

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR**

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR  
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE**

**Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares**

**BIOMASSA E APORTES DE NITROGÊNIO E CARBONO  
POR PLANTAS DE COBERTURA EM CULTIVOS  
IRRIGADOS DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO**

**RENATA JANAÍNA CARVALHO DE SOUZA**

**Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas**

**Coorientadora: Dra. Vanderlise Giongo**

**Recife, PE**

**Março, 2017**

**RENATA JANAÍNA CARVALHO DE SOUZA**

**BIOMASSA E APORTES DE NITROGÊNIO E CARBONO  
POR PLANTAS DE COBERTURA EM CULTIVOS  
IRRIGADOS DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares para obtenção do título de Doutor, Área de Concentração: Aplicação de radioisótopos na agricultura e meio ambiente.

**Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas**

**Coorientadora: Dra. Vanderlise Giongo**

**Recife, PE**

**Março, 2017**

Catálogo na fonte  
Bibliotecário Carlos Moura, CRB-4 / 1502

S729p Souza, Renata Janaína Carvalho de.  
Produção de biomassa e aportes de nitrogênio e carbono por plantas de cobertura em cultivos irrigados do semiárido de Pernambuco. / Renata Janaína Carvalho de Souza. - Recife: O Autor, 2017.

86 f. : il., tabs.

Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas.

Coorientadora: Dra. Vanderlise Giongo.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2017.

Inclui referências bibliográficas.

1. Adubos verdes. 2. Agricultura irrigada. 3. Fixação biológica do nitrogênio. 4. Isótopos estáveis. I. Freitas, Ana Dolores Santiago de, orientadora. II. Giongo, Vanderlise, coorientadora. III. Título.

CDD 631.874 (21. ed.)

UFPE

BDEN/2017-10

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Aprovada em 07 de março de 2017

Presidente da Banca / Orientadora:

---

Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas, Pesquisadora da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Examinadores:

---

Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio, Professor titular da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Titular)

---

Profa. Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, Pesquisadora da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE (Titular)

---

Dr. Dário Costa Primo, Pesquisador da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Titular)

---

Prof. Dr. Elvis Joacir França, Pesquisador associado do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste - CRCN-NE (Titular)

---

Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes, Professor Associado da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (Suplente)

---

Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira, Professor Adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE (Suplente)

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar a oportunidade de concluir minha tese com um tema que me deu muita satisfação.

Aos meus pais por todo amor, apoio e dedicação. E que são meu alicerce de valores e perseverança.

À minha orientadora Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas (muitíssimo querida), por todo apoio, ensinamentos, carinho, amizade e dedicação.

Ao professor Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio por todo apoio, confiança, ensinamentos, que foram muito importantes durante o curso de doutorado.

Ao comitê de orientação por todas as valiosas contribuições e sugestões durante o curso.

À minha co-orientadora Dra. Vanderlise Giongo e sua equipe da Embrapa Semiárido por toda ajuda nas coletas de campo e algumas das importantes análises, pessoas fundamentais para que a concretização do trabalho pudesse acontecer.

Aos queridos alunos de iniciação científica, Gustavo da Costa, Jessyca Gomes e Stella Carvalho pela participação no processamento e análises do material coletado em campo.

À família “doloriana”, formada por Anderson, Andrea, Benaia e Reginaldo Neto pela amizade e carinho.

A todos os colegas do Laboratório de Fertilidade do Solo pela ótima convivência e amizade que tornaram meus dias de análises muito mais prazerosos.

À equipe técnica do Laboratório de Fertilidade do Solo, formada por Claudenice, Gilberto e Pedro por todo apoio de que precisei durante as análises de laboratório.

À toda minha família e amigos por todo carinho e torcida para a conclusão desta tese.

A todos que de alguma forma contribuíram e tornaram possível a conclusão deste trabalho.

## RESUMO

Plantas de cobertura vêm sendo utilizadas como uma alternativa para melhorar o potencial produtivo das áreas agrícolas nas diferentes regiões do mundo. O objetivo do trabalho foi estimar as quantidades de biomassa e de nitrogênio aportadas por misturas de plantas cultivadas como adubos verdes em cultivos irrigados de melão e manga na região do Submédio São Francisco e os efeitos desses aportes e do manejo da biomassa produzida sobre características biológicas do solo e produtividade dos cultivos. Os experimentos foram conduzidos no Campo Experimental de Bebedouro, de propriedade da Embrapa, em Petrolina, Pernambuco, adotando um delineamento em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas. As parcelas corresponderam a duas formas de manejo da biomassa (incorporação ou deposição da biomassa na superfície do solo) produzida por três tratamentos de adubos verdes, que constituem as subparcelas. Os tratamentos foram duas misturas de espécies (denominadas de coquetéis) e um terceiro tratamento onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas. Os coquetéis foram preparados misturando-se sementes de dois grupos de espécies: leguminosas e gramíneas + oleaginosas, em diferentes proporções. No melão, os coquetéis foram cultivados previamente ao cultivo principal. Na mangueira, os coquetéis foram cultivados em sistema de culturas intercalares. Foram estimadas as biomassas produzidas por cada espécie do coquetel e pelas plantas espontâneas. Nestas biomassas, foram analisadas as concentrações de C e N totais (%) e os teores naturais de  $^{15}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}$ , por espectrometria de massa. O N fixado foi estimado utilizando o método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$ . Em amostras de solo foram determinados indicadores da atividade microbiana. A mucuna foi a espécie que apresentou maior quantidade de N fixado nas áreas de cultivo do melão e da manga, respectivamente. Todas as leguminosas sempre apresentaram altas proporções de N derivado da atmosfera, com exceção do feijão de porco. Refletindo a produção de biomassa, a quantidade de N fixado no coquetel 1 foi sempre mais alta. No 3º ciclo de cultivo dos coquetéis vegetais, o melão apresentou produtividade alta (em média de 44500 kg de frutos  $\text{ha}^{-1}$ ). Nos dois ciclos de cultivo dos coquetéis, na área da manga, o coquetel 1 também contribuiu com uma maior produção de biomassa que as plantas espontâneas. Entre as gramíneas, o milho foi a espécie com maior contribuição: 11 kg  $\text{ha}^{-1}$ . A produção de frutos de manga atingiu 14385 kg  $\text{ha}^{-1}$  na área do coquetel 1, com revolvimento do solo. A maior atividade de biomassa microbiana do solo foi encontrada na camada de 0-5 cm de profundidade do solo, no período de frutificação das duas culturas. No plantio de melão, o cultivo dos coquetéis e o revolvimento do solo condicionaram maior biomassa microbiana do solo (CBMS), enquanto a respiração do solo ( $\text{C-CO}_2$ ) foi maior nas parcelas sem revolvimento do solo. No plantio da mangueira, também houve maior quantidade de  $\text{CO}_2$  evoluído na parcela sem revolvimento do solo. O cultivo do coquetel 1 condicionou maior atividade de biomassa microbiana.

**Palavras-chave:** Adubos verdes. Agricultura irrigada. Fixação biológica do nitrogênio. Isótopos estáveis.

## ABSTRACT

Cover crops have been used as an alternative to improve the productive potential of agricultural areas in different regions of the world. The objective of this work was to estimate the amounts of biomass and nitrogen contributed by mixtures of plants cultivated as green manures in irrigated melon and mango crops in the Submédio São Francisco region and the effects of these inputs and of the biomass management on the biological characteristics of soil and crop productivity. The experiments were conducted at the Experimental Field of Bebedouro, owned by Embrapa, located in Petrolina, PE, adopting an experimental design in randomized blocks with subdivided plots. The plots corresponded to two forms of biomass management (incorporation of the biomass of the green manures and spontaneous plants to the soil or the deposition of the biomass on the soil surface) produced by three green manure treatments, which are the subplots. The treatments were two mixtures of species (called plant mixtures) and a third treatment where the growth of spontaneous plants was allowed. The plant mixtures were prepared by mixing seeds of two groups of species: legumes and grasses + oilseeds, in different proportions. In the melon crop, the mixture plants were cultivated before the main cultivation. In the mango crop, the mixture plant were cultivated in intercropping system. The biomass produced by each species of the mixture plants and the spontaneous plants were estimated. In these biomasses, the total C and N concentrations (%) and  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  were analyzed by mass spectrometry. Fixed N was estimated using the  $^{15}\text{N}$  natural abundance method. Soil samples were collected to determine the indicators of microbial activity. *Mucuna* was the specie with the highest amount of N fixed, in the areas of melon and mango crops. All legumes always had high proportions of N derived from the atmosphere, except for jackbean. Reflecting biomass productions, the amount of N fixed in plant mixture 1 were always higher. In the third cycle of cultivation of plant mixtures, melon had high productivity (on average 44500 kg ha<sup>-1</sup> of fruits). In the two cycles of cultivation of the plant mixtures in the mango area, plant mixture 1 also contributed with a higher production of biomass than to the spontaneous plants. Among the grasses, corn was the species with the highest contribution: 11 kg ha<sup>-1</sup>. The production of mango fruits reached 14385 kg ha<sup>-1</sup> in the area of plant mixture 1, with soil revolving. The highest soil microbial biomass activity was found in the 0-5 cm soil layer, during the fruiting period of the two crops. In the melon crop, the cultivation of the mixtures and the soil rotation conditioned higher values of C in the soil microbial biomass, while the soil respiration as higher in plots without soil revolving. In the mango crop, a greater amount of CO<sub>2</sub> evolved in the plot without soil revolving. The cultivation of plant mixture 1 had higher activity of the microbial biomass.

**Keywords:** Green manures. Irrigated agriculture. Biological nitrogen fixation. Stable isotopes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Croqui da área do experimento do melão.....	39
Figura 2 - Croqui da área do experimento da manga.....	41
Figura 3 - Abundância natural do $^{15}\text{N}$ ( $\delta^{15}\text{N}\%$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em pré-plantio de melão irrigado, no município de Petrolina, PE (3º cultivo/2014) .....	50
Figura 4 - Abundância natural do $^{15}\text{N}$ ( $\delta^{15}\text{N}\%$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em pré-plantio de melão irrigado, no município de Petrolina, PE (4º cultivo/2015).....	51
Figura 5 - N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em $\text{kg ha}^{-1}$ ) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em pré-plantio de melão irrigado, no município de Petrolina, PE (3º cultivo/2014).....	52
Figura 6 - N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em $\text{kg ha}^{-1}$ ) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em pré-plantio de melão irrigado, no município de Petrolina, PE (4º cultivo/2015) .....	53
Figura 7 - Abundância natural do $^{15}\text{N}$ ( $\delta^{15}\text{N}\%$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6º cultivo/2015).....	63
Figura 8 - N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em $\text{kg ha}^{-1}$ ) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6º cultivo/2015).....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atributos químicos do solo da área de cultivo do melão e da manga antes da implantação dos coquetéis vegetais .....	38
Tabela 2 - Atributos físicos do solo da área de cultivo do melão e da manga antes da implantação dos coquetéis vegetais.....	38
Tabela 3. Biomassa, N acumulado e N fixado de diferentes coquetéis vegetais cultivados e vegetação espontânea em pré- plantio de melão irrigado, no município de Petrolina (3° e 4° cultivos).....	47
Tabela 4. N fixado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de plantas espontâneas em pré-plantio de melão irrigado, no município de Petrolina (3° e 4° cultivos).....	54
Tabela 5. Quantidade (frutos $\text{ha}^{-1}$ ) e produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de frutos de melão após cultivo de coquetéis vegetais (3° cultivo/2014).....	55
Tabela 6. Quantidade (frutos $\text{ha}^{-1}$ ) e produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de frutos de melão após cultivo de coquetéis vegetais (4° cultivo/2015).....	56
Tabela 7. Indicadores biológicos do solo durante o corte dos coquetéis vegetais do 4° cultivo na área do melão.....	58
Tabela 8. Indicadores biológicos do solo durante o período de frutificação do melão após o corte do 4° cultivo de coquetéis vegetais.....	59
Tabela 9. Biomassa, N acumulado e N fixado de diferentes coquetéis vegetais cultivados e vegetação espontânea em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6° e 7° cultivos).....	61
Tabela 10. N fixado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de plantas espontâneas em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6° cultivo/2015).....	65
Tabela 11. Quantidade (frutos $\text{ha}^{-1}$ ) e produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de frutos de manga após cultivo de coquetéis vegetais (6° cultivo/2015).....	66
Tabela 12. Indicadores biológicos do solo durante o corte dos coquetéis vegetais do 6° cultivo na área da manga.....	68
Tabela 13. Indicadores biológicos do solo durante o período de frutificação da manga após o corte do 6° cultivo de coquetéis vegetais.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A	Número de massa atômica
Al	Alumínio
ATP	Adenosina trifosfato
B	Valor de $\delta^{15}\text{N}$ para plantas fixadoras cultivadas na ausência de $\text{N}_2$ atmosférico
C	Carbono
$^{13}\text{C}$	Carbono com número de massa atômica 13
Ca	Cálcio
CE	Condutividade elétrica
$\text{cmol}_c$	Centimol de carga
CTC	Capacidade de troca de cátions
Cu	Cobre
$\text{CuCO}_3$	Carbonato de cobre
CV	Coefficiente de variância
DAP	Diâmetro à altura do peito
$\text{dm}^3$	Decímetro cúbico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ETo	Evapotranspiração
FAO	Food and Agriculture Organization
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
Fe	Ferro
g	Grama
H	Hidrogênio
ha	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
K	Potássio
Kc	Coefficiente de cultura
Kg	Quilograma
$\text{K}_2\text{O}$	Óxido de potássio
m	Metro
MAP	Monoatômico fosfato
Mg	Magnésio
mg	Miligrama
$\text{mmol}_c$	Milimol de carga
Mn	Manganês

MO	Matéria orgânica
N	Nitrogênio
<sup>14</sup> N	Nitrogênio com número de massa atômica 14
<sup>15</sup> N	Nitrogênio com número de massa atômica 15
N <sub>2</sub>	Nitrogênio (gás)
Na	Sódio
N <sub>dda</sub>	Nitrogênio derivado do ar
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Íon amônio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Íon nitrato
P	Fósforo
pH	Potencial hidrogeniônico
Prof.	Profundidade
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Pentóxido de fósforo
Q-CO <sub>2</sub>	Quociente metabólico
Q <sub>mic</sub>	Quociente microbiano
S	Soma de bases trocáveis
t	Tonelada
V	Saturação por bases
Zn	Zinco
°C	Graus Celsius
δ	Desvio por mil
%	Porcentagem
‰	Por mil

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
<b>2.1 Adubação verde</b> .....	14
<b>2.2 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)</b> .....	20
<b>2.3 Quantificação da FBN</b> .....	22
<b>2.4 Espécies utilizadas nos coquetéis vegetais</b> .....	23
<b>2.5 <i>Cucumis melo</i> (L.) - Melão</b> .....	27
<b>2.6 <i>Mangifera indica</i> (L.) - Manga</b> .....	28
<b>2.7 Importância e estimativa da biomassa microbiana do solo</b> .....	29
<b>2.8 Influência do manejo na biomassa microbiana do solo</b> .....	32
2.8.1 Fertilização orgânica e mineral .....	32
2.8.2 Sistema de plantio direto .....	34
2.8.3 Adubação verde .....	35
2.8.4 Pastejo .....	36
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
<b>3.1 Área de estudo</b> .....	37
<b>3.2 Delineamento experimental</b> .....	37
3.2.1 Experimento com melão .....	37
3.2.2 Experimento com manga .....	41
<b>3.3 Estimativa da produção de biomassa aérea e da FBN dos coquetéis vegetais</b> .....	42
<b>3.4 Estimativa da biomassa microbiana do solo</b> .....	44
<b>3.5 Análises estatísticas</b> .....	45
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
<b>4.1 Experimento com o melão</b> .....	46
4.1.1 Indicadores biológicos do solo .....	57
<b>4.2 Experimento com a manga</b> .....	60
4.2.1 Indicadores biológicos do solo .....	67
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A adubação verde é uma prática agrícola que tem sido adotada com bastante êxito para o fornecimento de matéria orgânica ao solo em curto período de tempo. Pode ser realizada com espécies de leguminosas, de gramíneas ou de outras famílias botânicas (HARDARSON & ATKINS, 2003). As leguminosas são as mais utilizadas, pois são fontes adicionais de nitrogênio (N) devido ao alto teor de compostos nitrogenados em sua biomassa e à capacidade de fixação simbiótica do N do ar por bactérias específicas, conhecidas como rizóbios (MASCARENHAS et al., 2014).

O carbono (C) e o N são os principais constituintes da matéria orgânica do solo (MOS) e os seus estoques variam em função das taxas de adição (por resíduos vegetais e/ou animais) e de perda (como as decorrentes da erosão e da oxidação pelos microrganismos do solo). Em sistemas agrícolas, os estoques de C orgânico (CO) e de N total no solo sofrem influência, também, do manejo adotado (BAYER & MIELNICZUK, 1997).

A redução na fertilidade do solo, a perda de matéria orgânica, o uso excessivo de água e fertilizantes químicos aumentam a acidez e a salinidade dos solos das zonas áridas. Espécies de leguminosas vêm sendo utilizadas, em sistemas agroflorestais, como alternativa para promover maiores entradas de N para a biosfera, como resultado da habilidade dessas plantas em converter o N atmosférico (N<sub>2</sub>) para a forma que pode ser assimilada pela planta (HARDARSON & ATKINS, 2003).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é a principal via de incorporação do N<sub>2</sub> à biosfera, sendo responsável por cerca de 65% da entrada total de N na terra. Estima-se que de 44 a 66 milhões de toneladas métricas de N<sub>2</sub> são fixados por leguminosas de importância agrícola anualmente e outros 3 a 5 milhões de toneladas métricas são fixados por leguminosas em ecossistemas naturais (GRAHAM & VANCE, 2003).

Para a agricultura nacional, existem muitas espécies de adubos verdes adaptadas às distintas condições agroclimáticas do Brasil, que colaboram com a manutenção da biodiversidade e a diversificação de produtos, a diminuição dos custos e dos riscos ambientais e econômicos e a manutenção efetiva da sustentabilidade. As leguminosas são as espécies mais indicadas como adubos verdes, por causa da possibilidade da redução ou até da eliminação da adubação nitrogenada mineral. Contudo, diversas outras espécies como gramíneas (Poaceae), crucíferas e compostas, prestam-se a essa prática agrícola, sendo comumente conhecidas como plantas de cobertura do solo (WUTKE et al., 2007, 2009).

Os micro-organismos do solo são essenciais para os ganhos de matéria orgânica e transformações de nutrientes nos solos. Tais micro-organismos respondem rapidamente ao estresse ambiental ou mudanças de manejo do solo, resultando no desvio de carbono (C) da biossíntese para a manutenção de energia e vice-versa. Sendo assim, as medidas da biomassa microbiana do solo são úteis para determinação do grau de estresse ou perturbação e subsequente recuperação de um ecossistema. Os indicadores biológicos como biomassa microbiana, respiração microbiana do solo e o quociente metabólico, entre outros, refletem o comportamento dos micro-organismos do solo, indicando a atividade destes e, conseqüentemente, a velocidade de decomposição da matéria orgânica e a liberação de C e nutrientes ao solo (BARDGETT & SAGGAR, 1993).

As culturas de melão e manga tem merecido destaque no Brasil, não só pela qualidade de seus frutos, mas também, pelas tecnologias adotadas para cultivo e manejo, proporcionando boa produtividade. São cultivadas com sucesso na região do Vale do Submédio São Francisco (AGRIANUAL, 2013; FAOSTAT, 2013).

O objetivo deste trabalho foi estimar as quantidades de biomassa e de nitrogênio e carbono aportadas por misturas de plantas cultivadas como adubos verdes em plantio irrigado de melão na região do Submédio São Francisco e os efeitos desses aportes e do manejo da biomassa produzida sobre as características biológicas do solo e produtividade dos cultivos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Adubação verde

Plantas de cobertura ou adubos verdes vêm sendo utilizadas, ainda que empiricamente, por diferentes civilizações, como uma alternativa para diversificar e melhorar o potencial produtivo das áreas agrícolas nas diferentes regiões do mundo. Dados históricos demonstram que antigas civilizações, tais como romanos, gregos, chineses e outros povos da Antiguidade, já faziam uso da prática do adubo verde com sucesso (FLORENTIN et al., 2001).

Registros históricos apontam que a civilização chinesa foi a primeira a empregar a adubação verde visando a manutenção da fertilidade do solo. Não há relatos precisos da data em que essa prática foi iniciada, mas sabe-se que, na dinastia Chou (1134-247 a.C.), começaram a ser empregados, como adubos verdes, os restos de cultura e vegetação natural dos campos cultivados. No Brasil, os adubos verdes são conhecidos e utilizados há pelo menos 100 anos (ROSSI & CARLOS, 2014).

A adubação verde tem se mostrado como uma alternativa à utilização de fertilizantes nitrogenados, sendo definida como uma prática de cultivo e incorporação de plantas, principalmente de leguminosas, produzidas no local ou não, com a finalidade de preservação e ou restauração dos teores de matéria orgânica e de nutrientes dos solos. Esta prática está de acordo com a tendência mundial de obtenção de alimentos mais saudáveis, provenientes da agricultura orgânica, ou produzidos com o mínimo de insumos químicos e sem degradação do ambiente. A adubação verde, também, pode melhorar as condições físicas e biológicas do solo (MONEGAT, 1991).

Para a recomendação das espécies a serem utilizadas como adubos verdes em determinada região, deve-se procurar combinações dos fatores que atendam às exigências locais, dando-se preferência àquelas que produzam maior volume de biomassa, estejam menos sujeitas a pragas e doenças e que possuam sementes relativamente uniformes e fáceis de semear, manualmente ou por meio de máquinas (BARRETO & FERNANDES, 2001).

O cultivo de adubos verdes como cobertura de solo é uma prática adotada em todo o Brasil, utilizando espécies de inverno ou de verão, com destaque para as espécies leguminosas. As leguminosas normalmente apresentam altos teores de N em seus tecidos no período da floração, o que pode significar uma contribuição acima de  $150 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  de N, com um percentual de 60% a 80% do N proveniente da FBN (GILLER, 2001).

Para Zotarelli (2000), apenas a introdução de uma leguminosa para adubação verde na rotação de culturas poderia contribuir de forma significativa para o aumento de N no solo, podendo até mesmo permitir redução da fertilização com nitrogênio. Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de avaliar e estimar a contribuição da adubação verde para o solo e as culturas de interesse.

