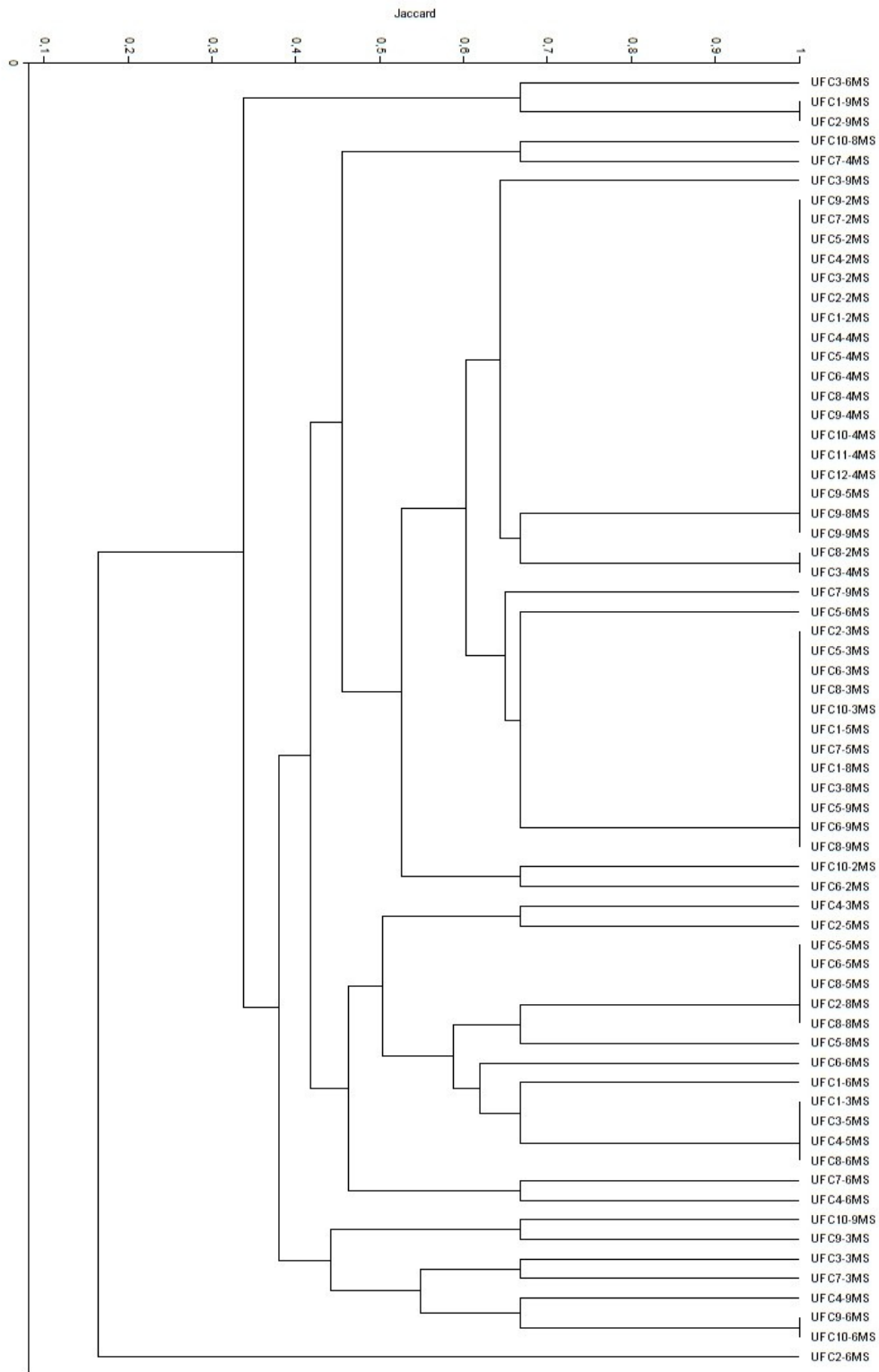
**Figura 65:** Dendrograma de similaridade gerados para Feijão guandu de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas. Crateús-Ceará.