É frequente o uso de gramíneas como cobertura do solo. O seu uso não proporciona aumento de rendimento de culturas não leguminosas, entretanto pode aumentar o rendimento das leguminosas, que fixam nitrogênio e não dependem do nitrogênio proveniente da mineralização das gramíneas. Estas, por outro lado, podem melhorar algumas propriedades físicas do solo e liberar nutrientes, favorecendo o desenvolvimento de leguminosas e não leguminosas (ANDREOLA et al., 2000).

A utilização de espécies não leguminosas na adubação verde ajuda a reduzir as perdas de N, através da imobilização temporária do N em sua biomassa. A adubação verde, realizada em consórcio com leguminosas e gramíneas, pode conferir uma combinação de resíduos com características favoráveis, não só à proteção do solo, pela baixa taxa de decomposição das gramíneas, devido a sua elevada relação C/N, mas também, à nutrição das plantas pelo aporte de N pelas leguminosas via FBN (BARTOLINI et al., 2000).

Ashraf et al. (2004) analisaram a utilização da sesbânia (*Sesbania aculeata* (Willd.) Pers.) e do milho (*Zea mays* L.) como adubos verdes para dois cultivares de arroz e os resultados mostraram que a leguminosa, além de representar uma fonte direta de N disponível para a planta, também tem grande potencial para aumentar o N disponível do solo para as culturas e para conservação do teor de N. Os efeitos benéficos apresentados pela adubação verde com a leguminosa foram superiores à espécie não leguminosa.

Castro et al. (2004) quantificaram a FBN pela utilização de adubos verdes em pré-cultivo e consorciados com berinjela (*Solanum melongena* L.) em sistema orgânico, no município de Seropédica, Rio de Janeiro. Foram estabelecidas parcelas com crotalária (*Crotalaria juncea* L.), milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) e vegetação espontânea antes do plantio da berinjela. Após 60 dias, a FBN respondeu por 53% do N da crotalária. Foram plantados, em consórcio com a berinjela, a crotalária e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), e a berinjela de forma solteira. A FBN das leguminosas consorciadas variou com os pré-cultivos, situando-se entre 20% e 90% do N acumulado na planta. O uso de leguminosas contribuiu de forma significativa para o fornecimento de N para a berinjela, que se beneficiou do N da adubação verde em pré-cultivo e consórcio, embora não tenha havido aumento de sua produtividade.

Faria et al. (2004) implementaram um sistema consorciado em uma cultura de videira (*Vitis vinifera* L.) com duas leguminosas fixadoras de N, a crotalária (*Crotalaria juncea* L.) e o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), em Petrolina, PE. Por se localizar numa região semiárida, o solo é pobre em matéria orgânica e, conseqüentemente, deficiente em N, tornando-se limitante para produção agrícola. A adubação verde melhorou as características químicas do solo, aumentando os teores de matéria orgânica e do cálcio trocável e o valor da capacidade de troca de cátions (CTC) na camada de 0-10 cm de profundidade. Contudo, não se observou efeito considerável na produtividade e qualidade das uvas com as duas leguminosas estudadas.

Giacomini et al. (2004) estudaram o efeito da aveia preta – *Avena strigosa* Schieb (AP), da ervilhaca comum – *Vicia sativa* L. (EC) e do nabo forrageiro – *Raphanus sativus* var. *oleiferus* Metzg. (NF), em plantios solteiros e consorciados, em relação ao N acumulado e a produtividade de grãos de milho. Os tratamentos utilizados foram: 100% AP (14 kg ha<sup>-1</sup>), 100% EC (80 kg ha<sup>-1</sup>), 100% NF (14 kg ha<sup>-1</sup>), 15 % AP + 85% EC, 30% AP + 70% EC, 45% AP + 55% EC, 15% AP + 85% NF e 30% AP + 70% NF. Também foram utilizados dois tratamentos em pousio no inverno, nos quais a vegetação espontânea da área cresceu. Em um dos tratamentos sob pousio, o milho foi cultivado sem adubação nitrogenada e, em outro, o milho foi adubado com 180 kg ha<sup>-1</sup> de N uréia. Os consórcios de aveia + ervilhaca, até uma proporção máxima de 30% de sementes de aveia, proporcionaram uma produtividade de grãos equivalente a 70% daquela obtida com o uso de 180 kg ha<sup>-1</sup> de N- uréia no pousio. A ervilhaca e o nabo, tanto em culturas solteiras como consorciados à aveia, proporcionaram maior produtividade de milho do que após o pousio e a aveia solteira. O acúmulo reduzido de N pelo milho nos estádios iniciais da cultura demonstra que, para aumentar a eficiência no aproveitamento do N liberado dos resíduos culturais das plantas de cobertura, o cultivo do milho deve ser feito o mais próximo possível do manejo destas.

Ricci et al. (2005) analisaram, em um sistema orgânico de produção, cultivado no município de Valença, Rio de Janeiro, a contribuição da *Crotalaria juncea* L. (crotalária) no crescimento e estado nutricional de seis cultivares de café e quantificaram o aporte de biomassa vegetal e de N via FBN. O cultivo da crotalária proporcionou o aporte de 16 t ha<sup>-1</sup> de matéria seca e a reciclagem de 444 kg ha<sup>-1</sup> de N. A FBN proporcionou um aporte de N superior a 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, assim a crotalária mostrou ser uma alternativa para o produtor fertilizar os sistemas orgânicos com N.

Em solo do Cerrado, Torres et al. (2005) demonstraram que a decomposição e a liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura são bastante variáveis de

acordo com a espécie de adubo verde. O milho apresentou a maior produção de massa seca. Dentre as leguminosas, a maior produção foi da crotalária. As espécies que apresentaram maior velocidade de decomposição foram a crotalária e guandu.

Adubação orgânica com esterco e/ou crotalária foi estudada por Silva et al. (2007) em um cultivo de batata (*Solanum tuberosum* L.) no Agreste paraibano, com o objetivo de quantificar a produtividade da batata e o estoque de nutrientes no solo. Os tratamentos crotalária e crotalária + esterco aumentaram o N total do solo em 76% e 63%, respectivamente, mas não aumentaram o teor dos outros nutrientes. Apesar da adição de 15 t ha<sup>-1</sup> de esterco ter proporcionado os maiores aumentos nos nutrientes do solo, as maiores produtividades de tubérculos foram observadas quando o plantio e a incorporação de crotalária foram combinados com a adição de 7,5 t ha<sup>-1</sup> de esterco.

Perin et al. (2009) estudaram o efeito da cobertura viva, formada por leguminosas herbáceas perenes (amendoim forrageiro – *Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg., cudzu tropical – *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. e siratro – *Macroptilium atropurpureum* (Moc. & Sessé ex DC.) Urb.) sobre a produção de bananeira cultivar Nanicão, no município de Seropédica, Rio de Janeiro. Todas as leguminosas proporcionaram maior crescimento das bananeiras, maior número de folhas emitidas e maior proporção de cachos colhidos que os tratamentos com vegetação espontânea (com e sem N-fertilizante). Siratro e cudzu tropical promoveram condições adequadas ao desenvolvimento das bananeiras, ocasionando ganhos de produtividade e eliminação da adubação nitrogenada no bananal. O potencial benéfico de tais leguminosas, proporcionando ganhos na produtividade de banana, qualifica essas espécies como alternativas promissoras para a fertilidade do solo e nutrição das bananeiras.

Paulino et al. (2009) estudaram a FBN e a transferência do N fixado em gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.), crotalária (*Crotalaria juncea* L.) e feijão-guandu anão (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) para mangueira e graviola. A gliricídia apresentou maior potencial de FBN (80%), seguida da crotalária (64,5%) e do feijão-guandu (45%). A gliricídia e a crotalária destacaram-se na transferência de N para as frutíferas. A quantidade de N fornecida foi superior à demandada pelas espécies frutíferas.

Nas condições de São Luís (MA), Sousa et al. (2009) demonstraram que a mucuna-cinza (*Mucuna cinereum* Piper & Tracy) tem maior potencial para cobertura do solo e supressão das plantas espontâneas que o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* (L.) DC.), mas essa última espécie apresentou maior produtividade de biomassa.

Silva et al. (2009) estudaram o aproveitamento, pelo milho (*Zea mays* L.), do N proveniente da uréia, de restos culturais da crotalária (*Crotalaria juncea* L.) e do milho

(*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.), e do solo, em função da adubação nitrogenada e fosfatada. Os tratamentos utilizaram uma combinação de quatro doses de N na forma de uréia (com ou sem marcação com  $^{15}\text{N}$ ); quatro doses de P, na forma de superfosfato triplo; e dois tipos de adubo verde, com ou sem marcação com  $^{15}\text{N}$  (crotalária e milheto). Foram avaliados a produtividade de matéria seca, a quantidade de N acumulado e o aproveitamento do N pelo milho. O aumento da dose de N aplicada ao solo proporcionou aumento na quantidade de N proveniente do fertilizante na parte aérea do milho e reduziu a eficiência de aproveitamento do nutriente. A maior parte do N acumulado nas plantas de milho foi proveniente do fertilizante mineral, seguida pelo N do solo e dos adubos verdes. O aproveitamento do N proveniente da crotalária, pelo milho, foi maior que o do N do milheto. A assimilação do N proveniente da uréia e dos adubos verdes aumentou com a aplicação de P.

Cicek et al. (2014) estudaram os níveis de  $\text{N-NO}_3^-$ , P e K no solo quando manejado com adubação verde, em Manitoba, Canadá. Foram estabelecidos três tratamentos, aveia semeada na primavera (*Avena sativa* cv. Leggett) e ervilha + aveia (*A. sativa* + *Pisum sativum* cv. 40-10) pastejados com ovelhas e sem pastejo por um ano. A quantidade de  $\text{N-NO}_3^-$  no solo até 120 cm foi maior nas parcelas pastejadas do que as não pastejadas. Contudo, as quantidades de P e K no solo não foram afetadas. O teor de nitrato foi maior nas parcelas onde se usou a combinação ervilha + aveia, em todos os experimentos, na camada de 0-120 cm do que nas parcelas com aveia. A maior disponibilidade de  $\text{N-NO}_3^-$  no solo após o pastejo traduziu-se no maior crescimento da cultura, embora não tenham sido observadas diferenças significativas na produtividade. O pastoreio associado com a adubação verde não afetou negativamente a produtividade de trigo ou centeio. O manejo com adubação verde nas culturas aumentou a suplementação de N para a produção da cultura subsequente, sem efeito negativo para a produtividade nas duas culturas de grãos subseqüentes.

Apesar da relativa abundância de literatura sobre o uso de adubos verdes, poucas informações são encontradas na literatura para as condições do semiárido brasileiro. Alguns trabalhos vêm sendo realizados com a utilização de coquetéis vegetais como adubação verde, nos quais espécies de plantas de cobertura, principalmente leguminosas e gramíneas, são utilizadas em conjunto e quando atingem o estágio de florescimento pleno são cortadas e depositadas sobre o solo (GIONGO et al., 2011; PIMENTEL et al., 2011, 2012; FERREIRA NETO, 2013). As gramíneas contribuem com quantidades elevadas de fitomassa, caracterizada por alta relação C/N, aumentando o tempo de permanência da cobertura do solo, enquanto as leguminosas apresentam altos teores de N em seu material vegetal, baixa relação

C/N e rápida decomposição, mas com altos teores de N para as culturas subsequentes (PERIN et al., 2004).

Giongo et al. (2011) avaliaram a taxa de decomposição de matéria seca e liberação de carbono e nutrientes provenientes de coquetéis vegetais cultivados no semiárido brasileiro (Petrolina, PE). Os coquetéis vegetais foram constituídos de espécies leguminosas (calopogônio - *Calopogonium mucunoides* Desv., crotalárias - *Crotalaria juncea* L. e *Crotalaria spectabilis* Roth, feijão de porco - *Canavalia ensiformes* (L.) DC., guandu - *Cajanus cajan* (L.) Huth, e lab lab - *Dolichos lablab* L.) e não leguminosas (gergelim - *Sesamum indicum* L., girassol - *Helianthus annuus* L., mamona - *Ricinus communis* L., milho - *Penisetum americanum* (L.) Leeke e sorgo - *Sorghum vulgare* (L.) Moench). Os coquetéis apresentaram taxas de decomposição e de liberação de nutrientes similares para C, N, P, K, Mg, Zn, Fe e B; e a partir da média dos valores de k para todos os coquetéis pôde ser observado que a liberação de macronutrientes foi maior para K, N e Ca, seguida de Mg e P, e de micronutrientes foi maior para Fe, Mn e Cu, seguida de Zn e B.

A partir da aplicação de quatro combinações de coquetéis vegetais com o subseqüente plantio de melão, Pimentel et al. (2011) testaram a resposta da macrofauna edáfica, carbono da biomassa microbiana, respiração do solo, quociente metabólico e carbono lábil de solo fumigado em Neossolo Flúvico, na região semiárida brasileira (Juazeiro, BA). Os maiores teores de carbono da biomassa microbiana e carbono lábil de solo fumigado foram obtidos aos 117 dias após o plantio, e o carbono da biomassa microbiana correlacionou-se inversamente com a respiração do solo e com o quociente metabólico, que apresentaram aumento a partir de 215 dias após o plantio. Aos 354 dias após plantio, a macrofauna edáfica apresentou maior densidade, riqueza, diversidade e uniformidade, com as formigas e os besouros sendo seus principais representantes.

Pimentel et al. (2012) avaliaram a macrofauna epígea em sucessão cultural utilizando-se combinações de coquetéis vegetais como adubação verde e subseqüente plantio de melão. Não houve diferença entre os tratamentos com coquetéis vegetais. A época de coleta influenciou a macrofauna epígea, e a diversidade e uniformidade foram inversamente correlacionadas com a densidade e a uniformidade da macrofauna epígea. A família Formicidae da ordem Hymenoptera, seguida das ordens Isopoda, Coleoptera e Oligochaeta foram os grupos da fauna mais encontrados.

## 2.2 Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)

O nitrogênio é o elemento mais abundante na atmosfera terrestre (78%) e é um nutriente de fundamental importância para todos os seres vivos. Nas plantas, é responsável por inúmeras reações, além de fazer parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. Por ser elemento essencial, seu balanço afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e translocação de fotoassimilados e a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar primeiramente afetado, sua deficiência gera diminuição do crescimento das plantas e da produtividade (TAIZ & ZIEGER, 2004).

Na atmosfera, o N se encontra na forma gasosa ( $N_2$ ), não disponível para a maioria dos vegetais, que absorvem N do solo principalmente nas formas de  $NH_4^+$  ou de  $NO_3^-$ . Assim, as plantas dependem do N da matéria orgânica do solo ou da adição de fertilizantes nitrogenados.

Através de processos de fixação (espontânea, industrial e biológica), nos quais é quebrada a tripla ligação da molécula de  $N_2$ , este nutriente pode ser disponibilizado aos vegetais. A fixação espontânea ocorre através da ação de raios. No processo de fixação industrial do  $N_2$ , os impactos ambientais são bastante significativos em função da utilização de combustíveis fósseis como fonte de energia, o que contribui com a emissão de gases do efeito estufa. As espécies da família das leguminosas, no entanto, podem conseguir uma parte ou a totalidade de sua nutrição nitrogenada diretamente do ar, devido às suas associações simbióticas com bactérias diazotróficas (conhecidas como rizóbios) que invadem os pêlos radicais formando nódulos onde o nitrogênio livre do ar é convertido em nitrogênio fixado para assimilação ou estocagem pela planta, no processo conhecido como fixação biológica do nitrogênio (FBN) (SANTOS et al., 2008).

A relação entre as leguminosas e os rizóbios é tão íntima que se pode considerar esta associação uma nova forma de vida. Esse seleto grupo de plantas desenvolveu um meio eficiente de suprir suas necessidades ou suas demandas de nitrogênio e obter vantagem evolucionária sobre a maioria dos demais organismos vivos. A complexidade dos tecidos dos nódulos e o transporte vascular, indicam uma longa co-evolução entre as duas partes e uma prova disto é o grande sucesso ecológico e evolucionário da família Leguminosae (ALLEN & ALLEN, 1981).

Inicialmente, os rizóbios foram classificados em uma única família, a Rhizobiaceae, contudo, a partir do emprego de técnicas de biologia molecular conduzidos com os genes

RNA ribossomais (RNAr), os genes 16S RNAr passaram a ser a molécula ideal para estimar as relações filogenéticas entre as bactérias e sua posição taxonômica, o que ocasionou mudanças importantes na taxonomia das bactérias. Desde então, os rizóbios foram subdivididos nas famílias Rhizobiaceae, incluindo os gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Phyllobacteriaceae* com os gêneros *Allorhizobium* syn. *Rhizobium* e *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobiaceae* com o gênero *Bradyrhizobium* e *Hiphomicrobiaceae* com o *Azorhizobium*, todos pertencentes a ordem Rhizobiales, membros da classe alfa( $\alpha$ )-proteobactéria. Novas estirpes que contêm simbiontes fixadores de N em leguminosas incluem os gêneros *Methylobacterium*, *Devosia*, *Ochrobactrum* e *Phyllobacterium*, também, pertencentes a classe das  $\alpha$ -proteobactérias (WILLEMS, 2006). Além destes, foi proposto que estirpes dos gêneros *Burkholderia*, *Ralstonia* e *Cupriavidus*, membros da classe das  $\beta$ -proteobactérias, também, poderiam formar nódulos e fixar N<sub>2</sub> com leguminosas, e tais bactérias passaram a ser conhecidas como  $\beta$ -rizóbios (MOULIN et al., 2001).

A FBN também vem sendo estudada em gramíneas. No Brasil, estes estudos foram iniciados há mais de 40 anos sob a liderança da pesquisadora Johanna Döbereiner que publicou diversos trabalhos sobre o assunto. Durante este período de pesquisas, grandes avanços ocorreram, como a descoberta de diversas bactérias diazotróficas associadas às gramíneas, como as rizosféricas (*Beijerinckia fluminensis* e *Azotobacter paspali*), associativas (*Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*) e as endofíticas (*Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Glucanoacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia brasilensis* e *B. tropica*), e estudos com inoculação de cereais com bactérias diazotróficas apontam que as endofíticas tem maior potencial pra a FBN (BALDANI & BALDANI, 2005).

Nos últimos anos, a FBN em gramíneas tem conquistado destaque em pesquisas, principalmente, com cana-de-açúcar e arroz irrigado, entre outras culturas. Alguns genótipos de culturas de gramíneas tem apresentado contribuições significativas do processo de FBN, gerando interesse por novos estudos (BODDEY et al., 1995; DÖBEREINER, 1997; COELHO et al., 2003; SHRESTA & MASKEY, 2005; SANTI et al., 2013).

Do ponto de vista energético, a FBN também é um processo dispendioso, só que ocorre em temperatura ambiente e pressão atmosférica, utilizando energia celular na forma de ATP. O exemplo mais bem sucedido mundialmente no que diz respeito à FBN é a economia relacionada ao não uso de fertilizantes nitrogenados na cultura da soja no Brasil. As quantidades de N fixadas em algumas das principais culturas são estimadas em 33 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> em solos sob cultivo de arroz, 25 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> na cultura da cana-de-açúcar, 23 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> na cultura do feijoeiro comum e algo em torno de 176 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> na cultura da soja.

## 2.3 Quantificação da FBN

Diversos métodos foram desenvolvidos com a finalidade de quantificar a contribuição da FBN na nutrição das plantas, entre estes estão a diferença de N-total (BODDEY, 1987), redução de acetileno (BURRIS, 1975), balanço de N-mineral (ALVES et al., 1994), e as técnicas isotópicas como o N marcado com  $^{13}\text{N}$  e  $^{15}\text{N}$  (RUSCHEL et al., 1978), diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$  (VALLIS et al., 1967) e abundância natural de  $^{15}\text{N}$ , que é basicamente uma técnica de diluição isotópica (SHEARER & KOHL, 1986, FREITAS et al., 2010a).

Para Boddey e Urquiaga (1992), a técnica de diluição isotópica é a mais confiável para quantificar FBN, até mesmo, quando a contribuição da FBN no sistema é pequena. Ramos et al. (2001) apontaram que as técnicas isotópicas do  $^{15}\text{N}$  apresentam melhor potencial para avaliar separadamente as entradas de N via FBN e derivadas do solo para as leguminosas. Existem duas variantes das técnicas de diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , na primeira, o solo é enriquecido com  $^{15}\text{N}$  (técnica de enriquecimento de  $^{15}\text{N}$ ) e, na segunda, a técnica é aplicada sem adição isotópica de N e a FBN estimada é derivada da diferença da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  da leguminosa e da planta referência não fixadora de  $\text{N}_2$  (técnica da abundância natural do  $^{15}\text{N}$ ), sendo a folha, o melhor órgão da planta para amostragem, pois apresenta um largo sinal de N (BODDEY et al., 2000).

Na metodologia da abundância natural, a marcação do solo ocorre naturalmente e para calcular a proporção do N da planta que é fixado via FBN é feita uma interpolação entre as abundâncias de  $^{15}\text{N}$  do N fixado e do N de outras fontes disponíveis para a planta (SANTOS et al., 2008). Assim, a metodologia baseia-se na comparação entre a abundância de  $^{15}\text{N}$  de uma espécie fixadora de N, que obtém N do  $\text{N}_2$  atmosférico em adição às fontes de N do solo, e a abundância de uma espécie referência não fixadora que adquire o seu N apenas das reservas do solo, sendo esperado que as plantas não fixadoras que retiram todo o seu N do solo sejam mais abundantes em  $^{15}\text{N}$  do que as plantas fixadoras que retiram parte do N do ar (SHEARER & KOHL, 1986).

A abundância natural do  $^{15}\text{N}$  é expressa em unidades de  $\delta$  (‰), que representa o desvio em relação ao  $\text{N}_2$  atmosférico, da razão entre as massas de  $^{15}\text{N}$  e  $^{14}\text{N}$  do nitrogênio presente na amostra, seguindo a equação:

$$\delta = (R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1) \times 1000$$

Onde  $R_{\text{amostra}}$  e  $R_{\text{padrão}}$  correspondem às razões  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  da amostra e do padrão ( $\text{N}_2$  atmosférico), respectivamente.

Por definição, o  $\delta^{15}\text{N}$  do  $\text{N}_2$  atmosférico é 0‰; assim, se uma amostra tiver uma concentração de  $^{15}\text{N}$  maior que a do ar (maior que 0,3663 atom% de  $^{15}\text{N}$ ) o valor do  $\delta^{15}\text{N}$  será positivo ( $> 0$ ) e caso as amostras apresentem uma concentração menor de  $^{15}\text{N}$  menor que a do ar o valor do  $\delta^{15}\text{N}$  será negativo ( $< 0$ ). Considerando-se que um  $\delta^{15}\text{N}$  é 1/1000 da abundância de  $^{15}\text{N}$  do ar atmosférico seu valor equivale a 0,0003663 atom%  $^{15}\text{N}$ .

Shearer e Kohl (1989) descreveram a equação para o cálculo do percentual de N da planta derivado do ar:

$$\%N_{\text{dda}} = (\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - \delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})} / \delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - B) \times 100$$

Onde o %N<sub>dda</sub> é o percentual de N da planta fixadora derivado do ar, o  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}$  é a abundância do  $^{15}\text{N}$  da planta controle não fixadora, o  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}$  corresponde à abundância de  $^{15}\text{N}$  da planta fixadora e B (valor B) é o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  para plantas cultivadas na ausência de N.

O valor B da fórmula do %N<sub>dda</sub> é utilizado para corrigir o fracionamento isotópico durante o processo de fixação do N, correspondendo ao valor de  $\delta^{15}\text{N}$  da planta fixadora cultivada dependendo apenas do  $\text{N}_2$  do ar. O valor B pode ser obtido cultivando-se leguminosas inoculadas com estirpes efetivas de rizóbios em substratos isentos de N. A maioria dos valores de B encontrados para leguminosas estão na faixa de -2,0 a + 1,0 ‰ (BODDEY et al., 2000).

O método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  é muito utilizado para estimativas de FBN em árvores em sistemas naturais e agroflorestais (FREITAS et al., 2010b), mas também pode ser muito útil para leguminosas anuais cultivadas (SANFORD et al., 1995).

## 2.4 Espécies utilizadas nos coquetéis vegetais

### 1. Crotalárias (*Crotalaria juncea* L. e *C. spectabilis* Roth)

As crotalárias, espécies da família Fabaceae, são plantas anuais, eretas, arbustivas, de crescimento determinado e com sementes de tamanho reduzido e formato de rim. São espécies com boa adaptação a solos de textura arenosa e baixa fertilidade. A *Crotalaria juncea* é originária da Índia e Ásia Tropical, apresenta crescimento rápido, proporcionando cobertura rápida do solo, com desenvolvimento adequado tanto em solos argilosos quanto

arenosos e produção de fitomassa variável, em geral, entre 15 t ha<sup>-1</sup> e 60 t ha<sup>-1</sup> de massa verde e 4 t ha<sup>-1</sup> e 15 t ha<sup>-1</sup> de massa seca (WUTKE et al., 2014). Sua capacidade de fixação de N é variável quando cultivada isolada e em consórcio, variando de 57 a 61%, incorporando ao solo 89 a 173 kg ha<sup>-1</sup> de N, como observado por Perin et al. (2004). Vem sendo utilizada como adubo verde, apresentando benefícios para o solo e as culturas subsequentes (ARAÚJO et al., 2005; MIYAZAWA et al., 2010).

A *C. spectabilis* é originária das Américas do Sul (Brasil) e do Norte. Com produção de fitomassa seca em torno de 9 t ha<sup>-1</sup> (CARNEIRO et al., 2008), apresenta resultados positivos quando utilizada como adubo verde (CHOI et al., 2008).

## 2. Feijão de porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.)

O feijão de porco (Fabaceae) é originário da América Central. A espécie é anual, ereta, herbácea, apresentando crescimento inicial lento, resistente a altas temperaturas e adaptação a solos com deficiência em fósforo (P). As plantas possuem hastes grosseiras e lenhosas na base, de 80 cm a 120 cm de altura e ciclo de 80 a 90 dias até o florescimento. Produz de 20 t ha<sup>-1</sup> a 25 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa verde e de 5 t ha<sup>-1</sup> a 8 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca (WUTKE et al., 2014). É muito utilizado como adubo verde (MUREITHI et al., 2003; FARIA et al., 2005; CARVALHO et al., 2013), podendo fixar de 13 a 20 kg ha<sup>-1</sup> de N (RAMOS et al., 2001).

## 3. Guandu (*Cajanus cajan* (L.) Huth)

O guandu (Fabaceae) é originário da Índia e da África tropical ocidental. Planta anual ou semiperene, arbustiva, de crescimento determinado ou indeterminado, mantendo-se verde durante todo o ano. O crescimento inicial é lento, desenvolvendo-se mais adequadamente na faixa de temperatura de 18 a 30°C. Produz de 15 t ha<sup>-1</sup> a 30 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa verde e de 5 t ha<sup>-1</sup> a 18 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca (WUTKE et al., 2014).

## 4. Lablab (*Dolichos lablab* L.)

A espécie pertence à família Fabaceae e é originária da África. É uma planta anual ou bianual, de hábito rasteiro e crescimento indeterminado, com ampla adaptação, não tolerante à geadas, com bom desenvolvimento sob temperaturas entre 18 e 25 °C. Pode fixar até 180 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N, produzindo, em média, de 5 t ha<sup>-1</sup> a 7 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca e de 1 t ha<sup>-1</sup> a 1,5

t ha<sup>-1</sup> de sementes (WUTKE et al., 2014). Mostra-se promissora quando utilizada como adubo verde (SNAPP et al., 1998).

5. Mucunas (*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Holland e *M. nivea* (Roxb.) DC. ex Wight & Arn.)

As mucunas pertencem à família Fabaceae. A *M. aterrima* é conhecida como mucuna-preta e a *M. nivea* é conhecida como mucuna-cinza. O gênero é originário da África e conhecido anteriormente como *Stizolobium*. Possuem vagens com tamanhos distintos e sementes com coloração característica do nome comum de cada espécie. São plantas anuais, herbáceas, rasteiras, vigorosas, com ramos trepadores bem desenvolvidos, podendo alcançar até 6 m de comprimento. A mucuna preta produz, aproximadamente, 35 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa verde e de 6 t ha<sup>-1</sup> a 8 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca, enquanto a mucuna-cinza pode produzir de 18 t ha<sup>-1</sup> a 30 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa verde e de 3 t ha<sup>-1</sup> a 6 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca (WUTKE et al., 2014). Ramos et al. (2001), estudando espécies utilizadas como adubo verde, verificaram que as espécies de mucuna podem acumular até 73 kg ha<sup>-1</sup> de N, sendo 60 kg ha<sup>-1</sup> derivados da FBN.

6. Milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown)

A espécie pertence à família Poaceae. É uma planta forrageira, anual, de clima tropical, apresenta crescimento ereto, rústica, adaptada a solos de diferentes texturas e de baixa fertilidade (sobretudo em P), com média tolerância ao Al, moderada resistência ao frio e elevada resistência à seca (WUTKE et al., 2014). Vem sendo utilizada em consórcio com outras gramíneas e/ou leguminosas com adubo verde (PERIN et al. 2004). Chega a produzir 46 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa fresca e 14 t ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca (OLIVEIRA et al., 2002). De acordo com Morais et al. (2012), outras espécies do gênero *Pennisetum* podem obter parte de seu N através da FBN com micro-organismos endofíticos, mas ainda não existem relatos para o milheto.

7. Milho (*Zea mays* L.)

A espécie pertence à família Poaceae. É originária do México, possui ciclo anual, ereta, atingindo de 1,5 m a 3 m de altura na floração. É uma planta adequada para rotação

com alimentícias anuais (arroz, feijão, girassol) ou em coquetel de adubos verdes, misturada a leguminosas como guandu, mucuna e lablab, para aumentar a relação C/N e decomposição mais lenta da fitomassa (WUTKE et al., 2014). A fitomassa fresca pode atingir  $46 \text{ t ha}^{-1}$  e produzir  $12 \text{ t ha}^{-1}$  de fitomassa seca (OLIVEIRA et al., 2002). Baixos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  evidenciando FBN foram relatados recentemente para o milho (MONTAÑEZ et al., 2009).

#### 8. Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

O sorgo pertence à família Poaceae, é uma espécie, provavelmente, originária da África. São plantas anuais, eretas e com alta produção de fitomassa com decomposição lenta, importante para a manutenção de palhada na superfície do solo, principalmente, em sistema de plantio direto, e sensível ao fotoperiodismo. O sorgo-forrageiro é rústico, de rápido crescimento, tolerante a longos períodos de seca, sendo indicado para forragem, com duas ou mais rebrotas, ou para cobertura na entressafra. Seus resíduos apresentam altos teores de celulose e lignina, o que contribui para retardar a decomposição de sua palhada. Produz de  $20 \text{ t ha}^{-1}$  a  $60 \text{ t ha}^{-1}$  de fitomassa verde e de  $4 \text{ t ha}^{-1}$  a  $10 \text{ t ha}^{-1}$  de fitomassa seca (WUTKE et al., 2014). Vem sendo utilizado como adubo verde e coquetéis vegetais (KOUYATÉ et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2002; GIONGO et al., 2011).

A ocorrência de bactérias diazotróficas, principalmente dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia*, nos tecidos do sorgo já é conhecida há algum tempo (JAMES ET al. 1997; BERGAMASCHI et al. 2007; LUNA et al. 2010). Entretanto, poucas informações são disponíveis sobre o potencial da espécie de se beneficiar da associação com essas bactérias. O primeiro relato de ocorrência de FBN em sorgo através de técnicas isotópicas foi o de Ferreira Neto (2013), em cultivos consorciados com leguminosas no Submédio São Francisco. Apesar da evidência de que o sorgo foi capaz de absorver altas proporções de N atmosférico ( $\%N_{\text{dda}} > 90\%$ ), novos estudos são necessários para comprovar FBN nessa gramínea.

#### 9. Girassol (*Helianthus annuus* L.)

O girassol pertence à família Asteraceae. É uma planta originária das Américas do Norte e Central. A espécie apresenta desenvolvimento rápido, seu caule é ereto, não ramificado, e a planta tem altura entre 1,8 m e 2,5 m, com sistema radicular pivotante bastante ramificado. Apresenta grande adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas

(WUTKE et al., 2014). Pode ser utilizado com a função de cobertura do solo, com produção de fitomassa fresca atingindo  $12,3 \text{ t ha}^{-1}$  e fitomassa seca de  $2,8 \text{ t ha}^{-1}$ , em sistema de plantio direto (SODRÉ FILHO et al., 2004) e apresentando  $10,6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$  em sua fitomassa aérea (CARVALHO et al., 2008).

#### 10. Mamona (*Ricinus communis* L.)

A planta pertence à família Euphorbiaceae. Nativa da África tropical, é uma espécie de crescimento rápido, arbustiva, com elevada tolerância à seca (RAJKUMAR e FREITAS, 2008).

A mamona é uma das culturas mais tradicionais do semiárido brasileiro, possui um sistema radicular robusto e denso, podendo explorar camadas profundas do solo, razão pela qual é tido como tolerante à seca (SAVY FILHO et al., 1999). Pode produzir  $4,7 \text{ t ha}^{-1}$  de fitomassa seca, quando cultivada sem adição de fertilizantes nitrogenados (SILVA et al., 2007) e vem sendo utilizada como espécie integrante em coquetéis vegetais, como nas pesquisas realizadas por Giongo et al. (2011) e Pimentel et al. (2011).

### 2.5 *Cucumis melo* (L.) - Melão

O melão é uma das espécies de maior importância da família Cucurbitaceae. Dentre os frutos frescos produzidos no Brasil, o melão foi o terceiro produto mais exportado nos últimos anos, tendo na região Nordeste, os estados do Ceará e Rio Grande do Norte como responsáveis por 94% da produção nacional (AGRIANUAL, 2013). O Brasil possui 22810 ha de área plantada da cultura, produzindo 575386 t de frutos, com um rendimento médio de  $25248 \text{ kg ha}^{-1}$  (IBGE, 2012).

O cultivo do meloeiro vem sendo cultivado no Submédio do São Francisco desde 1965. Tem se expandido com sucesso pela região Nordeste, que é a principal região exportadora do fruto, o que pode ser atribuído às condições climáticas, como temperatura entre 25 e 35 °C, alta incidência de luz solar e baixa umidade relativa do ar, propícias ao bom desenvolvimento e produção do meloeiro (SOUSA et al., 1999, BRAGA et al., 2009). Em Pernambuco e na Bahia, a produção de melão concentra-se no Vale Submédio do São Francisco (IBGE, 2012).

Por um longo período existiram muitas controvérsias quanto à origem do melão, no entanto, a partir da análise de sequências de DNA de plastídeos e marcadores nucleares de cerca de cem acessos de *Cucumis* da África, Ásia e Austrália, foi possível mostrar que o melão tem origem asiática e o progenitor selvagem do *C. melo* ocorre na Índia (SEBASTIAN et al., 2010). O melão é uma cultura de grande interesse econômico que vem aumentando fortemente sua área de cultivo em regiões áridas e semiáridas do mundo (TEDESCHI et al., 2011). É um fruto tropical de alto valor comercial, apreciado por suas características sensoriais. Tem importância tanto no mercado interno, quanto no externo (BOAS et al., 1998). Os compostos voláteis são os principais determinantes da qualidade dos frutos do melão, percebidos pelos consumidores, e sua boa aceitação no mercado é impulsionada pelo gosto adocicado e odor agradável (KOURKOUTAS et al., 2006).

O meloeiro apresenta um hábito de crescimento indeterminado e desenvolve novos ramos, flores e frutos por um certo período, até que as condições ambientais interrompam o crescimento. Necessita de um balanço adequado de N para manter proporções apropriadas das partes reprodutivas e vegetativas da planta (CASTELLANOS et al., 2011). Logo, a cultura é dependente do fornecimento de N para garantir o crescimento da planta e a boa produtividade dos frutos (CABELLO et al., 2011) e sua produtividade é frequentemente limitada por baixos níveis de nutrientes do solo (N, P, K) em formas assimiláveis (COUTINHO et al., 2011).

## **2.6 *Mangifera indica* (L.) – Manga**

A manga (*Mangifera indica* L.) é pertencente à família Anacardiaceae, conhecida há mais de quatro mil anos. Originária do sul da Ásia, o fruto dispersou-se por todos os continentes, sendo cultivada, atualmente, na maioria dos países de clima tropical e subtropical (DONADIO e FERREIRA 2002).

A cultura da manga tem se destacado na região do Vale do Submédio São Francisco, em nível nacional e internacional, pela qualidade dos frutos produzidos e pelo desenvolvimento de tecnologias específicas no manejo da floração, associadas às condições climáticas, possibilitando assim uma produção escalonada durante todo o ano (SIQUEIRA et al., 2008).

O Brasil é o sétimo maior produtor mundial do fruto e o quarto maior exportador, com 133 mil toneladas (FAOSTAT, 2013). A região Nordeste (NE) é responsável por 67% da área cultivada e 70% da produção brasileira, sendo esta uma das principais frutas produzidas no

polo Juazeiro-BA/Petrolina-PE. Com uma área cultivada de mais de 21 mil hectares e uma produção acima de 435 mil toneladas, o polo é responsável por 51% da produção de manga do NE do Brasil e contribui com 36,6% da produção nacional, além de responder por mais de 90% das exportações brasileiras dessa fruta (IBGE, 2014).

## **2.7 Importância e estimativa da biomassa microbiana do solo**

O solo é um ecossistema complexo e dinâmico, apresentando constantes transformações microbianas, sendo um recurso natural considerado de vital importância para o funcionamento do ecossistema terrestre (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007). Sabendo-se que de 80 a 90% dos processos que ocorrem no solo são reações mediadas pela presença de micro-organismos, a biomassa microbiana do solo torna-se um componente vital em todos os ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, pois auxilia importantes transformações metabólicas, através do controle biológico de doenças e pragas, fixação biológica do nitrogênio atmosférico, decomposição de resíduos vegetais e outros produtos, inclusive alguns considerados tóxicos (BOSSIO et al., 2005).

Os micro-organismos responsáveis pela decomposição e mineralização da fração orgânica do solo usam parte dos compostos presentes nos resíduos como fonte de nutrientes e energia para formação de sua biomassa, sendo assim, dados de biomassa microbiana, respiração basal, quociente metabólico e atividade enzimática do solo podem ser utilizados como indicadores para mudanças na qualidade do solo (NAIR & NGOUAJIO, 2012).

A biomassa microbiana do solo constitui a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, sendo constituída por fungos, bactérias, actinomicetos, leveduras e representantes da microfauna como os protozoários, que atuam nos processos que vão desde a formação do solo até a decomposição dos resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, entre outros. É sensivelmente alterada pelas condições impostas pelo meio. A biomassa microbiana do solo é influenciada pelo clima, pela aeração, pela disponibilidade de nutrientes minerais e pelo C orgânico do solo. Quando há maior deposição de resíduos orgânicos no solo e grande quantidade de raízes, há estímulo da biomassa microbiana, ocasionando aumento populacional e de sua atividade (BALOTA et al., 1998).

A respiração basal do solo é um indicador que reflete a produção de CO<sub>2</sub> no solo, decorrente da atividade respiratória de micro-organismos, nematóides, insetos, anelídeos e raízes, presentes no solo. É sensível e revela, de maneira rápida, alterações nas condições

ambientais que possam afetar a atividade microbiana. Contudo, é preciso cautela na interpretação dos dados de respiração, pois um aumento da atividade respiratória pode ser desencadeado tanto pela alta produtividade de um determinado ecossistema quanto pelo estresse proveniente de distúrbios ambientais (DE-POLLI et al., 2005).

Com o objetivo de se ter um atributo mais preciso que a biomassa microbiana e a respiração basal, Anderson & Domsch (1993) propuseram o quociente metabólico ( $qCO_2$ ), definido pela razão entre a respiração basal por unidade de biomassa microbiana do solo por unidade de tempo. À medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente na utilização de recursos do ecossistema, menos  $CO_2$  é perdido pela respiração e maior proporção de C é incorporada aos tecidos microbianos, resultando na diminuição do  $qCO_2$ . A taxa de respiração por unidade de biomassa microbiana ou quociente metabólico é utilizada como indicador de estresse microbiano e chamado de eficiência microbiana, uma vez que é a medida da energia necessária para manter a atividade metabólica, em relação à energia necessária para a síntese de biomassa (BARDGETT & SAGGAR, 1993).

A produção de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) ocorre no solo, sendo emitido para a atmosfera quando os micro-organismos decompõem os substratos orgânicos para obter energia para seu crescimento e funcionamento. São importantes o conhecimento da função da biomassa microbiana e fornecimento do substrato e suas interações com a matriz do solo, na determinação da taxa de produção de  $CO_2$ , para parametrizar os modelos de transformação da matéria orgânica do solo e para o desenvolvimento de estratégias de manejo para promover a fertilidade e aumentar o sequestro de C no solo (WANG et al., 2003).

Os métodos para estimativa da biomassa microbiana do solo são conhecidos como métodos diretos ou indiretos. Os métodos diretos envolvem a microscopia dos componentes da biomassa microbiana, compreendendo as bactérias e fungos. Conhecida como o método mais antigo, a microscopia vem sendo substituída por métodos indiretos. Entre os métodos indiretos estão a determinação por fumigação-extração, fumigação-incubação, técnica dos compostos reativos à ninidrina, método da irradiação-extração e irradiação-incubação, a respiração induzida pelo substrato, entre outros. A quantidade de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolípidios (PFLAs) no solo pode também ser utilizado como método alternativo de determinação da biomassa microbiana (BLOEM & BREURE, 2002).

O método da fumigação-incubação foi o método pioneiro de quantificação da biomassa microbiana do solo. O método consiste na fumigação do solo com clorofórmio, causando um fluxo de  $CO_2$  e  $NH_4$ , após a remoção do fumigante e posterior incubação do

solo. O fluxo é gerado pela decomposição dos micro-organismos mortos pela fumigação (JENKINSON & POLWSON, 1976).

No método da fumigação-extração, a fumigação do solo com clorofórmio promove a lise celular dos micro-organismos com conseqüente liberação do citoplasma para o ambiente. Assim, o C, N e P podem ser extraídos por  $K_2SO_4$  e quantificados, estimando o C, N e P da biomassa microbiana do solo (VANACE et al., 1987).

Joergensen & Brookes (1990) propuseram o método da determinação da biomassa microbiana do solo pela técnica dos compostos reativos à ninidrina. A ninidrina forma um complexo púrpuro com moléculas contendo aminoácidos, proteínas e peptídeos. A quantidade de compostos reativos com a ninidrina que são liberados pela biomassa microbiana após a fumigação é fortemente correlacionada com o conteúdo de C da biomassa microbiana (AMATAO & LADD, 1988).

Atualmente, o método da irradiação-extração e irradiação-incubação vem sendo proposto como alternativa ao uso do clorofórmio. O método consiste na exposição de uma amostra de solo a irradiação com micro-ondas durante alguns minutos. Após a irradiação, as amostras irradiadas e não irradiadas são analisadas conforme os métodos da extração ou incubação. A eliminação de micro-organismos com o uso do forno micro-ondas é resultado da quantidade de irradiação eletromagnética a ser administrada, uma vez que os níveis têm efeito na transferência de energia e na temperatura, rompendo a parede celular e, assim, liberando o material citoplasmático para a solução do solo. Em função de sua sensibilidade, a população de fungos é mais exposta e afetada pelas micro-ondas do que a população de bactérias, devido a sua constituição e ao tamanho de suas hifas (VANACE et al., 1987).

O método da respiração basal e induzida pelo substrato, proposto por Anderson & Domsch (1978), consiste na adição de um substrato de fácil metabolização, como a glicose, em uma amostra de solo, para posterior avaliação da respiração, antes que o crescimento microbiano ocorra. Em média, após 2 h o aumento no  $CO_2$  é proporcional ao tamanho do C microbiano. O método baseia-se em medidas da respiração basal, que é a respiração real do solo, e da induzida, que é a respiração potencial, a partir da adição do substrato.

Outro método é a determinação de ácidos graxos ligados a ésteres de fosfolipídios (PFLAs). Sabendo-se que os PFLAs são encontrados em todas as células vivas, exceto Archaea, e que exocelularmente, os PFLAs existem em pequena concentração comparado a biomassa microbiana total, eles são rapidamente degradados em células mortas, solos e sedimentos. Os PFLAs microbianos podem ser extraídos do solo e sua identificação e

quantificação podem fornecer informações importantes sobre a estrutura da comunidade microbiana (JOERGENSEN & EMMERLING, 2006).