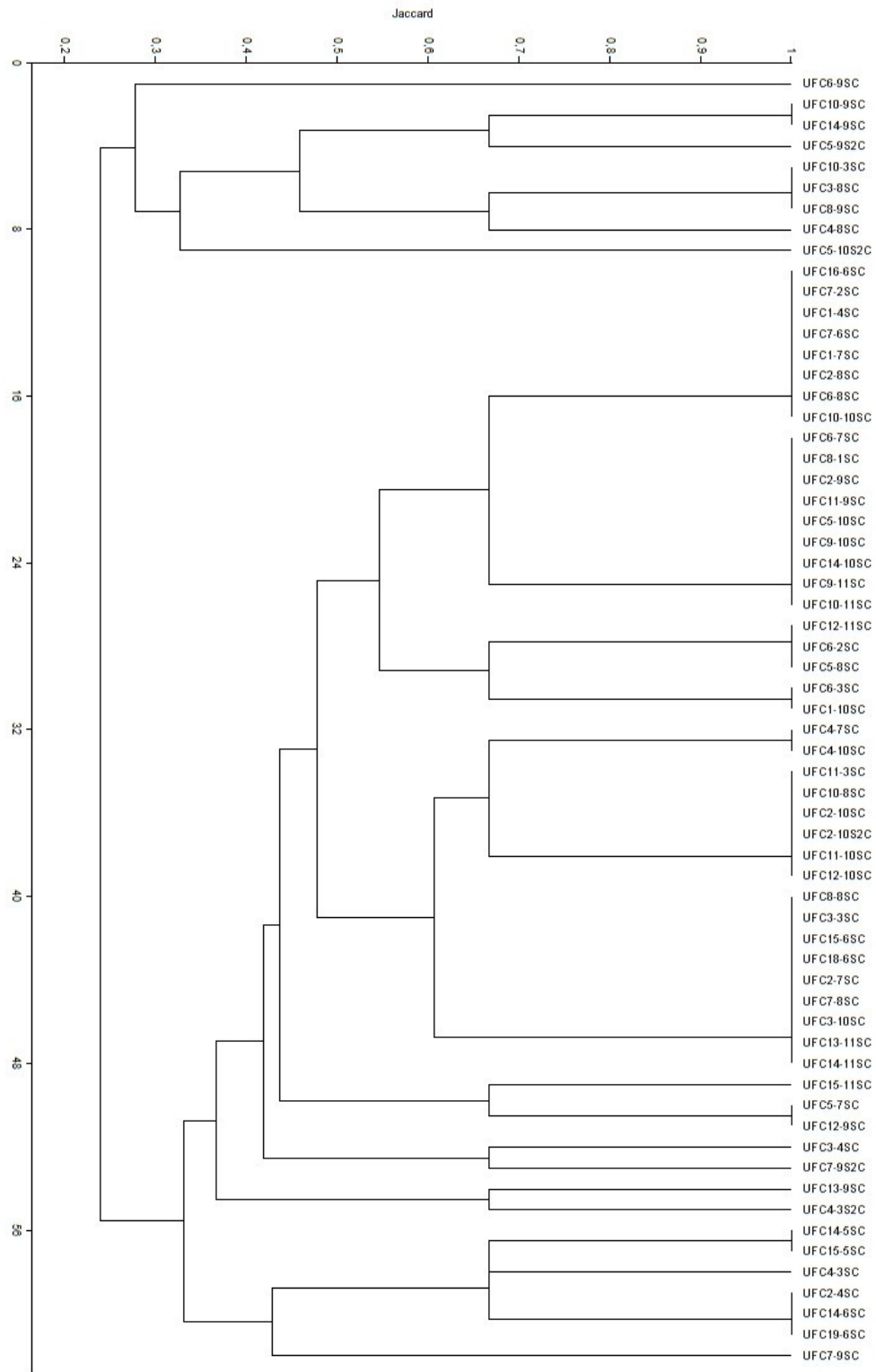
**Figura 66:** Dendrograma de similaridade gerados para Feijão guandu de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca



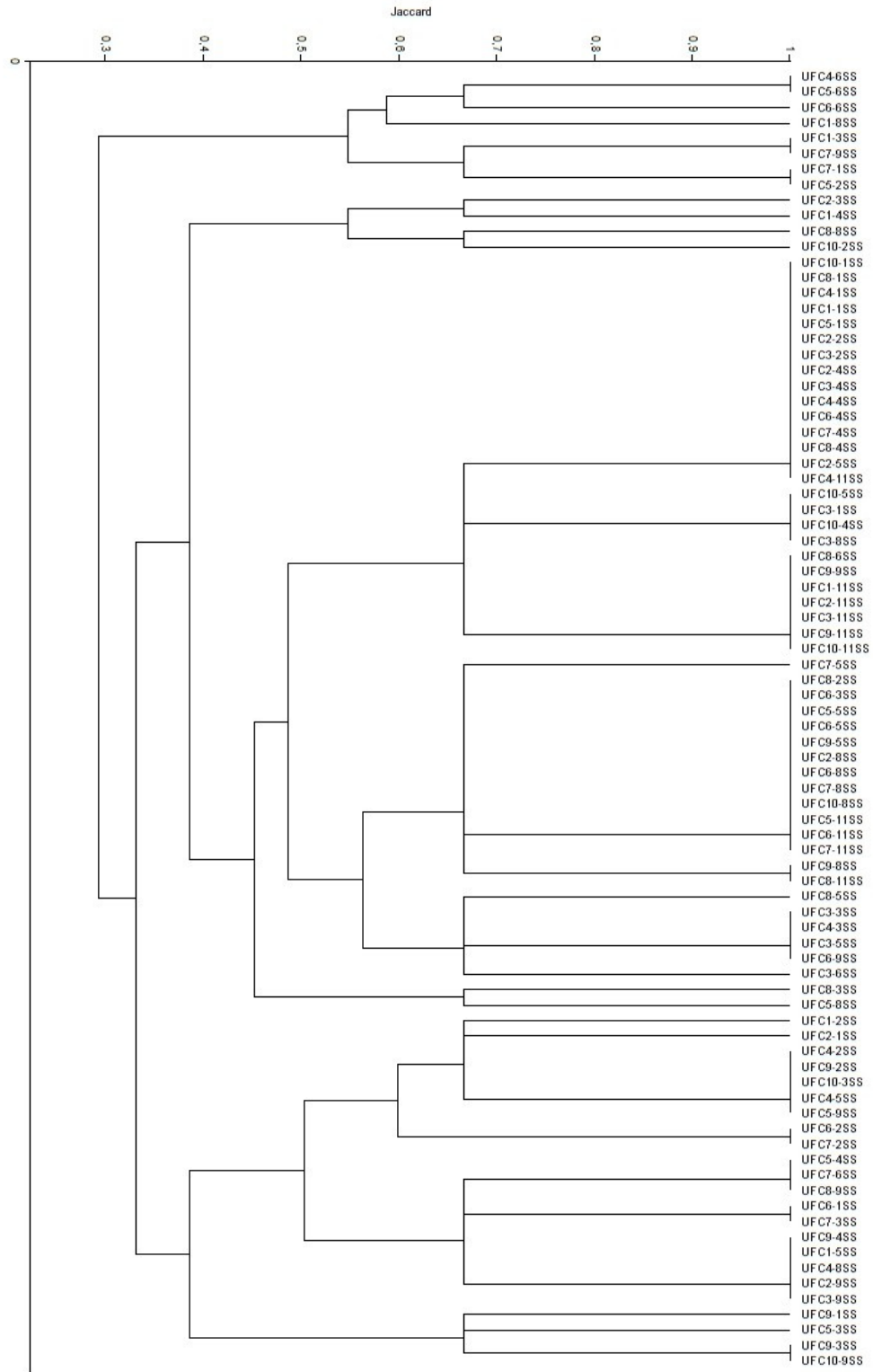
**Figura 67:** Dendrograma de similaridade gerados para mimosa de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús, Ceará.



**Figura 68:** Dendrograma de similaridade gerados para mimosa de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas, Crateús, Ceará.



**Figura 69:** Dendrograma de similaridade gerados para siratro de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período chuvoso na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) na Serra das Almas.Crateús,Ceará.



**Figura 70.** Dendrograma de similaridade gerados para siratro de rizóbios capturados de amostras de solos coletados em período da seca na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) da Serra das Almas, Crateús, Ceará.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)