Os fungos são decompositores primários e o ergosterol é o seu mais importante esterol, constituinte das células ou membranas miceliais da grande maioria dos fungos. Os maiores níveis são encontrados nas camadas fosfolipídicas da membrana fúngica, onde desempenha importante função estrutural e hormonal na progressão do ciclo celular. A determinação do ergosterol na biomassa fúngica pode ser realizada por espectrofotometria ultravioleta e infravermelha, associadas a métodos cromatográficos como camada delgada, líquida de alta eficiência e gasosa (REGNER et al., 1994; GESSNER & SMITT, 1996). Sendo, principalmente, um componente de membrana (geralmente, próximo a 0,5% da massa orgânica), o ergosterol é indicativo do conteúdo citoplasmático de células metabolicamente ativas, constituindo um indicador de células fúngicas vivas. A quantificação do ergosterol é realizada para estimar a biomassa fúngica em amostras de solo (KUHNS et al., 1990; NEWELL, 1994).

## **2.8 Influência do manejo na biomassa microbiana do solo**

### **2.8.1 Fertilização orgânica e mineral**

O tipo de manejo adotado interfere fortemente na microbiota do solo. Fernandes et al. (2005) estudaram o efeito de quatro aplicações (doses diferenciadas, 0, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose recomendada) de lodo de esgoto em um Latossolo Distrófico Vermelho Escuro em condições de campo, no qual a respiração basal, o C e N da biomassa microbiana, o  $qC_{O_2}$  e a atividade enzimática aumentaram com a adição do lodo, sendo constatado também que seus valores estão correlacionados positivamente com as doses aplicadas.

A atividade microbiana também pode ser afetada pelo tipo de fertilização. Hu et al. (2011) descreveram que há aumento do C da biomassa microbiana e da atividade enzimática após aplicação da fertilização em longo prazo, exceto para tratamentos deficientes em P (NK). No entanto, a fertilização orgânica teve maior impacto sobre o C da biomassa e a atividade enzimática, quando comparada à fertilização mineral. A fertilização em longo prazo também aumentou a respiração basal do solo e diminuiu o  $qCO_2$ , exceto para os tratamentos NK. O aumento da diversidade funcional microbiana e da atividade da invertase do solo pode ser explicado pelo aumento do C disponível, como consequência da incorporação do

melhoramento, enquanto a diminuição do  $qCO_2$ , pode ser causada pelas condições melhoradas do solo.

Outro fator que pode interferir nas respostas da biomassa microbiana do solo é o tipo de adubação nitrogenada aplicada. A combinação de N orgânico (uréia e glicina) e inorgânico ( $NH_4NO_3$ ), em diferentes proporções, e a aplicação de N inorgânico isolado, foram testadas por Guo et al. (2011). Eles observaram que a adubação combinada de N orgânico e inorgânico acelerou mais significativamente a atividade enzimática e da biomassa microbiana do que a utilização apenas do N inorgânico, além de melhorar a capacidade da microbiota do solo em suportar flutuações de pH. A adubação combinada melhorou as condições de limitação de N do solo de floresta, com a dosagem média de N orgânico (N inorgânico : N orgânico = 3 : 7) aumentando a atividade enzimática e a biomassa microbiana.

Heinze et al. (2011), investigando os efeitos da fertilização vegetal nas propriedades do solo em comparação com a utilização de esterco bovino, observaram que a aplicação do fertilizante orgânico vegetal teve um leve efeito negativo na quantidade do C orgânico do solo, sem efeito para o rendimento das culturas (batata e centeio de inverno), C, N e P da biomassa microbiana, mas apresentou efeito positivo na presença do ergosterol quando comparado com o tratamento utilizando esterco. Contudo, o aumento no ergosterol, provavelmente, não está relacionado com a utilização do fertilizante vegetal, mas com a incorporação da palha. A permanência da palha tem mostrado promover a presença de fungos saprofitos, causando a rápida mineralização do fertilizante orgânico e aumentando a mineralização da matéria orgânica.

Práticas agrícolas do sistema orgânico baseiam-se na restrição ao uso de fertilizantes e pesticidas sintéticos, adotando o uso de adubos e substratos orgânicos e enfatizam a rotação de culturas e processos biológicos para o controle de pragas e doenças. Tais práticas proporcionam melhorias na qualidade biológica do solo, avaliada por indicadores como a biomassa e a atividade microbiana (RIGBY & CACERES, 2001). Vários estudos vêm sendo realizados para avaliar o efeito das práticas orgânicas sobre a biomassa microbiana do solo, e os resultados mostram influência positiva do aporte de substratos orgânicos sobre a biomassa microbiana do solo (LUNDQUIST et al., 1999; FLIESBACH & MADER, 2000; MELERO et al., 2006; GOVAERTS et al., 2007; SAMPAIO et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009). Os dados gerados pelas pesquisas informam que o C da biomassa microbiana foi maior no solo sob sistema orgânico quando comparado com o sistema convencional.

## 2.8.2 Sistema plantio direto

A permanência de restos culturais na superfície, no sistema plantio direto, condiciona uma dinâmica própria no solo, caracterizada por processos biológicos mais acentuados. E isso acontece devido ao sistema proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento da biomassa microbiana do solo, principalmente, na camada superficial, em decorrência da ausência de revolvimento e da deposição permanente de resíduos orgânicos. Wardle & Hungria (1994) observaram que o sistema plantio direto permite o acúmulo de resíduos vegetais e, assim, favorece o aumento da biomassa microbiana, em comparação ao sistema de cultivo convencional, em cerca de 50%.

Sun et al. (2011) estudaram a distribuição do C do solo e a biomassa microbiana nos solos arados sob diferentes regimes de cultivos (plantio direto; revolvimento mínimo do solo - a 7 cm; e cultivo convencional - aração até 20 cm; e aração profunda), observando que as maiores quantidades de carbono orgânico do solo (COS) foram encontradas nas camadas de 0-30cm de profundidade nos tratamentos em que os resíduos vegetais ficaram concentrados. A quantidade de biomassa microbiana (na camada de 0-5 cm de profundidade) foi maior no tratamento sob plantio direto do que no cultivo convencional. Os resultados sugerem que o regime de cultivo influencia a distribuição do C no solo e a biomassa microbiana, porém não influencia no sequestro de C ao longo do perfil de 60 cm.

No sistema de plantio direto, há um aumento significativo da atividade microbiológica, como constatado por Babujia et al. (2010). Em um estudo para estimar a contribuição do plantio direto na fertilidade solo, os autores avaliaram as quantidades de N e de C até a profundidade de 60 cm, em um experimento montado durante 20 anos, com sucessão de cultura de soja, no verão, e de trigo, no inverno. No regime de plantio direto, houve um aumento significativo nos estoques de C (18%) e N (16%) no solo, C da biomassa microbiana - CBM (35%) e N - NBM (23%), em comparação ao sistema de cultivo convencional. A respiração basal microbiana e o quociente microbiano (qMic) também foram significativamente maiores sob plantio direto. Na camada de 0 a 5 cm, o CBM foi 82% maior no plantio direto do que no sistema convencional. Além disso, a camada de 0 a 30 cm acumulou 70% do CBM no plantio direto e 58% no sistema convencional.

A rotação de culturas, prática importante para o sistema de plantio direto, também beneficia a biomassa microbiana do solo, devido à adição de palha no solo proveniente do acúmulo de resíduos vegetais nas camadas superficiais (GOVAERTS et al., 2008).

### 2.8.3 Adubação verde

A prática da adubação verde tem sido mostrada como uma alternativa à utilização da adubação mineral, disponibilizando nutrientes importantes ao crescimento das plantas. A adubação verde e a deposição de resíduos culturais causam mudanças na composição da estrutura da comunidade microbiana do solo (YE et al., 2014).

Elfstrand et al. (2007) observaram que a adubação verde em longo prazo afetou as propriedades microbianas do solo. Em geral, a adubação verde aumentou a biomassa microbiana do solo, comparada com os tratamentos sem utilização de fertilização orgânica, e a biomassa microbiana total e a concentração de C do solo foram fortemente correlacionadas. Não somente as diferenças de quantidade de C no solo, mas, possivelmente, também diferenças na qualidade do C determinam a proporção de biomassa microbiana. O C proveniente da adubação verde tem-se mostrado mais acessível para o acúmulo da biomassa microbiana do que de o C de outras fontes orgânicas. Todas as atividades enzimáticas do solo responderam à adubação verde, mas as respostas diferiram entre as enzimas e data da amostragem. O efeito em longo prazo do melhoramento orgânico na atividade enzimática é, provavelmente, um efeito combinado de alto grau de estabilização de enzimas das substâncias húmicas e um aumento da biomassa microbiana, com um aumento na concentração de C do solo.

A adubação verde também pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas. Longo et al. (2011) estudaram a utilização de espécies de leguminosas (*Crotalaria juncea*, *Cajanus cajan* e *Mucuna aterrima*) para a recuperação de atributos biológicos do solo em áreas degradadas por mineração. Os resultados mostraram que a utilização das leguminosas como adubos verdes proporcionou aumento significativo na biomassa microbiana do solo.

Nair & Ngouajio (2012) verificaram que as práticas de manejo do solo, como utilização de plantas de cobertura e aplicação de compostos (como centeio + ervilhaca) podem aumentar a atividade biológica do solo. Propriedades biológicas do solo, como respiração, biomassa microbiana, população de nematóides e diversidade funcional microbiana, podem ser usadas como indicadores de qualidade do solo, em resposta ao manejo adotado.

#### 2.8.4 Pastejo

Os dados sobre a influência do pastejo na qualidade do solo e na biomassa microbiana são contraditórios. Alguns estudos mostram que o pastejo pode provocar uma significativa redução na biomassa microbiana e no C orgânico no solo (PANDEY & SINGH, 1992; HOLT, 1997; NORTHUP et al., 1999). Por outro lado, Xavier et al. (2006) verificaram que o manejo em áreas sob cultivo orgânico e pastagem contribui para a manutenção e recuperação de conteúdos de C e N da biomassa microbiana do solo e da matéria orgânica.

Marchiori Júnior & Melo (1999) encontraram teores de C orgânico, C microbiano e as atividades de amilase e celulase semelhantes em solo sob mata natural e pastagem durante 20 e 25 anos, somente apresentando redução de 18% no C orgânico na pastagem de 25 anos em relação à mata natural na profundidade de 0-10 cm. Avaliando a substituição de floresta nativa por pastagem cultivada, Cardoso et al. (2009) encontraram redução nos teores de C orgânico total, C microbiano e  $qCO_2$ , elevando a respiração basal. O C microbiano é o atributo mais sensível às alterações no solo, em decorrência da substituição da floresta nativa por pastagem cultivada e pelo sistema de pastejo contínuo em pastagem nativa.

Souza et al. (2010) descreveram que os sistemas integrados lavoura-pecuária sob plantio direto quando submetidos a moderadas intensidades de pastejo conseguem manter o nível de qualidade biológica do solo, de maneira similar ao sistema de plantio direto na ausência de animais. Também observaram que os teores de C, N e P microbiano variam em função da época de desenvolvimento da pastagem. Contudo, alta intensidade de pastejo, caracterizado por baixa altura da pastagem (10 cm), pode provocar redução no C, N e P da biomassa microbiana do solo em condições limitadas de água.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Área de estudo

Dois experimentos de longa duração, um com cultivo de melão (*Cucumis melo* L., híbrido F11000, cultivar Gladial) e outro com cultivo de mangueira (*Mangifera indica* L., cultivar Kent), foram conduzidos no Campo Experimental de Bebedouro, propriedade da Embrapa Semiárido, localizado em Petrolina, Sertão de Pernambuco (latitude 09°09'S, longitude 40°22'W e altitude 365,5m). O clima da região é BSwH (semiárido) segundo classificação de Köppen, com estação chuvosa no verão que se atrasa para o outono, podendo não ocorrer, temperatura média anual em torno de 26,8 °C, precipitação média anual de 541 mm e vegetação nativa de caatinga hiperxerófila. O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico plúntico, textura média/argilosa, relevo plano. Seus atributos químicos e físicos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

O experimento com melão foi implantado em 2012 e vem sendo repetido anualmente, com cultivo da frutícola em sucessão ao cultivo das plantas de cobertura (cultivadas como coquetéis vegetais), seguindo sempre o mesmo esquema experimental e respeitando as mesmas parcelas. O experimento com a manga foi implantado em 2009, sendo o cultivo das plantas de cobertura realizado anualmente a partir de dezembro de 2009 (2009/2010) nas entrelinhas da fruteira. Antes do estabelecimento dos experimentos, a área estava em pousio, após cultivo de tamareiras.

### 3.2 Delineamento experimental

#### 3.2.1 Experimento com melão

O experimento adotou um delineamento em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e quatro repetições (Figura 1). As parcelas (30 m x 10 m) corresponderam a duas formas de manejo da biomassa produzida pelos três tratamentos de adubos verdes que constituíram as subparcelas (10 m x 10 m). As duas formas de manejo foram a incorporação da biomassa dos adubos verdes e das plantas espontâneas ao solo ou a deposição da biomassa na superfície do solo, ambas antes do cultivo do melão. Durante o cultivo dos coquetéis não foram realizadas adubações.

**Tabela 1. Atributos químicos do solo da área de cultivo do melão e da manga antes da implantação dos coquetéis vegetais.**

Prof. (cm)	MO	pH	CE	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	S (bases)	CTC	V
	g kg <sup>-1</sup>	1:2,5	Ext Sat	mg dm <sup>-3</sup>									%
<b>Melão</b>													
0-5	9,67	5,9	0,74	47,34	0,35	0,04	2,2	0,4	0,5	2,14	2,99	5,13	58
5-10	7,29	6,1	0,57	47,34	0,37	0,03	2,5	0,4	0,5	2,14	3,3	5,44	61
<b>Manga</b>													
0-5	9,77	7,1	0,27	42,5	0,37	0,02	1,97	1,00	0,05	0,28	3,37	3,65	91,54
5-10	7,63	6,9	0,35	42,5	0,42	0,02	1,8	1,12	0,05	0,41	3,36	3,77	89,22

**Tabela 2. Atributos físicos do solo da área de cultivo do melão e da manga antes da implantação dos coquetéis vegetais.**

Profundidade	Densidade		Porosidade	Granulometria		
	Solo	Partículas	Total (%)	Areia total	Silte	Argila
Cm	kg dm <sup>-3</sup>			g kg <sup>-1</sup>		
<b>Melão</b>						
0-5	1,46	2,58	43,29	829	133	38
5-10	1,48	2,57	42,35	832	132	37
<b>Manga</b>						
<b>T</b>						
0-5	1,48	2,55	42,84	836	126	38
5-10	1,47	2,60	43,05	822	141	36

Figura 1 – Croqui da área do experimento do melão.



Os tratamentos de adubos verdes corresponderam a duas misturas de espécies (denominadas de coquetéis vegetais) e um terceiro tratamento no qual foi permitido o crescimento de plantas espontâneas.

Os coquetéis vegetais foram preparados misturando-se diferentes proporções de sementes de dois grupos de espécies: leguminosas e gramíneas + oleaginosas. As sementes das diversas espécies utilizadas foram misturadas em duas proporções relativas às densidades de semeadura (sementes  $m^{-1}$ ) recomendadas para cada espécie: 1) no coquetel 1, as sementes foram misturadas em quantidades correspondentes a 50% da recomendação para girassol e cada uma das gramíneas e 150% da recomendação de cada espécie de leguminosa; e 2) no coquetel 2, as sementes foram misturadas em quantidades correspondentes a 150% da recomendação para girassol e cada uma das gramíneas e 50% da recomendação de cada espécie de leguminosa.

Desta forma, os tratamentos foram: tratamento 1, 25% de gramíneas / oleaginosas + 75% de leguminosas, sem revolvimento do solo; tratamento 2, 25% de leguminosas + 75% de gramíneas / oleaginosa, sem revolvimento do solo; tratamento 3, vegetação espontânea sem revolvimento do solo; tratamento 4, 25% de gramíneas / oleaginosas + 75% de leguminosas, com revolvimento do solo; tratamento 5, 25% de leguminosas + 75% de gramíneas /

oleaginosas, com revolvimento do solo; e tratamento 6, vegetação espontânea com revolvimento do solo.

As espécies leguminosas utilizadas nos coquetéis foram: duas espécies de crotalárias (*Crotalaria juncea* L. e *C. spectabilis* Roth), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), lablab (*Dolichos lablab* L.) e duas espécies de mucunas (*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Holland e *M. nivea* (Roxb.) DC. ex Wight & Arn.). As gramíneas utilizadas foram milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown), milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). As oleaginosas utilizadas foram gergelim (*Sesamum indicum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.).

Todas as espécies dos coquetéis foram semeadas em 20 linhas espaçadas de 50 cm, em subparcelas de 10 m x 10 m, tomando-se medidas para garantir a uniformidade de distribuição das sementes. Tanto os coquetéis como os meloeiros receberam irrigação por gotejamento (fitas gotejadoras espaçadas a cada 1 m e com 0,5 m entre gotejadores), com uma lâmina de água calculada com base na evaporação de tanque Classe A e no coeficiente de cultura, aplicada três vezes por semana, no ciclo de 2014 a lâmina total de água foi de 206,9 mm + 65,3 mm de precipitação pluviométrica acumulada e em 2015 a lâmina total de água foi de 322,35 mm + 6,6 mm de precipitação pluviométrica acumulada.

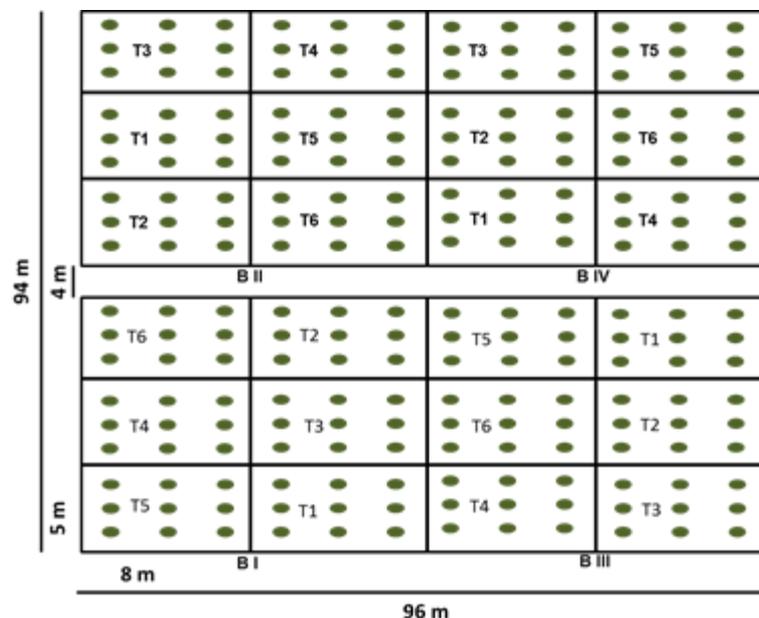
As plantas da adubação verde foram cortadas, aproximadamente, 70 dias após o plantio, e manejadas seguindo os tratamentos adotados. Nos tratamentos com deposição do material na superfície do solo, as plantas foram cortadas com roçadeira. Nos tratamentos com incorporação da biomassa dos coquetéis, foram realizadas aração e gradagem na camada superficial (20 cm) do solo.

Sementes de melão foram postas para germinar e suas mudas foram transplantadas para a área de cultivo, com espaçamento de 2 m entre linhas e 0,4 m entre plantas, aproximadamente 15 dias após o corte dos coquetéis vegetais. Adubação de cobertura via fertirrigação foi utilizada nos meloeiros, distribuída durante todo o ciclo da cultura, três vezes por semana, com as seguintes quantidades totais: 32 kg ha<sup>-1</sup> de ureia (45% de N), 44 kg ha<sup>-1</sup> de nitrato de cálcio (19 % de Ca e 15,5% de N), 62,5 kg ha<sup>-1</sup> de MAP (50% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), 28 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio (0,9% de Mg) e 25 kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de cálcio (27% de Ca).

### 3.2.2 Experimento com manga

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, com parcelas subdivididas, cujas parcelas principais (24 m x 45 m) foram compostas por dois sistemas de preparo de solo e as parcelas subdivididas compreenderam três sistemas de culturas intercalares, com quatro repetições. Cada subparcela foi constituída por nove mangueiras cultivadas em espaçamento de 5 x 8 m (Figura 2).

**Figura 2 - Croqui da área do experimento da manga.**



Os coquetéis vegetais foram preparados misturando-se sementes de dois grupos de espécies: leguminosas e gramíneas + oleaginosas. As sementes das diversas espécies utilizadas foram misturadas em duas proporções relativas às densidades de semeadura (sementes  $m^{-1}$ ) recomendadas para cada espécie: 1) no coquetel vegetal 1, as sementes foram misturadas em quantidades correspondentes a 50% da recomendação para as oleaginosas e gramíneas e 150% da recomendação de cada espécie de leguminosa; e 2) no coquetel 2, as sementes foram misturadas em quantidades correspondentes a 150% da recomendação para as oleaginosas e gramíneas e 50% da recomendação de cada espécie de leguminosa.

As leguminosas utilizadas nos coquetéis vegetais foram contituídas por duas crotalárias (*Crotalaria juncea* L. e *C. spectabilis* Roth), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), lablab (*Dolichos lablab* L.), duas espécies de mucunas (*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Holland e *M. nivea* (Roxb.) DC. ex Wight & Arn.) e feijão-guandu (*Cajanus cajan*

(L.) Huth). As espécies de gramíneas utilizadas foram milheto (*Pennisetum glaucum* L.), milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* L.). As oleaginosas utilizadas foram gergelim (*Sesamum indicum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.).

O espaçamento das linhas de semeadura dos coquetéis vegetais foi de 0,5 m, com a primeira linha localizando-se a 1 m da base do caule da mangueira. Após abertas as linhas, inicialmente foram semeadas as sementes de menor tamanho, seguindo as de tamanho intermediário e posteriormente as de maior tamanho, garantindo assim a uniformidade de distribuição. Foram semeadas 36 linhas de coquetéis vegetais nas entrelinhas das mangueiras por subparcela.

Em 2014, no cultivo das mangueiras, foram realizadas aplicações de calcário calcítico e gesso agrícola antes do plantio dos coquetéis vegetais (2 kg por planta, onde cada planta ocupa uma área de 40 m<sup>2</sup>) e na área só vem sendo realizada adubação verde.

O manejo de irrigação foi por microaspersores, utilizando-se um emissor por planta, realizado com base na tensiometria, sendo as leituras realizadas com tensímetro digital. Anualmente são realizadas podas das fruteiras, após o período de colheita das mangas. As plantas dos coquetéis vegetais foram cortadas, aproximadamente, 70 dias após o plantio, e manejadas seguindo os tratamentos adotados. Nos tratamentos com deposição do material na superfície do solo, as plantas foram cortadas com roçadeira. Nos tratamentos com enterrio do material, as plantas foram incorporadas na camada superficial (20 cm) do solo por meio de aração e gradagem.

### **3.3 Estimativa da produção de biomassa aérea e da FBN dos coquetéis vegetais**

A coleta do material vegetal dos adubos verdes foi realizada em quadrados de 0,25 m<sup>2</sup> lançados aleatoriamente nas linhas dos coquetéis vegetais, com três repetições por parcela. Para o melão, estes procedimentos foram repetidos nos anos de 2014 e 2015. Para a mangueira, estes procedimentos foram repetidos nos anos de 2015 e 2016. Em cada parcela, a biomassa de cada uma das espécies semeadas ou de crescimento espontâneo foi pesada separadamente. Subamostras de cada espécie foram coletadas para determinação do peso seco e realização de análises.

Todo o material vegetal proveniente da biomassa aérea foi seco em estufa a 65°C, pesado e moído. Subamostras foram colocadas em cápsulas e inseridas em um espectrômetro

de massa ThermoQuest-Finnigan Delta Plus (Finnigan-MAT; CA, USA) com interface com um Analisador Elementar (Carlo Erba model 1110; Milan, Italy) no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA-USP, Brazil) para obtenção das concentrações totais (%) e das razões isotópicas de N e C. As razões isotópicas foram determinadas em relação aos padrões internacionais reconhecidos. Materiais de referência (atropina, extrato de levedura e padrão de solo no. 502 – 308, LECO Corporation) foram incluídos em todas as corridas analíticas. As abundâncias naturais do  $^{15}\text{N}$  e do  $^{13}\text{C}$  foram expressas em unidades de  $\delta$  (‰), que representa o desvio em relação ao padrão das razões entre as massas de  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ , seguindo a equação:

$$\delta = (R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1) \times 1000$$

Onde:  $R_{\text{amostra}}$  e  $R_{\text{padrão}}$  são as razões  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  da amostra e do padrão, sendo o  $\text{N}_2$  atmosférico o padrão de N e o Pee Dee Belemnite o padrão de C.

Quando as médias dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas potencialmente fixadoras (leguminosas e gramíneas dos coquetéis) forem menores que as médias das referências (girassol, mamona e espécies espontâneas) e essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) e maior ou igual a 2‰, foi estimado o percentual de nitrogênio derivado do ar (%Ndda), utilizando o método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  (SHEAREER & KOHL, 1986) através da equação:

$$\%Ndda = [(\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - \delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}) / \delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - B] \times 100$$

Onde:  $\delta^{15}\text{N}$  (referência) é o valor médio dos  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas referência (girassol, mamona e plantas espontâneas) de cada ciclo de cultivo,  $\delta^{15}\text{N}$  (fixadora) é o valor dos  $\delta^{15}\text{N}$  de cada espécie alvo (leguminosas e gramíneas) em cada parcela e B é o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  para plantas fixadoras cultivadas na ausência de N. Foram utilizados valores de B disponíveis na literatura: -1,08 ‰, para crotalária, -1,00 ‰, para o feijão-de-porco, -1,09 ‰, para o lablab, -1,82 ‰, para a mucuna (UNKOVICH et al., 2008) e para as gramíneas foi atribuído o valor de B = 0 ‰ (MORAIS et al., 2012).

A quantidade de N fixado na parte aérea das plantas foi estimada multiplicando o valor de %Ndda pelo conteúdo de N de cada planta fixadora, obtido através do produto da concentração de N e da biomassa seca da parte aérea.

### 3.4 Estimativa da biomassa microbiana do solo

Foram coletadas amostras de solo das camadas de 0-5 e 5-10 cm de profundidade, para estimativa dos indicadores biológicos do solo na época do corte das plantas de cobertura e na época de florescimento das culturas.

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método de fumigação-extração, proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra foram retiradas quatro sub-amostras de 10g de solo, sendo duas submetidas à fumigação e duas processadas sem fumigação. Nas amostras fumigadas, foram adicionados 1,0 mL de clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) diretamente sobre o solo, em frascos de vidro com capacidade para 50 mL, os quais foram imediatamente vedados com plástico PVC, mantidos a temperatura ambiente e no escuro por 24h. Após a fumigação, os frascos de vidro contendo o solo com clorofórmio foram destampados e mantidos na capela de exaustão por um período de 30 minutos para evaporação do clorofórmio. A extração do carbono das amostras de solo fumigadas e não fumigadas (controle), foram feitas da seguinte forma: adicionaram-se 25 mL de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (0,5M) nos frascos de vidro com as amostras de solo, sendo estes agitados por 30 minutos a 220 rpm em agitador orbital, à temperatura ambiente. Após um período de decantação o extrato de solo foi filtrado por gravidade em papel de filtro Whatman N° 4. A quantificação do carbono foi realizada pela transferência de 4 ml do extrato filtrado para frascos de Erlenmeyer, aos quais adicionaram-se 1 mL de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (66mM)), 5 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e 0,5 mL de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). O volume do extrato foi ajustado com o acréscimo de 25 mL de água destilada e transferido para frascos de Erlenmeyer, que foram submetidos à titulação com sulfato ferroso amoniacal ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,033N)), utilizando-se difenilamina 1% como indicador, até a mudança da cor azul para verde. Três amostras em branco foram conduzidas em todas as etapas, seguindo o mesmo procedimento. O C-microbiano do solo (C-mic) foi calculado pela diferença do C-extraído do solo fumigado (C-solo F) e do solo não fumigado (C-solo NF), dividida pelo fator de correção  $K_c=0,33$ :

$$\text{C-mic} = (\text{C-solo F} - \text{C-solo NF}) / 0,33$$

A respiração basal foi determinada pelo  $\text{CO}_2$  evolvido a partir de 20 g de solo, incubados durante 15 dias, extraído com solução de NaOH  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  e titulado com HCl  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , conforme Grisi (1978). O quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ) foi calculado pela razão entre o C-microbiano e a respiração basal, de acordo com Anderson e Domsch (1993). O

quociente microbiano (qMic), foi calculado pela relação C-microbiano/COT, de acordo com Sparling (1992).

### **3.5 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos a diferentes análises de variância (ANOVA), de acordo com a variável dependente e com a montagem do experimento.

Para comparar as quantidades totais de biomassa, N acumulado e N fixado nos coquetéis e na vegetação espontânea, produtividades de frutos de melão e manga e os atributos do solo os dados foram submetidos à ANOVA, considerando que os experimentos foram montados em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, cujas parcelas principais foram compostas por dois sistemas de preparo de solo e as parcelas subdivididas por três sistemas de culturas intercalares, com quatro repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A ANOVA dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ , teores de N total, %Ndda e as quantidades de N total e N fixados nas diferentes espécies dos coquetéis foi realizada considerando os dados de cada coquetel e cada manejo separadamente, considerando um experimento em blocos ao acaso com quatro repetições. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Todos os testes foram realizados utilizando-se o programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Experimento com o melão

O cultivo de coquetéis vegetais resultou em maior produção de biomassa que as plantas espontâneas, apresentando diferença significativa, no 3º cultivo, enquanto que no 4º cultivo, as plantas espontâneas e o coquetel 1 superaram o coquetel 2 quanto à produção de biomassa. Como a produção de biomassa é avaliada no momento do corte, os possíveis efeitos dos manejos referem-se aos manejos adotados nas biomassas das plantas de cobertura nos cultivos anteriores. No 3º cultivo, mais biomassa foi produzida nas parcelas em que havia sido feito o revolvimento do solo nos dois coquetéis e na área onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas. No coquetel 1, sob revolvimento do solo, houve acréscimo de mais de 4300 kg ha<sup>-1</sup> de biomassa, no coquetel 2 esse acréscimo foi de 3000 kg ha<sup>-1</sup> e nas subparcelas onde cresceram as plantas espontâneas o aumento foi de aproximadamente 1400 kg ha<sup>-1</sup>. No 4º cultivo não houve diferenças significativas na produção de biomassa em relação aos manejos adotados (Tabela 3).

Nos coquetéis avaliados, a quantidade de biomassa de gramíneas foi menor que a quantidade de biomassa de leguminosas (Tabela 3). Isso aconteceu mesmo no coquetel 2, em que a proporção de sementes de gramíneas é maior que a de leguminosas, indicando uma menor capacidade de competição. No 3º cultivo, as proporções de leguminosas variaram entre 7637 e 11951 kg ha<sup>-1</sup>, nos manejos sem revolvimento e com revolvimento do solo, respectivamente (coquetel 1), e entre 6051 e 9061 kg ha<sup>-1</sup>, nos manejos sem revolvimento e com revolvimento do solo, respectivamente (coquetel 2), onde o revolvimento do solo aumentou a produção de biomassa. Enquanto que no 4º cultivo, esses valores variaram entre 7301 e 7412 kg ha<sup>-1</sup>, nos manejos sem revolvimento e com revolvimento do solo, respectivamente (coquetel 1), e entre 6485 e 5824 kg ha<sup>-1</sup>, nos manejos sem revolvimento e com revolvimento do solo, respectivamente (coquetel 2), sem diferenças significativas (Tabela 3).

**Tabela 3. Biomassa, N acumulado e N fixado de diferentes coquetéis vegetais cultivados e vegetação espontânea em pré-plantio do melão irrigado, no município de Petrolina, PE (3° e 4° cultivos)**

Tratamentos	Sem revolvimento			Com revolvimento		
	Biomassa (kg ha <sup>-1</sup> )	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )	N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )	Biomassa (kg ha <sup>-1</sup> )	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )	N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>3° cultivo (2014)</b>						
<b>Coquetel 1</b>	7637 bA	171,2 bA	95,6 aA	11950,7 aA	238,2 aA	119,4 aA
Leguminosas	4592 aA	120,38 aA	95,6 aA	4900,7 aA	158,7 aA	119,4 aA
Não leguminosas	3045	50,82	0	7050	79,5 aA	0
<b>Coquetel 2</b>	6050,6 bA	140 bA	81,4 aA	9061,4 aB	191,9 aA	107,4 aA
Leguminosas	3667,8	109,6	81,4	3746,6	123,9	107,4
Não leguminosas	3828,8	30,4	0	5314,8	68	0
<b>Espontâneas</b>	2181,5 bB	25,9 bB	17 aB	3355,3 aC	49 aB	30,7 aB
Leguminosas	620,7	13,5 b	17	1658,8	33,2 a	30,7
Não leguminosas	1560,8	12,4	0	1696,5	15,8	0
CV (%)	21,6	31,2	36,3	14,5	21,7	46,6
<b>4° cultivo (2015)</b>						
<b>Coquetel 1</b>	7301,4 aA	205,1 aA	136,3 aA	7412 aA	153 aA	78,4 bA
Leguminosas	4502,6 $\alpha$	169,4	100,5	4977,5	126,9	78,4
Não leguminosas	2798,8 $\beta$	35,7	35,8	2434,5	26,1	0
<b>Coquetel 2</b>	6485,4 aAB	147,3 aAB	56,51 aB	5824,5aB	125,7 aA	63,6 aA
Leguminosas	3344	114 a	56,51	4041	105 $\alpha$	63,6
Não leguminosas	3141,4	33,3 b	0	1783,5	20 $\beta$	0
<b>Espontâneas</b>	5798,3 aB	125,4 aB	78,5 bB	6558 aAB	160,2 aA	102,1 aA
Leguminosas	2999,1 b	88,9 b	78,5	4315,1 a	129,4 a	102,1
Não leguminosas	2799,2	36,5	0	2242,9	30,8	0
CV (%)	24,6	26,28	30	30,3	28,31	32,5

Letras minúsculas na linha comparam os sistemas de manejo (sem revolvimento e com revolvimento do solo), letras maiúsculas na coluna comparam os tratamentos (coquetéis e vegetação espontânea), letras gregas comparam os grupos de plantas (leguminosas e não leguminosas) e ausência de letras significa que não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entre as leguminosas, a mucuna teve destaque em produção de biomassa nos dois anos de coleta, chegando a atingir aproximadamente 3600 kg ha<sup>-1</sup> de biomassa, na área do coquetel 1 (em que foi semeada uma maior proporção de leguminosas) sem revolvimento do solo. Entre as gramíneas, a maior produção de biomassa foi do milho, atingindo aproximadamente 5600 kg ha<sup>-1</sup> no primeiro ano de coleta na área do coquetel 1 com revolvimento do solo e 2700 kg ha<sup>-1</sup> no segundo ano, na mesma área. Esses resultados diferem dos encontrados por

Torres et al. (2005) em solo do Cerrado, onde o milheto apresentou a maior produção de massa seca e, dentre as leguminosas, a maior produção foi da crotalária.

Na área onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas foram encontradas leguminosas (*Desmanthus pernambucanus* (L.) Thell., *Desmodium tortuosum* (Sw.) DC., *Indigofera hirsuta* L., *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb., *M. martii* (Benth.) Maréchal & Baudet, *Mimosa pudica* L.), gramíneas (*Digitaria bicornis* (Lam.) Roem. & Schult., *Digitaria* sp., *Cenchrus echinatus* L.) e outras famílias, incluindo Asteraceae (*Tridax procumbens* L., *Acanthospermum hispidum* DC.), Comelinaceae (*Commelina difusa* Burm. f.), Convolvulaceae (*Ipomoea mauritiana* Jacq., *I. bahiensis* Willd. ex Roem. & Schult.), Euphorbiaceae (*Euphorbia chamaeclada* Ule) e Malvaceae (*Waltheria rotundifolia* Schrank. *Waltheria* sp.) (Tabela 4).

Os maiores valores N total foram encontrados, em geral, para as leguminosas, com destaque no primeiro ano de coleta (3° cultivo / 2014), para a mucuna (até 3,51%) e o feijão de porco (até 3,33%). Enquanto que no segundo ano de coleta (4° cultivo / 2015), não só a mucuna e o feijão de porco tiveram destaque, como também, o lablab, atingindo valores de 4,73%, 3,89% e 3,29 %, respectivamente. Apesar de pequenas diferenças nas concentrações de N entre as diferentes espécies, o fator que definiu diferenças dos acúmulos de N nos coquetéis foi a proporção de biomassa de leguminosas e gramíneas na biomassa total produzida pelos coquetéis.

Os maiores valores de relação C/N foram encontrados no segundo ano de coleta, atingindo 62,30 para a crotalária e 42,51, para o milho. As leguminosas tenderam a possuir menor relação C/N, com exceção da crotalária. E as gramíneas apresentaram altos valores de relação C/N, como esperado para esse grupo de plantas, o que contribui para uma menor taxa de decomposição e liberação mais lenta de nutrientes no solo (TRIBOUILLOIS et al., 2016).

As gramíneas apresentam potencial para produzir quantidades elevadas de fitomassa, caracterizada por alta relação C/N, aumentando o tempo de permanência da cobertura do solo, enquanto as leguminosas apresentam altos teores de N em seu material vegetal, baixa relação C/N e rápida decomposição, mas com altas incorporações de N para as culturas subsequentes (PERIN et al., 2004).

As gramíneas apresentaram-se enriquecidas com o  $^{13}\text{C}$ , como esperado para essas plantas que adotam um sistema fotossintético C4 (MARTINELLI et al., 2009), variando de -13,0%, no milheto, a -11,1%, no milho, enquanto que nas leguminosas e oleaginosas o sinal foi sempre menor que -27,4%. Estes resultados aumentam a confiabilidade dos dados,

comprovando se a planta é uma gramínea ou leguminosa, depois de processada para análises subsequentes.

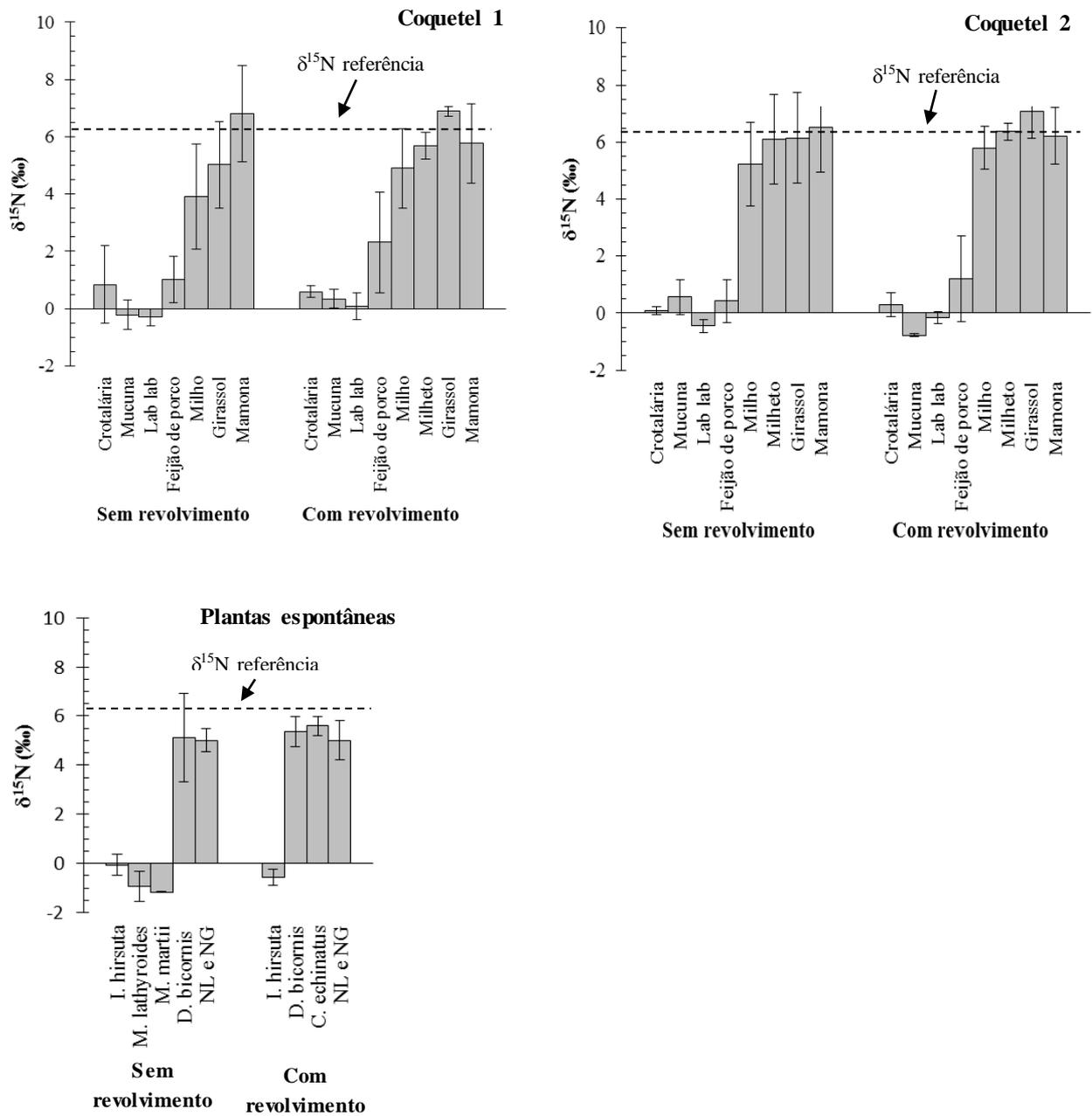
A diferença das médias dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas referência (girassol e mamona) e de todas as leguminosas coletadas foram sempre maiores que 2‰ e diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, o que foi considerado evidência de fixação biológica de N (Figura 3). Os menores sinais de  $^{15}\text{N}$  foram encontrados no lablab, na mucuna e na crotalária, no 3º cultivo, com o lablab apresentando os menores valores do grupo. Consequentemente essas espécies apresentaram os maiores de valores de %N<sub>dda</sub>, chegando a 91,4%, para o lablab, 87,7%, para a mucuna e 84,3%, para a crotalária.

No 4º cultivo, as leguminosas continuaram fixando N, mas no coquetel 1, sem revolvimento do solo, as gramíneas (milho e milheto) e a crotalária apresentaram os menores valores de  $^{15}\text{N}$  e, portanto, maiores fixações de N que as demais espécies de leguminosas. O valor de %N<sub>dda</sub> do milho chegou a 100% e do milheto a 93,6%, sendo do conhecimento que alguns genótipos de gramíneas têm apresentado contribuições significativas do processo de FBN (BODDEY et al., 1995; DÖBEREINER, 1997; COELHO et al., 2003; SHRESTA & MASKEY, 2005; SANTI et al., 2013). Entre as leguminosas, a crotalária atingiu o maior valor chegando a 93,9%.

Houve diferença significativa nos valores de N acumulado em relação ao manejo, para os dois coquetéis adotados e para a área das plantas espontâneas, apresentando maiores valores de N acumulado as parcelas sob revolvimento do solo, no 3º cultivo (Tabela 3). A mucuna foi a espécie que apresentou maiores contribuições de N acumulado e N fixado (Figuras 5 e 6), dentro de cada coquetel, fato que está relacionado não somente a seus baixos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$ , como também a sua relevante produção de biomassa.

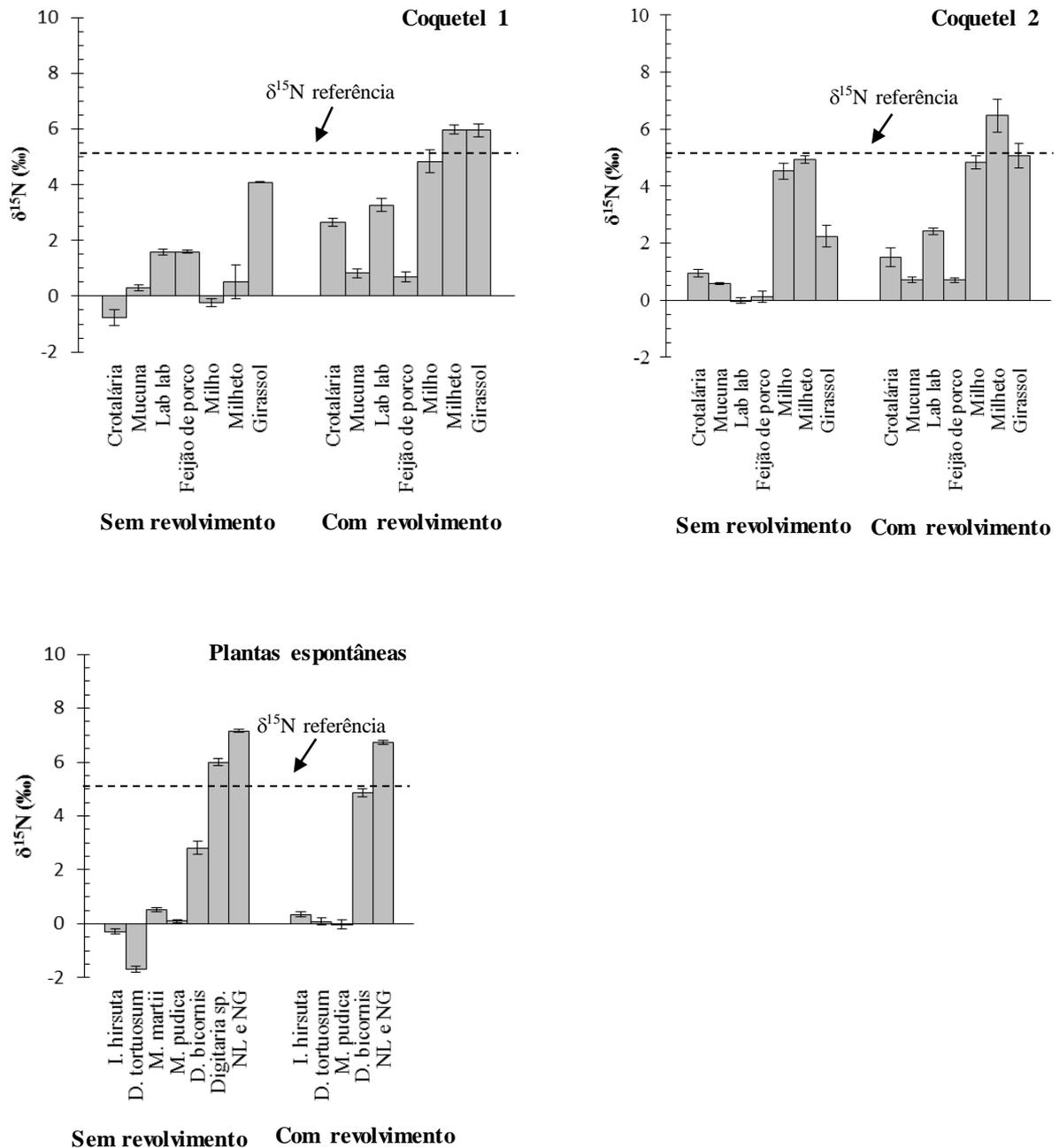
No 4º cultivo, esses valores de N acumulado não diferiram quanto ao manejo (Tabela 3), mas houve diferenças entre o coquetel 1 e as plantas espontâneas, sem revolvimento solo, chegando a 205 kg ha<sup>-1</sup>, para o coquetel 1 e 125 kg ha<sup>-1</sup>, para as plantas espontâneas (Tabela 4).

**Figura 3. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}\%$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em pré-plantio do melão irrigado, no município de Petrolina, PE (3º cultivo/2014).**



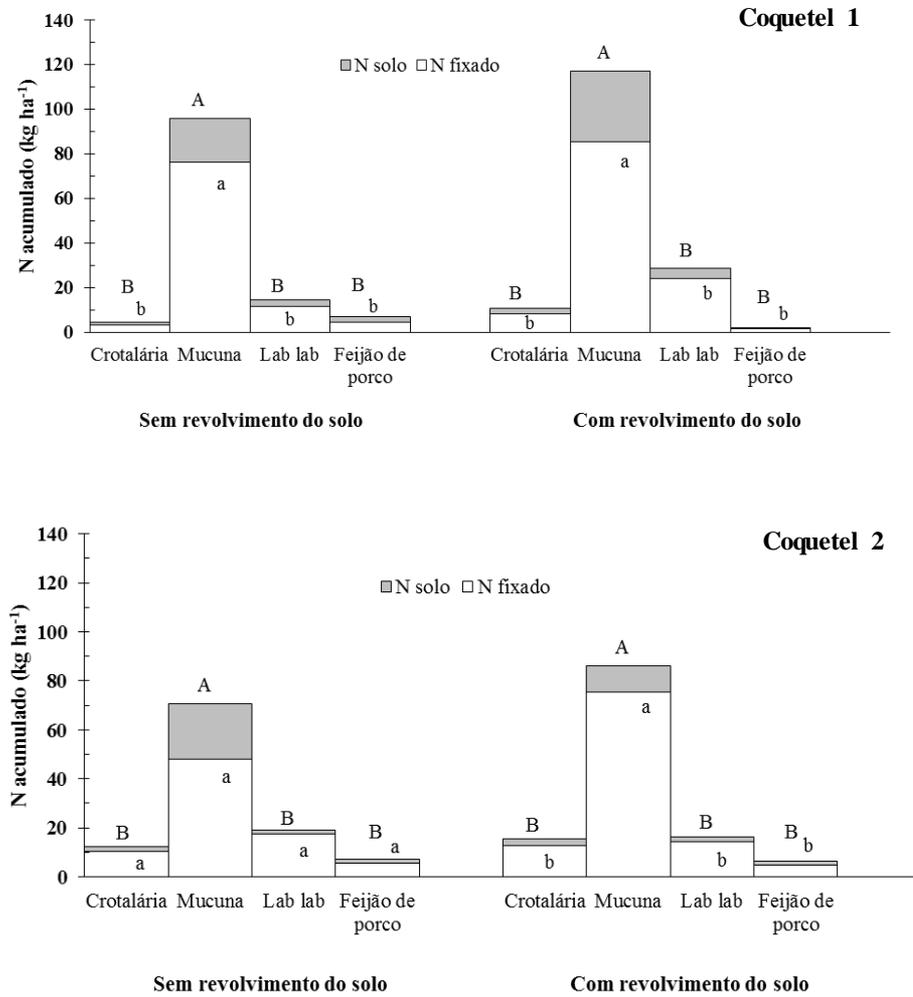
$\delta^{15}\text{N}$  referência: média dos valores dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas adotadas como referência (girassol, mamona e espontâneas não leguminosas e não gramíneas). NL: Não leguminosas e NG: Não gramíneas.

**Figura 4. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}\%$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em pré-plantio do melão irrigado, no município de Petrolina, PE (4<sup>o</sup> cultivo/2015).**



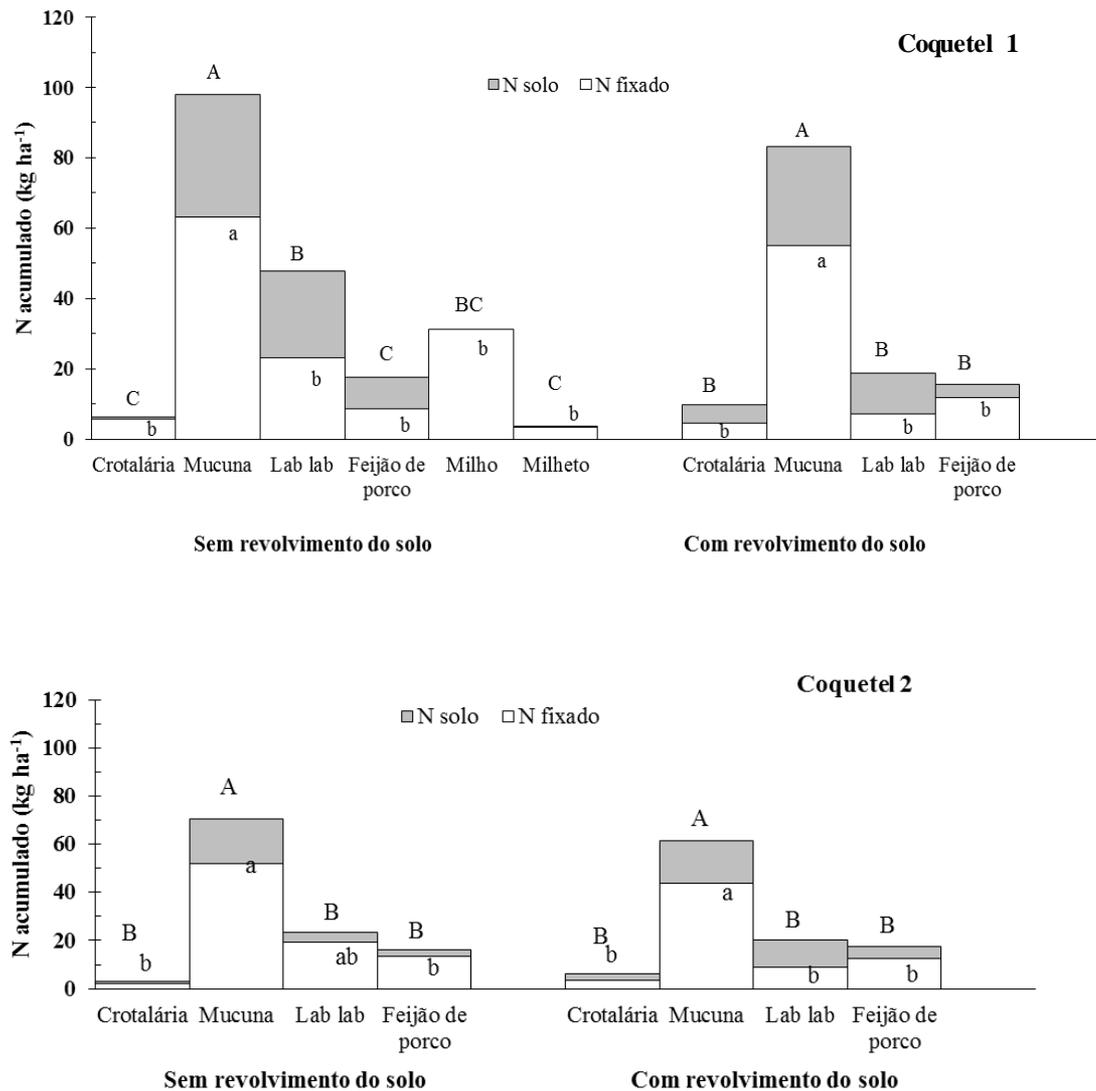
$\delta^{15}\text{N}$  referência: média dos valores dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas adotadas como referência (girassol e espontâneas não leguminosas e não gramíneas). NL: Não leguminosas e NG: Não gramíneas.

**Figura 5. N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em kg ha<sup>-1</sup>) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em pré-plantio do melão irrigado, no município de Petrolina, PE (3º cultivo/2014).**



Letras minúsculas comparam N fixado entre as espécies dentro de cada manejo adotado (sem revolvimento do solo e com revolvimento do solo) e letras maiúsculas comparam N acumulado entre as espécies dentro de cada manejo adotado.

**Figura 6. N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em  $\text{kg ha}^{-1}$ ) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em pré-plantio do melão irrigado, no município de Petrolina, PE (4º cultivo/2015).**



Letras minúsculas comparam N fixado entre as espécies de dentro de cada manejo adotado (sem revolvimento do solo e com revolvimento do solo) e letras maiúsculas comparam N acumulado entre as espécies dentro de cada manejo.

**Tabela 4. N fixado (kg ha<sup>-1</sup>) de plantas espontâneas em pré-plantio do melão irrigado, no município Petrolina, PE (3° e 4° cultivos).**

Vegetação espontânea	3° Cultivo		4° Cultivo	
	N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )			
	Sem revolvimento	Com revolvimento	Sem revolvimento	Com revolvimento
<i>Indigofera hirsuta</i> (L)	2,97	13,97	13,57	58,69
<i>Desmanthus pernambucanus</i> (L)	-	-	9,09	-
<i>Desmodium tortuosum</i> (L)	-	16,70 <sup>1</sup>	14,82	28,17
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L)	9,27	0	16,71	0,37 <sup>1</sup>
<i>M. martii</i> (L)	3,85	0	10,88	-
<i>Mimosa pudica</i> (L)	0,95 <sup>1</sup>	0	13,39	15,25
<i>Digitaria bicornis</i> (G)	0	0	9,96	0
<i>Digitaria</i> sp. (G)	-	-	0	-
<i>Cenchrus echinatus</i> (G)	-	0	-	0,91 <sup>1</sup>
Espécies de outras famílias	0	0	0	0
Totais	12,65	31,84	88,42	103,39
CV (%)	198,57	274,42	119,63	212,44

Não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. -: Não apareceram na amostragem; <sup>1</sup>: Presente apenas uma vez nas amostragens; L: leguminosas e G: gramíneas.

A mucuna foi a leguminosa que apresentou as maiores quantidades de N acumulado e N fixado, chegando a atingir na primeira coleta 117 kg ha<sup>-1</sup> de N acumulado, no coquetel 1 com revolvimento (Figura 5), e 98 kg ha<sup>-1</sup>, no coquetel 1 sem revolvimento do solo, na segunda coleta (Figura 6). Com 85 kg ha<sup>-1</sup> e 63 kg ha<sup>-1</sup> de N derivados da FBN, na primeira e segunda coletas, respectivamente. Estes valores de N acumulado e FBN são maiores que os encontrados por Ramos et al. (2001), que encontraram 73 kg ha<sup>-1</sup> de N, sendo 60 kg ha<sup>-1</sup> fixado da atmosfera.

Apesar de estar presentes entre as plantas espontâneas espécies que fixam N (Tabela 4), os coquetéis vegetais apresentaram os maiores valores de N fixado, no 3° cultivo. Enquanto que no 4° cultivo, apenas no manejo sem revolvimento do solo, o coquetel 1 apresentou maior fixação de N.

Não foi possível fazer a estimativa de transferência de N fixado das leguminosas para o melão, pois nas subparcelas onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas que seriam utilizadas como testemunha, também foram encontradas leguminosas espontâneas que apresentaram fixação biológica de N. Sendo assim, não houve planta testemunha de melão (melão cultivado em área sem fixação biológica de N) para ser utilizada nos cálculos de transferência de N.

No 3º cultivo, o melão produziu, em média, 24375 frutos ha<sup>-1</sup>, correspondendo a 44494 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 5). No 4º cultivo, a produção de frutos foi significativamente maior no manejo sem revolvimento do solo (23125 frutos ha<sup>-1</sup>) que com revolvimento (19812,5 frutos ha<sup>-1</sup>) e nele foi verificada maior produtividade no coquetel 2 (40731,25 kg ha<sup>-1</sup>) que da vegetação espontânea (31912,5 kg ha<sup>-1</sup>). As produtividades nos dois anos de cultivo foram superiores às encontradas por Faria et al. (2009) em cultivo de melão precedido da utilização de adubos verdes, no qual a produtividade variou de 9760 a 23000 kg ha<sup>-1</sup>.

**Tabela 5. Quantidade (frutos ha<sup>-1</sup>) e produtividade (kg ha<sup>-1</sup>) de frutos de melão após cultivo de coquetéis vegetais (3º cultivo/2014).**

<b>Cultivo de cobertura</b>	<b>Sem revolvimento</b>	<b>Com revolvimento</b>
3º cultivo		
Quantidade (frutos ha <sup>-1</sup> )		
Coquetel 1	26125 aA	26000 aA
Coquetel 2	22625 aA	23500 aA
Vegetação espontânea	22875 aA	25125 aA
CV(%)	14,31	15,42
Produtividade dos frutos (kg ha <sup>-1</sup> )		
Coquetel 1	49862 aA	51512 aA
Coquetel 2	46162 aA	50762 aA
Vegetação espontânea	37462 aA	49200 aA
CV(%)	17,26	35,36

Letras minúsculas na linha comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) e letras maiúsculas na coluna comparam culturas de cobertura pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 6. Quantidade (frutos ha<sup>-1</sup>) e produtividade (kg ha<sup>-1</sup>) de frutos de melão após cultivo de coquetéis vegetais (4<sup>o</sup> cultivo/2015).**

Cultivo de cobertura	Sem revolvimento	Com revolvimento
	Quantidade (frutos ha <sup>-1</sup> )	
Coquetel 1	23125 aA	20500 bA
Coquetel 2	23500 aA	21937 bA
Vegetação espontânea	22375 aA	19812 bA
CV(%)	12,02	6,13
	Produtividade dos frutos (kg ha <sup>-1</sup> )	
Coquetel 1	40112 aAB	28944 aA
Coquetel 2	40731 aA	31569 aA
Vegetação espontânea	31912 aB	33306 aA
CV(%)	13,15	19,37

Letras minúsculas na linha comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) e letras maiúsculas na coluna comparam culturas de cobertura pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.1.1 Indicadores biológicos do solo

Os valores de C da biomassa microbiana do solo (CBMS), na camada de 0-5cm de profundidade do solo, no primeiro período de coleta, que correspondeu ao período antes do corte do coquetel vegetal do 4º cultivo, foram maiores no manejo sem revolvimento do solo que com revolvimento. Os valores variaram de 158,7 e 160,4 mg kg<sup>-1</sup>, para o coquetel 2 e coquetel 1, respectivamente, no manejo sem revolvimento do solo e de 115,7 e 134,3 mg kg<sup>-1</sup>, para o coquetel 1 e coquetel 2, respectivamente, no manejo com revolvimento do solo (Tabela 7). Nas condições do semiárido pernambucano, no município de Floresta, Martins et al. (2010) encontraram valores aproximados aos encontrados no presente estudo.

Diferenças na biomassa microbiana do solo já haviam sido descritas por Follet & Schimel (1989) em experimento conduzido por 16 anos a oeste de Nebraska, EUA, onde os valores de CBMS foram de 547 mg kg<sup>-1</sup> e 864 mg kg<sup>-1</sup>, para parcelas de plantio convencional e plantio direto, respectivamente.

No manejo com revolvimento do solo, tanto na camada de 0-5cm quanto na de 5-10cm de profundidade, também foram encontrados maiores valores de CBMS nos dois coquetéis que com o crescimento de plantas espontâneas e, na camada de 5-10cm os coquetéis também superaram as plantas espontâneas quando não houve revolvimento do solo (Tabela 7). Sun et al. (2011) verificaram que a quantidade de biomassa microbiana do solo (na camada de 0-5 cm de profundidade) foi maior no tratamento sob plantio direto do que em cultivo convencional.

Na camada de 5-10 cm de profundidade do solo, os valores de qCO<sub>2</sub> foram menores nas parcelas sem revolvimento do solo, indicando que menos C do solo está sendo perdido e a biomassa microbiana está atuando de forma mais eficiente, menos BMS está catabolicamente ativa e o restante dos micro-organismos do solo está inativo ou latente. Solos com menores valores de qCO<sub>2</sub> estariam mais próximos do estado de equilíbrio (MAC DONALD, 1986) e maiores valores de qCO<sub>2</sub> indicam maior consumo de COT e menor eficiência na utilização do C pela biomassa microbiana (FANG et al., 2014).

O solo da segunda coleta, que correspondeu ao período após o corte dos coquetéis vegetais do 4º cultivo, apresentou valores maiores de liberação de C-CO<sub>2</sub>, nas parcelas sem revolvimento do solo, na camada de 0-5 cm de profundidade (Tabela 8), indicando maior atividade da biomassa microbiana do solo. Nesta mesma época, na camada de 5-10 cm, sob os dois manejos, os coquetéis proporcionaram mais CBMS.

**Tabela 7. Indicadores biológicos do solo durante o corte dos coquetéis vegetais do 4º cultivo na área do melão.**

Elementos analisados	Tratamentos		
	Coquetel 1	Coquetel 2	Plantas espontâneas
0-5 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	160,44 aA	158,70 aA	150,65 aA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	15,69 aA	12,25 aA	8,12 aA
qCO <sub>2</sub>	10,69 bA	26,81 aA	22,68 aA
Qmic x100(%)	3,5 aA	5,1 aA	3,5 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	115,70aB	134,34 aB	71,15bB
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	10,74 aA	14,48 aA	12,83 aA
qCO <sub>2</sub>	12,10 aA	9,44 bA	5,94 bA
Qmic x100(%)	3,0 aA	3,8 aA	2,2 aA
5-10 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	123,59 aA	112,98 aA	64,04 bA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	14,97 aA	13,16 aA	9,01 bA
qCO <sub>2</sub>	8,34 aB	8,49 aB	8,51 aB
Qmic x100(%)	4,3 aA	3,4 aA	2,3 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	144,67 aA	121,63 aA	63,14 bA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	8,48 aA	8,98 aA	7,97 aA
qCO <sub>2</sub>	17,76 aA	13,66 aA	8,82 bB
Qmic x100(%)	5,2 aA	3,9 aA	2,5 aA

Letras minúsculas na linha comparam os tratamentos e maiúscula na coluna comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coquetel 1: 75% de leguminosas + 25% de gramíneas / oleaginosas; Coquetel 2: 75% de gramíneas / oleaginosas + 25% de leguminosas; Plantas espontâneas: corresponde ao tratamento com crescimento de vegetação espontânea.

**Tabela 8. Indicadores biológicos do solo durante o período de frutificação do melão após o corte do 4º cultivo de coquetéis vegetais.**

Elementos analisados	Tratamentos		
	Coquetel 1	Coquetel 2	Plantas espontâneas
	0-5 cm de profundidade		
	Manejo sem revolvimento do solo		
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	229,43 aA	219,95 aA	210,21 aA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	20,83 aA	17,86 aA	15,51 aA
qCO <sub>2</sub>	11,06 aA	12,39 aA	13,43 aA
Qmic x100(%)	3,0 aA	3,0 aA	4,0 aA
	Manejo com revolvimento do solo		
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	225,28 aA	190,25 aA	176,6 aA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	16,15 aB	14,21 aB	13,55 aB
qCO <sub>2</sub>	14,16 aA	15,19 aA	13,62 aA
Qmic x100(%)	8,0 aA	5,1 aA	7,9 aA
	5-10 cm de profundidade		
	Manejo sem revolvimento do solo		
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	191,69 aA	205,61 aA	115,77 bA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	17,98 aA	14,47 aA	14,09 aA
qCO <sub>2</sub>	12,58 aA	14,42 aA	8,51 aA
Qmic x100(%)	6,0 aA	5,0 aA	4,0 aA
	Manejo com revolvimento do solo		
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	206,66 aA	187,68 aA	105,00 bA
C-CO <sub>2</sub> mg kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	14,58 aA	17,28 aA	13,77 aA
qCO <sub>2</sub>	14,18 aA	10,87 aA	7,87 aA
Qmic x100(%)	7,0 aA	5,0 aA	4,0 aA

Letras minúsculas na linha comparam os tratamentos e maiúscula na coluna comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coquetel 1: 75% de leguminosas + 25% de gramíneas / oleaginosas; Coquetel 2: 75% de gramíneas / oleaginosas + 25% de leguminosas; Plantas espontâneas: corresponde ao tratamento com crescimento de vegetação espontânea.

## 4.2 Experimento com manga

Nos dois ciclos de cultivo, o coquetel 1, com predomínio de sementes de leguminosas, produziu mais biomassa que as plantas espontâneas, exceto para o manejo sem revolvimento do 6º cultivo, que não diferiu estatisticamente. Houve aumento na produção de biomassa no coquetel 1 de mais de 6500 kg ha<sup>-1</sup> em relação às plantas espontâneas no 6º cultivo dos coquetéis e aumento de pouco mais de 5000 kg ha<sup>-1</sup> no coquetel 1 sem revolvimento do solo e aproximadamente 3800 kg ha<sup>-1</sup> no manejo com revolvimento do solo para o 7º cultivo (Tabela 9). Pode-se constatar que o coquetel 1 foi o que proporcionou maior produção de biomassa como um todo, sendo o milho e a mucuna as espécies que mais se destacaram em ambos os cultivos.

Na área onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas foram encontradas leguminosas (*Desmodium tortuosum* (Sw.) DC., *Indigofera hirsuta* L., *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb., *M. martii* (Benth.) Maréchal & Baudet, *Mimosa pudica* L.), gramíneas (*Digitaria bicornis* (Lam.) Roem. & Schult., *Digitaria* sp.) e outras famílias botânicas, incluindo Amaranthaceae (*Amaranthus viridis* L.) (Asteraceae (*Tridax procumbens* L., *Acanthospermum hispidum* DC.), Comelinaceae (*Commelina difusa* Burm. f.), Convolvulaceae (*Ipomoea bahiensis* Willd. ex Roem. & Schult., *I. mauritiana* Jacq.), Euphorbiaceae (*Euphorbia chamaeclada* Ule) e Malvaceae (*Waltheria rotundifolia* Schrank. e *Waltheria* sp.). Entre as espontâneas, as leguminosas *I. hirsuta* e *D. tortuosum* e as gramíneas *D. bicornis* e *Digitaria* sp. destacaram-se na produção de biomassa.

Durante o 6º cultivo dos coquetéis vegetais, as maiores concentrações de N total foram encontradas nas leguminosas lab lab e feijão de porco e na oleaginosa mamona, chegando a 5,36% para a mamona no coquetel 1 sem revolvimento do solo. Os menores valores foram encontrados nas gramíneas, com concentrações variando entre 1,02% (milho) e 1,46% (milheto).

Os maiores valores de relação C/N foram encontrados no milho, atingindo 43,18. Os menores valores foram encontrados nas leguminosas e oleaginosas, devido aos maiores teores de N nestes grupos de plantas.

**Tabela 9. Biomassa, N acumulado e N fixado de diferentes coquetéis vegetais cultivados e vegetação espontânea em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (3º cultivo e 4º cultivo)**

Tratamentos	Sem revolvimento			Com revolvimento		
	Biomassa (kg ha <sup>-1</sup> )	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )	N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )	Biomassa (kg ha <sup>-1</sup> )	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )	N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>6º cultivo (2015)</b>						
<b>Coquetel 1</b>	10017,7 aA	287,2 aA	105,5 aA	10735,9 aA	282,8 aA	95,5 aA
Leguminosas	4492,6	141,19	105,5	5802	150,1	95,5
Não leguminosas	5525,1	145,3	0	4933,9	137,7	0
<b>Coquetel 2</b>	9320,5 aA	196,7 aAB	78,2 aB	9056,1 aAB	152,4 aAB	61,5 aA
Leguminosas	2774 b	85,9	78,2	3450	74	61,5
Não leguminosas	6546,5 a	110,8	0	5606	78,4	0
<b>Espontâneas</b>	4219,5 aA	72,8 aB	41,5 aB	4184,1 aB	76,4 aB	48,4 aA
Leguminosas	1716,5	46,8	41,5	2744,6	63,2	48,4
Não leguminosas	2503	26	0	1439,5	13,2	0
CV (%)	40,8	56,4	29,3	22,0	32,0	30,6
<b>7º cultivo (2016)</b>						
<b>Coquetel 1</b>	9668,8 aA	-	-	6901,5 aA	-	-
Leguminosas	5509,8	-	-	3578	-	-
Não leguminosas	4159	-	-	3323,5	-	-
<b>Coquetel 2</b>	7570,9 aA	-	-	5126 aAB	-	-
Leguminosas	3787,3	-	-	2631,1	-	-
Não leguminosas	3783,6	-	-	2494,9	-	-
<b>Espontâneas</b>	4610,6 aB	-	-	3117,8 aB	-	-
Leguminosas	976,7	-	-	2195,6	-	-
Não leguminosas	3633,9	-	-	922,2	-	-
CV (%)	22,8			29,0		

Letras minúsculas na linha comparam os sistemas de manejo (sem revolvimento e com revolvimento do solo), letras maiúsculas na coluna comparam os tratamentos (coquetéis e vegetação espontânea) pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (-): parâmetro em análise.

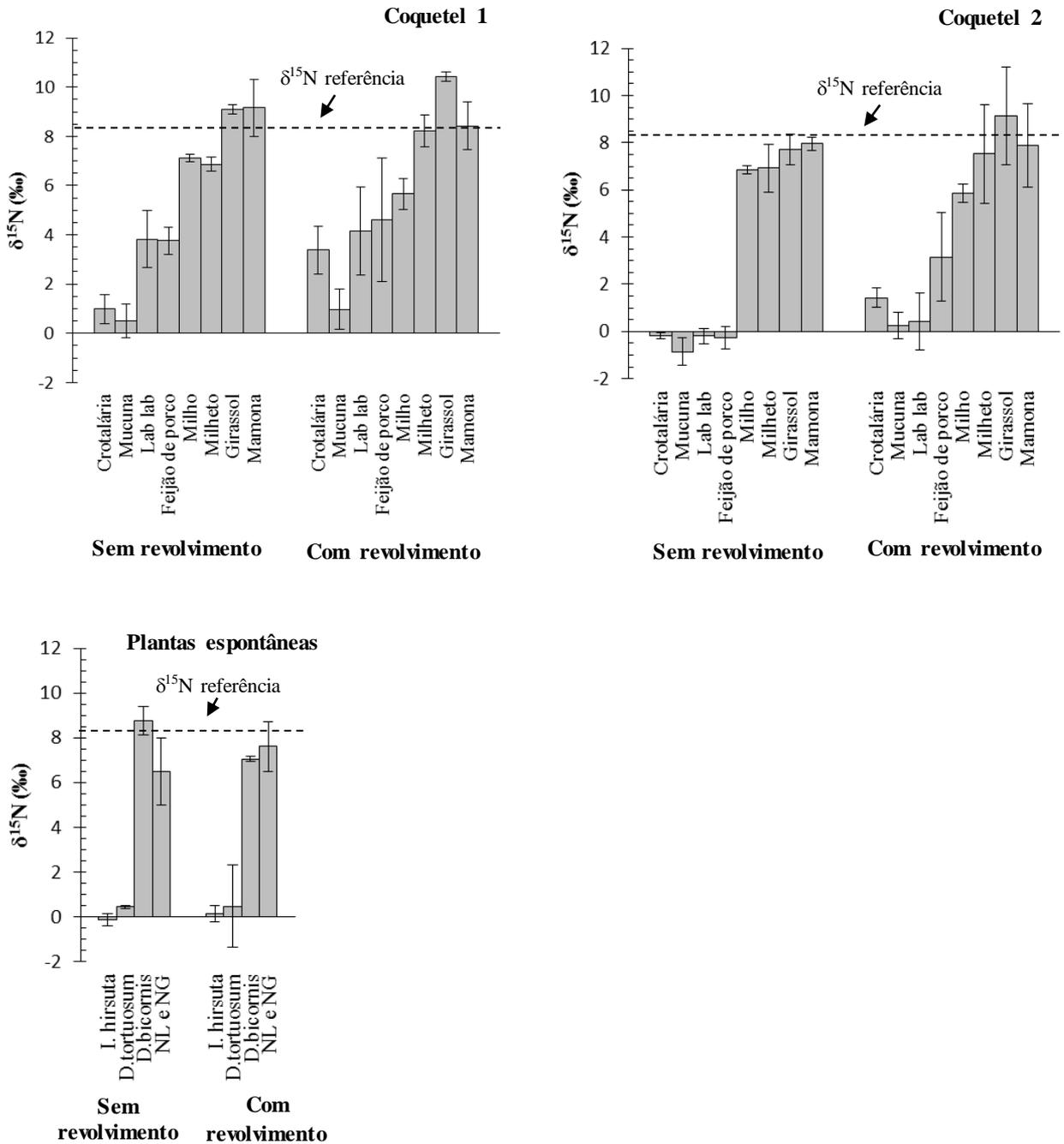
As gramíneas apresentaram-se enriquecidas em  $\delta^{13}\text{C}$ , com valores oscilando entre -11,1‰ (milho) e -11,9‰ (milheto), e por possuírem o ciclo fotossintético do tipo C4, que por discriminarem menos o  $^{13}\text{C}$ , são mais enriquecidas com ele, e os valores situam-se entre -6 e -19‰ (Smith & Epstein, 1971).

Nas análises dos coquetéis vegetais do 6º cultivo, a diferença das médias dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas referência (girassol e mamona) e todas as leguminosas foram sempre superiores a 2‰, indicando fixação de N.

Os menores sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  foram encontrados na mucuna (-0,87‰) e feijão de porco (-0,26‰) (Figura 7), conseqüentemente são espécies que apresentam altos teores de N<sub>dda</sub>, chegando a 91,6% para mucuna e 90,2% para o feijão de porco.

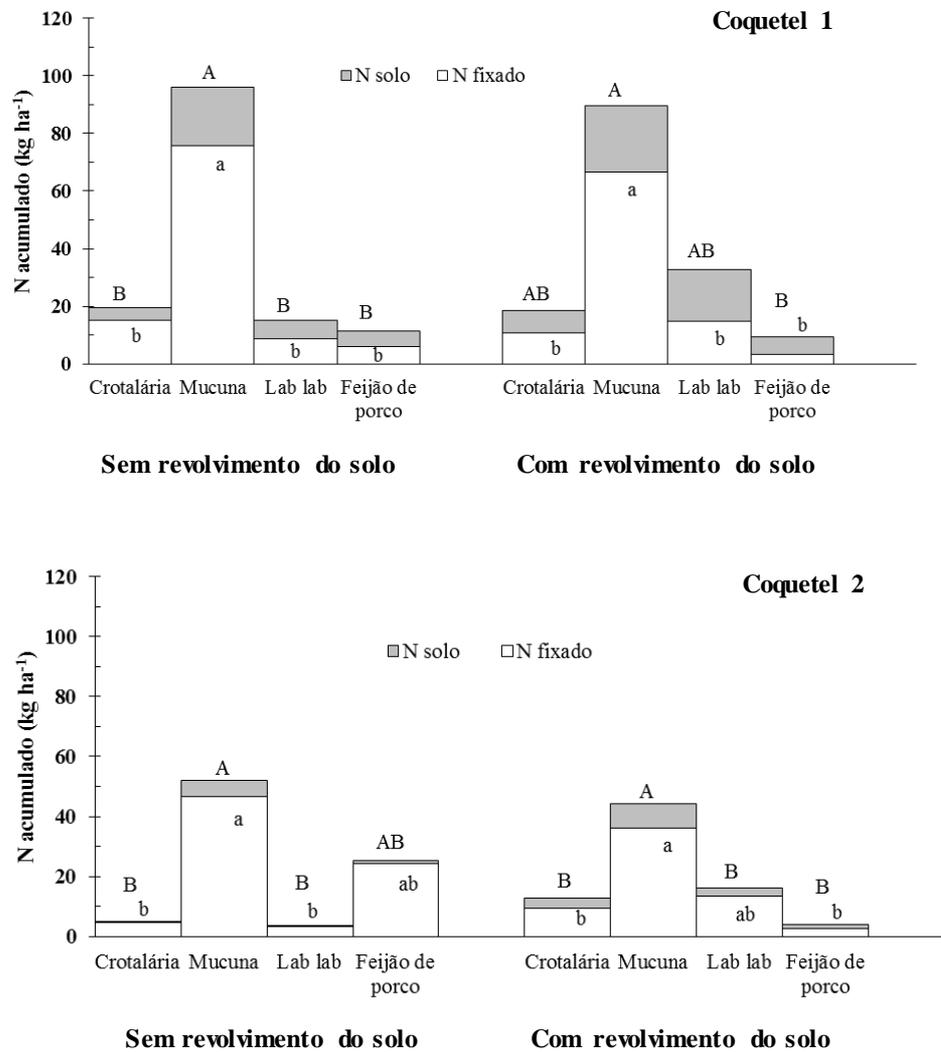
A maior contribuição em N fixado ocorreu na mucuna, pois além de apresentar alto valor de N<sub>dda</sub>, também apresentou alta produção de biomassa, atingindo 75,7 kg ha<sup>-1</sup> (Figura 8). Entre as plantas espontâneas todas as leguminosas apresentaram fixação de N (Tabela 10).

**Figura 7. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}\text{‰}$ ) das espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados e plantas espontâneas em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6<sup>o</sup> cultivo/2015).**



$\delta^{15}\text{N}$  referência: média dos valores dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas adotadas como referência (girassol, mamona e espontâneas não leguminosas e não gramíneas). NL: Não leguminosas e NG: Não gramíneas.

**Figura 8. N acumulado (N fixado + N proveniente do solo em kg ha<sup>-1</sup>) de diferentes espécies de coquetéis vegetais em área de cultivo de manga, no município de Petrolina, PE (6º cultivo/2015).**



Letras minúsculas comparam N fixado entre as espécies dentro de cada manejo adotado (sem revolvimento do solo e com revolvimento do solo) e letras maiúsculas comparam N acumulado entre as espécies dentro de cada manejo.

**Tabela 10. N fixado (kg ha<sup>-1</sup>) de plantas espontâneas em área de cultivo de manga, no município Petrolina, PE (6° cultivo/2015).**

Vegetação espontânea	6° Cultivo			
	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )		N fixado (kg ha <sup>-1</sup> )	
	Sem revolvimento	Com revolvimento	Sem revolvimento	Com revolvimento
<i>Indigofera hirsuta</i> (L)	42,29	33,24	37,77	27,88
<i>Desmodium tortuosum</i> (L)	3,39	29,97	2,70	20,53
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L)	1,10 <sup>1</sup>	-	1,03 <sup>1</sup>	-
<i>Digitaria bicornis</i> (G)	10,89	6,75	0	0
<i>D.aegyptium</i> (G)	0,56 <sup>1</sup>	0,62 <sup>1</sup>	0	0
Espécies de outras famílias	14,58	5,83	0	0
Totais	72,81	76,41	41,50	48,41
CV (%)	202,27	200,60	187,72	144,68

Não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. -: Não apareceram na amostragem; <sup>1</sup>: Presente apenas uma vez nas amostragens; L: leguminosas e G: gramíneas.

Não foi possível fazer a estimativa de transferência de N fixado das leguminosas para a manga, pois nas subparcelas que corresponderam ao tratamento controle, também, foram encontradas leguminosas espontâneas que apresentaram fixação biológica de N. Sendo assim, não houve planta testemunha de manga para ser utilizada nos cálculos de transferência de N.

A área do coquetel 1, sem revolvimento do solo, apresentou maior produção de frutos quando comparado com a subparcela onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas atingindo 18653 frutos ha<sup>-1</sup>. A produtividade também foi maior nas subparcelas do coquetel 1, variando entre 11091 e 14385 kg ha<sup>-1</sup>, no manejo sem revolvimento e com revolvimento do solo, respectivamente (Tabela 11). Entretanto, não houve diferenças significativas entre os manejos adotados, enquanto Silva et al. (2013) encontraram uma produtividade de 13840 kg ha<sup>-1</sup> em sistema de cultivo orgânico no Vale do São Francisco.

**Tabela 11. Quantidade (frutos ha<sup>-1</sup>) e produtividade de frutos (kg ha<sup>-1</sup>) de manga após cultivo de coquetéis vegetais (6° cultivo/2015).**

Cultivo de cobertura	Sem revolvimento	Com revolvimento
	Quantidade (frutos ha <sup>-1</sup> )	
Coquetel 1	18652,78 A	24520,83 A
Coquetel 2	14048,61 AB	17472,22 A
Vegetação espontânea	9416,67 B	16826,39 A
CV(%)	26,89	39,82
	Produtividade dos frutos (kg ha <sup>-1</sup> )	
Coquetel 1	11091,11 A	14385,42 A
Coquetel 2	9009,72 AB	10077,08 AB
Vegetação espontânea	5396,53 B	8717,36 B
CV(%)	24,63	39,45

Letras maiúsculas na coluna comparam culturas de cobertura pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.2.1 Indicadores biológicos do solo

Entre os indicadores biológicos do solo, o CBMS foi o único que apresentou diferença significativa entre as subparcelas dos coquetéis e plantas espontâneas, na parcela com revolvimento do solo, na camada de 5-10 cm de profundidade, no período anterior ao corte dos coquetéis do 6º cultivo, sendo de 71,8 mg kg<sup>-1</sup>, no tratamento com plantas espontâneas e 135,1 mg kg<sup>-1</sup>, no tratamento com coquetel 2 (Tabela 12), isto difere do que é encontrado na literatura, que, em geral, mostra maior biomassa microbiana em solos sem revolvimento (SUN et al., 2011).

No segundo período de coleta, após o corte e deposição ou incorporação dos coquetéis do mesmo cultivo, houve diferença em relação ao manejo adotado quanto a liberação de C na forma de CO<sub>2</sub>, em 15 dias de incubação, com mais CO<sub>2</sub> evolvido na parcela sem revolvimento, na camada de 0-5 cm de profundidade, sendo de 17,9 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> solo dia<sup>-1</sup> e 20,8 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> solo dia<sup>-1</sup> nas parcelas sem revolvimento e variando de 14,21 a 16,15 nas parcelas com revolvimento do solo, para os coquetéis 2 e 1, respectivamente (Tabela 13), onde foi cultivado o coquetel 1 (maior proporção de leguminosas) houve maior atividade de biomassa microbiana.

Alterações nas quantidades de biomassa microbiana do solo têm sido observadas em razão das práticas de preparo do solo, manejo de plantas e da adubação adotados (FANG et al., 2014; KABIRI et al., 2016).

O Qmic variou de 2,1% a 3,2% na camada de 0-5 cm e de 1,9% a 5% na camada de 5-10 cm do solo no período antes do corte dos coquetéis e essa variação foi de 2,8% a 4,5% na camada de 0-5 cm e de 3,4% a 5,9% na camada de 5-10 cm do solo no período de frutificação da manga (Tabelas 12 e 13). Segundo Anderson & Domsch (1989), essa variável abrange um espectro que vai de 0,27% a 7,0% e esta ampla variação é devida às diferenças de tipo e manejo do solo, das épocas de amostragem e, até mesmo, dos métodos analíticos utilizados. O Qmic é considerado um bom indicador das alterações dos processos do solo (SPARLING, 1992; KARA & BAYKARA, 2014; KABIRI et al., 2016). Solos com valores maiores poderiam estar tendo acúmulo de C do solo, enquanto valores menores podem indicar perda de C. Jenkinson & Ladd (1981) apontam 2,2% como sendo o nível no qual estaria ocorrendo equilíbrio em parcelas cultivadas. Mostrando-se um bom indicador sobre as transformações da matéria orgânica em função do manejo adotado.

**Tabela 12. Indicadores biológicos do solo durante o corte dos coquetéis vegetais do 6° cultivo na área da manga.**

Elementos analisados	Tratamentos		
	Coquetel 1	Coquetel 2	Plantas espontâneas
0-5 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	160,55 aA	157,11 aA	151,56 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	21,32 aA	25,04 aA	19,38 aA
qCO <sub>2</sub>	8,34 aA	6,57 aA	10,17 aA
Qmic x100(%)	3,2 aA	2,7 aA	2,8 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	115,82 aA	135,15 aA	71,82 bA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	19,44 aA	16,82 aA	11,35 aA
qCO <sub>2</sub>	7,06 aA	13,30 aA	21,69 aA
Qmic x100(%)	2,6 aA	2,4 aA	2,1 aA
5-10 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	122,28 aA	144,32 aA	62,74 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	19,33 aA	16,19 aA	18,97 aA
qCO <sub>2</sub>	6,63 aA	9,31 aA	3,53 aA
Qmic x100(%)	5,0 aA	4,0 aA	2,0 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	113,03 aA	120,55 aA	63,56 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	25,16 aA	18,69 aA	20,00 aA
qCO <sub>2</sub>	6,61 aA	7,15 aA	4,94 aA
Qmic x100(%)	4,8 aA	4,2 aA	1,9 aA

Letras minúsculas na linha comparam os tratamentos e maiúscula na coluna comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coquetel 1: 75% de leguminosas + 25% de gramíneas / oleaginosas; Coquetel 2: 75% de gramíneas / oleaginosas + 25% de leguminosas; Plantas espontâneas: corresponde ao tratamento com crescimento de vegetação espontânea.

**Tabela 13. Indicadores biológicos do solo durante o período de frutificação da manga após o corte do 6º cultivo de coquetéis vegetais.**

Elementos analisados	Tratamentos		
	Coquetel 1	Coquetel 2	Plantas espontâneas
0-5 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	161,05 aA	140,63 aA	240,35 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	20,83 aA	17,86 aA	15,51 aA
qCO <sub>2</sub>	7,75 aA	8,71 aA	15,41 aA
Qmic x100(%)	3,0 aA	2,0 aA	4,2 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	128,41 aA	146,86 aA	187,62 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	16,15 aB	14,21 aB	13,55 aB
qCO <sub>2</sub>	8,14 aA	11,58 aA	15,31 aA
Qmic x100(%)	2,8 aA	3,1 aA	4,5 aA
5-10 cm de profundidade			
Manejo sem revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	118,18 aA	120,10 aA	141,92 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	17,98 aA	14,47 aA	14,10 aA
qCO <sub>2</sub>	10,26 aA	8,67 aA	10,25 aA
Qmic x100(%)	3,5 aA	3,4 aA	5,0 aA
Manejo com revolvimento do solo			
C-BMS mg kg <sup>-1</sup>	132,54 aA	150,84 aA	168,10 aA
C-CO <sub>2</sub> mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>	14,59 aA	17,28 aA	13,77 aA
qCO <sub>2</sub>	9,00 aA	8,65 aA	12,84 aA
Qmic x100(%)	4,0 aA	4,9 aA	5,9 aA

Letras minúsculas na linha comparam os tratamentos e maiúscula na coluna comparam os sistemas de manejo (com revolvimento e sem revolvimento do solo) letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coquetel 1: 75% de leguminosas + 25% de gramíneas / oleaginosas; Coquetel 2: 75% de gramíneas / oleaginosas + 25% de leguminosas; Plantas espontâneas: corresponde ao tratamento com crescimento de vegetação espontânea.

## 5. CONCLUSÕES

- O cultivo de coquetéis vegetais é uma boa alternativa para a produção de biomassa a ser incorporada ao solo, em áreas de plantio irrigado de melão e manga, no Semiárido de Pernambuco.
- As quantidades de biomassa produzidas são maiores que as de plantas espontâneas que crescem nas áreas de plantio. A incorporação da biomassa com revolvimento do solo ou deixá-la sobre a superfície tem pouco efeito na biomassa dos cultivos seguintes.
- As leguminosas dos coquetéis tiveram relevante contribuição na FBN, com destaque para a mucuna, em relação à quantidade de N fixado, por causa de sua grande produção de biomassa.
- A utilização de coquetéis vegetais como adubos verdes aumentou a produtividade das mangueiras quando comparada com as das áreas onde cresceram as plantas espontâneas. No entanto, não aumentou a produtividade dos meloeiros.
- A maior atividade de biomassa microbiana do solo foi constatada na camada de 0-5 cm de profundidade do solo, no período de frutificação do melão e da manga, que corresponde ao período após a incorporação ou deposição da biomassa no solo.
- Apesar de poucos indicadores biológicos do solo apresentarem diferenças significativas, de uma maneira geral, a implantação dos coquetéis mostrou maior atividade microbiana do solo que nas áreas onde foi permitido o crescimento de plantas espontâneas. O não revolvimento do solo proporcionou maior atividade e eficiência da biomassa microbiana que o revolvimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**AGRIANUAL 2013: Anuário da agricultura brasileira.** São Paulo: FNP, Consultoria e Comércio, 2013. 313- 360p.

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

ALVES, B.J.R.; SANTOS, J.C.F.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.449-409. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46).

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, p.471-479, 1989.

ANDREOLA, F.; COSTA, L.M.; OLSZEWSKI, N. Influência da cobertura vegetal de inverno e da adubação orgânica e ou mineral sobre as propriedades físicas de uma Terra Roxa Estruturada. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.24, p.857-865, 2000.

ARAÚJO, A. S. F.; MELO, W. J.; SINGH, R. P. Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: changes in soil microbial biomass. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v.9, n.2, p.351-362, 2009.

ARAÚJO, A. S. F.; TEIXEIRA, G. M.; CAMPOS, A. X.; SILVA, F. C.; AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio pelo trigo cultivado em solo fertilizado com adubo verde (*Crotalaria juncea*) e/ou uréia. **Ciência Rural**, v35, n.2, p.284-289, 2005.

ASHRAF, A.; MAHMOOD, T.; AZAM, F.; QURESHI, R. M. Comparative effects of applying leguminous and non-leguminous green manures and inorganic N on biomass yield and nitrogen uptake in flooded rice (*Oryza sativa* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v.40, p.147–152, 2004.

BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and convencional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2174-2181, 2010.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, n.3, p.549-579, 2005.

BARDGET, R. D.; SAGGAR, S. Effects of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled [<sup>14</sup>C]glucose in a pasture soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, n.6, p.727-733, 1994.

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Recomendações técnicas para o uso da adubação verde em solos de tabuleiros costeiros**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001, 24p.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.2, p.105-112, 1997.

BERGAMASCHI, C.; ROESCH, L. F. W.; QUADROS, P. D.; CAMARGO, F. A. O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.727-733, 2007.

BOAS, E.V.B.V.; CHITARRA, A.B.; MENEZES, J.B. Modificações dos componentes de parede celular do melão Orange Flesh submetido a tratamento pós-colheita com cálcio. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.41, n.4, p.467-74, 1998.

BODDEY, R.M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.6, p.209-266, 1987.

BODDEY, R. M.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. B. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. **Developments in Plant and Soil Sciences**, v.65, p.195-209, 1995.

BODDEY, R. M.; PEOPLES, M. B.; PALMER, B.; DART, P. J. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.57, p. 235–270, 2000.

BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Calculations and assumptions involved in the use of the A-value and  $^{15}\text{N}$  isotope dilution techniques for the estimation of the contribution of plant-associated biological  $\text{N}_2$  fixation. **Plant and Soil**, v. 145, p.151-155, 1992.

BORTOLINI, C.G.; SILVA, P.R.; ARGENTA, G. Sistemas consorciados de aveia preta e ervilhaca comum como cobertura de solo e seus efeitos na cultura do milho em sucessão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.897-903, 2000.

BRAGA, M. B.; RESENDE, G. M.; MOURA, M. S. B.; DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D.; CORREIA, J. S.; SILVA, F. Z. Produtividade e qualidade do melão em função da cobertura do solo no Submédio do Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

BURRIS, R.H. The acetylene reduction technique. In: **Nitrogen fixation by free-living microorganisms**. D.P. STEWART (ed) International Biological Programme. V.6, p. 249-258. Cambridge University Pressy, New York, 1975.

CABELLO, M. J.; CASTELLANOS, M. T.; TARQUIS, A. M.; CARTAGENA, M. C.; ARCE, A.; RIBAS, F. Determination of the uptake and translocation of nitrogen applied at diferente growth stages of a melon crop (*Cucumis melo* L.) using  $^{15}\text{N}$  isotope. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p.541–550, 2011.

CARDOSO, E. L.; SILVA, M. L. N.; MOREIRA, F. M. S.; CURI, N. Atributos biológicos indicadores do solo em pastagem cultivada e nativa no Pantanal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.6, p.631-637, 2009.

CARNEIRO, M. A. C.; CORDEIRO, M. A. S.; ASSIS, P. C.; MORAES, E. S.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; SOUZA, E. D. Produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado. **Bragantia**, v.67, n.2, p.455-462, 2008.

CARVALHO, A. M.; BUSTAMANTE, M. M. C.; SOUSA JÚNIOR, J. G. A.; VIVALDI, L. J. Decomposição de resíduos vegetais em latossolo sob cultivo de milho e plantas de cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.2831-2838, 2008.

CARVALHO, W. P.; CARVALHO, G. J.; ABBADE NETO, D. O.; TEIXEIRA, L. G. V. Desempenho agrônômico de plantas de cobertura usadas na proteção do solo no período de pousio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.2, p.157-166, 2013.

CASTELLANOS, M. T.; CABELLO, M. J.; CARTAGENA, M. C.; TARQUIS, A. M.; ARCE, A.; RIBAS, F. Growth dynamics and yield of melon as influenced by nitrogen fertilizer. **Scientia Agricola**, v. 68, 131–261. 2011.

CASTRO, C. M.; ALVES, B. J. R.; ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, R. L. D. Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da berinjela em sistema orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.779-785, 2004.

CHOI, B.; OHE, M.; HARADA, J.; DAIMON, H. Role of belowground parts of green manure legumes, *Crotalaria spectabilis* and *Sesbania rostrata*, in N uptake by the succeeding tendergreen mustard plant. **Plant Production Science**, v.11, n.1, p.116-123, 2008.

CICEK, H.; MARTENS, J. R. T.; BAMFORD, K. C.; ENTZ, M. H. Effects of grazing two green manure crop types in organic farming systems: N supply and productivity of following grain crops. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 190, p.27-36, 2014.

COELHO, C. H. M.; MEDEIROS, A. F. A.; POLIDORO, J. C.; XAVIER, R. P.; RESENDE, A.; QUESADA, D. M.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R.; URQUIAGA, S. Identificação de genótipos de cana-de-açúcar quanto ao potencial de contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 37 - 40, 2003.

COUTINHO, F. P.; CAVALCANTI, M. A. Q.; YANO-MELO, A. M. Phosphate-solubilizing fungi isolated from a semiarid area cultivated with melon (*Cucumis melo* L. cv. gold mine). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n.4, p. 929-931, 2011.

DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; RESENDE, A. S.; URQUIAGA, S.; ROCHA, G. P.; MOREIRA, J.F.; FRANCO, A. A. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para o capim Survenola crescido em consórcio. **Ciência Rural**, v.37, p.352-356, 2007.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 36, p. 771-774, 1997.

DONADIO, L. C.; FERREIRA, F. R. Mangueira. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.) **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, p.351-372, 2002.

ELFSTRAND, S.; HEDLUND, K.; MARTENSSON, A. Soil enzyme activities, microbial community composition and function after 47 years of continuous green manuring. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 610-621, 2007.

FANG, X.; WANG, Q.; ZHOU, W.; ZHAO, W.; WEI, Y.; NIU, L.; DAI, L. Land use effects on soil organic carbon, biomass microbial and microbial activity in Changbai Mountains of Northeast China. **Chinese Geographical Science**, v. 24, n.3, p.297-306, 2014.

FAOSTAT. Produção brasileira de frutas 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 13 dez. 2014.

FARIA, C. M. B.; COSTA, N. D.; FARIA, A. F. Atributos químicos de um argissolo e rendimento de melão mediante o uso de adubos verdes, calagem e adubação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v 31 p. 299-307, 2007.

FARIA, C. M. B.; SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. S. Adubação verde com leguminosas em videira no submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p.641-648, 2004.

FARRAND, S.; BERKUM, P. B. V.; OGER, P. *Agrobacterium* is a definable genus of the family Rhizobiaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.53, p.1681–1687, 2003.

FERNANDES, S. A. P.; BETTIOL, W.; CERRI, C. C. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. **Applied Soil Ecology**, v. 30, p. 65-77, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, vol. 38, n. 2, 2014.

FERREIRA NETO. R.A. **Nitrogênio fixado em cultivo de melão sob adubação verde no município de Juazeiro, Bahia**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2013.

FLIESBACH, A.; MADER, P. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v.32, p.757-768, 2000.

FLORENTÍN, M. A.; PEÑALVA, M.; CALEGARI, A.; DERPSCH, R. **Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa: pequeñas propiedades**. Asunción: Artes Gráficas Robert, 2001. 84p.

FOLLET, R. F.; SCHIMEL, D. S. Effect of tillage practices on microbial biomass dynamics. **Soil Science Society of America Journal**, v.53, p.1091-1096, 1989.

FORTES NETO, P. **Degradação de biossólido incorporado ao solo através de medidas microbiológicas**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 2000,113p.

FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SANTOS, C. E. R. S. Abundância natural do <sup>15</sup>N para quantificação da fixação biológica do nitrogênio em plantas. In: Figueiredo, M. V. B.; Burity, H. A.; Oliveira, J. P.; Santos, C. E. R. S.; Stamford, N. P. **Biotecnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Recife, PE: Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), p.505-517. 2010a.

FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SANTOS, C. E. R. S.; FERNANDES, A. R. Biological nitrogen fixation in tree legumes of the Brazilian semi-arid caatinga. **Journal of Arid Environments**, v.74, p. 344–349. 2010b.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; CHIAPINOTTO, I. C. HÜBNER, A. P.; MARQUES, M. G.; CADORE, F. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. II – nitrogênio acumulado pelo milho e produtividade de grãos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 28, p.751-762, 2004.

GILLER, K.E. **Nitrogen fixation in tropical cropping systems**. 2nd ed. Wallingford: CAB International,. 448p, 2001.

GIONGO, V.; MENDES, A. M. S.; CUNHA, T. J. F.; GALVÃO, S. R. S. Decomposição e liberação de nutrientes de coquetéis vegetais para utilização no Semiárido brasileiro. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.3, p.611-618, 2011.

GOVAERTS, B.; MEZZALAMA, M.; UNNO, Y.; SAYR, K. D.; LUNA-GUIDO, M.; VANHERCK, K.; DENDOOVEN, L.; DECKERS, J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. **Applied Soil Ecology**, v. 37, p. 18-30, 2007.

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

GRISI, B.M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, v.30, p.82-88, 1978.

HARDARSON, G.; ATKINS, C. Optimising biological N<sub>2</sub> fixation by legumes in farming systems. **Plant and Soil**, v.252, p.41-54, 2003.

HOLT, J. A. Grazing pressure and soil carbon, microbial biomass and enzyme activities in semi-arid northeastern Australia. **Applied Soil Ecology**, v.5, p.143-149, 1997.

HU, J.; LIN, X.; WANG, J.; DAI, J.; CHEN, R.; ZHANG, J.; WONG, M. H. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. **Journal of Soils and Sediments**, v. 11, p. 271-280, 2011.

IBGE. Produção agrícola municipal 2013. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/ProducaoAgricola/ProducaoAgricola\\_Municipal\\_%5Banual%5D/2011/tabelas\\_pdf/tabela04.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/ProducaoAgricola/ProducaoAgricola_Municipal_%5Banual%5D/2011/tabelas_pdf/tabela04.pdf). Acesso em: 13 dez.2014.

JAMES E.K. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L Moench. **Journal of Experimental Botany**, v.48, p.785-797, 1997.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.M. eds. **Soil biochemistry**, v.5. NewYork, Marcel Decker, p.415-471, 1981.

KABIRI, V.; RAIESI, F.; GHAZAVI, M. A. Tillage effects on soil microbial biomass, SOM mineralization and enzyme activity in a semi-arid Calcixerepts. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.232, p.73–84, 2016.

KARA, O.; BAYKARA, M. Changes in soil microbial biomass and aggregate stability under different land uses in the northeastern Turkey. **Environmental Monitoring Assessment**, v.186, p.3801-3808, 2014.

KOURKOUTAS, D.; ELMORE, J. S.; MOTTRAM, D. S. Comparison of volatile compositions and flavour properties of cantaloupe, Galia and honeydew muskmelons. **Food Chemistry**, v.97, p.95–102, 2006.

KOUYATÉ, Z.; FRANZLUEBBERS, K.; JUO, A. S. R.; HOSSNER, L. R. Tillage, crop residue, legume rotation, and green manure effects on sorghum and millet yields in the semiarid tropics of Mali. **Plant and Soil**, v.225, p.141–151, 2000.

LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. I.; MELO, W. J. Recuperação de solos degradados na exploração mineral de cassiterita: biomassa microbiana e atividade da desidrogenase. **Bragantia**, v.70, p.1-10, 2011.

LUNA, M. F.; GALAR, M. L.; APREA, J.; MOLINARI, M. L.; BOIARDI, J. L. Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Biotechnology Letters**, v.32, p.1071–1076, 2010.

LUNDQUIST, E. J.; SCOW, K. M.; JACKSON, L. E.; UESUGI, C. R.; JOHNSON, C. R. Rapid response of soil microbial communities from conventional, low input, and organic farming system to a wet/dry cycle. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.661-675, 1999.

MAC DONALD, R.M. Extraction of microorganisms from soil. **Biological Agriculture & Horticulture**, v.3, p.361-365, 1986.

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

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.257-263, 1999.

MARTINELLI, L. A.; OMETTO, J. P. H. B.; FERRAZ, E. S.; VICTORIA, R. L.; CAMARGO, P. B.; MOREIRA, M. Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009, 98 p.

MARTINS, C. M.; GALINDO, I. C. L.; SOUZA, E. R.; POROCA, H. A. Atributos químicos e microbianos do solo de áreas em processo de desertificação no semiárido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.1883-1890, 2010.

MASCARENHAS, H. A. A.; WUTK, E. B. Adubação, nutrição e fatores climáticos limitantes ao desenvolvimento dos adubos verdes. In: Lima Filho, O. F.; Ambrosano, E. J.;

- Rossi, F.; Carlos, J. A. D. (Ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa, v.1, 2014, 507p.
- MELERO, S.; PORRAS, J. C. R.; HERENCIA, J. F.; MADEJON, E. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. **Soil Tillage Research**, v.90, p.162-170, 2006.
- MIYAZAWA, K.; MURAKAMI, T.; TAKEDA, M.; MURAYAMA, T. Intercropping green manure crops effects on rooting patterns. **Plant Soil**, v. 331, p.231–239, 2010.
- MONTAÑEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by <sup>15</sup>N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, v.45, p.253-263, 2009.
- MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, v. 349, p. 1-12, 2012.
- MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the  $\beta$ -subclass of Proteobacteria. **Nature**, v.411, p. 948-950, 2001.
- MUREITHI, J. G.; GARCHENE, C. K. K.; OJIEM, J. The role of green manure legumes in smallholder farming systems in Kenya: The Legume Research Network Project. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 1, p. 57-70, 2003.
- NAIR, A.; NGOUAJIO, M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. **Applied Soil Ecology**, v. 58, p. 45-55, 2012.
- NORTHUP, B. K.; BROWN, J. R.; HOLT, J. A. Grazing impacts on the spatial distribution of soil microbial biomass round tussock grasses in a tropical grassland. **Applied Soil Ecology**, v.13, p.259-270, 1999.

OKITO, A.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Nitrogen fixation by groundnut and velvet bean and residual benefit to a subsequent maize crop. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.12, p.1183-1190, 2004.

OJIEM, J. O.; VANLAUWE, B.; RIDDER, N.; GILLER, K. E. Niche-based assessment of contributions of legumes to the nitrogen economy of Western Kenya smallholder farms. **Plant Soil**, v.292, 119-135, 2007.

OLIVEIRA, T.K.; CARVALHO, G.J. ; MORAES, R.N.S. Plantas de cobertura e seus efeitos sobre o feijoeiro em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1079-1087, 2002.

PANDEY, C. B.; SINGH, J. S. Influence of rainfall and grazing on belowground biomass dynamics in a dry tropical savana. **Canadian Journal of Botany**, v.70, p.1885-1890, 1992.

PAULINO, G.M; ALVES, B.J.R; BARROSO, D.G; URQUIAGA, S.; ESPINDOLA J.A.A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.12, p.1598-1607, 2009.

PERIN, A.; GUERRA, J. G. M.; ESPINDOLA, J. A. A.; TEIXEIRA, M. G.; BUSQUET, R. N. B. Desempenho de bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 6, p. 1511-1517, 2009.

PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J. G. M.; CECON, P. R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.1, p.35-40, 2004.

PIMENTEL, M. S.; CARVALHO, R. S.; MARTINS, L. M. V.; SILVA, A. V. L. Seasonal response of edaphic bioindicators using green manure in Brazilian semi-arid conditions. **Revista Ciência Agrônômica**, v.42, n.4, p.829-836, 2011.

PIMENTEL, M. S.; CARVALHO, R. S.; VILARONGA, D. P.; MARTINS, L. M. V.; SILVA, A. V. L. Dynamic of epigeous macrofauna under organic soil management in the Brazilian semi-arid region. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.1, p.183-192, 2012.

RAJKUMAR, M.; FREITAS, H. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals. **Chemosphere**, v.71, p.834-842, 2008.

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using  $^{15}\text{N}$ -isotope techniques. **Journal of Biotechnology**, v.91, p.105-115, 2001.

RICCI, M. S. F.; ALVES, B. J. R.; MIRANDA, S. C.; OLIVEIRA, F. F. Growth rate and nutritional status of an organic coffee cropping system. **Scientia Agricola**, v.62, n.2, p.138-144, 2005.

ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. Histórico da adubação verde no Brasil. In: LIMA FILHO, O. F.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. (Ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa, 2014, v.1. 507p.

RUSCHEL, A.P.; VICTORIA, R.L.; SALATI, E.; HENIS Y. Nitrogen fixation in sugar cane (*Saccharum officinarum*). In: GRANHALL, U. (Ed.). **Environmental role of nitrogen-fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria**. Uppsala: Ecological Bulletins, Swedish Natural, 1978. p. 297-305. (Ecological Bulletins/NFR, 26).

SAMPAIO, D. B.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B. Avaliação de indicadores biológicos de qualidade do solo sob sistemas de cultivo convencional e orgânico de frutas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.353-359, 2008.

SANFORD, P.; PATE, J. S.; UNOVICH, M. J.; THOMPSON, A. N. Nitrogen fixation in grazed and ungrazed subterranean clover pasture in south-west Australia assessed by the  $^{15}\text{N}$  abundance technique. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p.1427-1443, 1995.

SANTI, C.; BOGUS, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany**, v.111, p.1-25, 2013.

SANTOS, C. E. R.; FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; COLAÇO, W. Fixação simbiótica do N<sub>2</sub> em leguminosas tropicais. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (Ed.) **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba, RS: Agrolivros, 2008, 568p.

SAVY FILHO, A.; PAULO, E.M.; MARTINS, A.L.M.; GERIN, M.A.N. **Variedades de mamona do Instituto Agrônômico**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1999. (IAC. Boletim Técnico, 183).

SEBASTIAN, P.; SCHAEFER, H.; TELFORD, I. R. H.; RENNER, S. Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.107, n.32, p.14269-14273, 2010.

SHEARER, G.; KOHL, D. H. Estimates of N<sub>2</sub> fixation in ecosystems: the need for and basis of the <sup>15</sup>N abundance method. In: Rundel, P. W.; Ehleringer, J. R.; Nagy, K. A. (Ed.). **Stable isotopes in ecological research**. New York: Springer-Verlag, p.342-347, 1989.

SHEARER, G.; KOHL, D.H. N<sub>2</sub> fixation in field settings: estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, p.699-756, 1986.

SHRESTA, R. K.; MASKEY, S. L. Associative nitrogen fixation in lowland rice. **Nepal Agriculture Research Journal**, v.6, p.112-121, 2005.

SILVA, D. J.; MOUCO, M. A. C.; GAVA, C. A. T.; GIONGO, V.; PINTO, J. M. Composto orgânico em mangueiras (*Mangifera indica* L.) cultivadas no semiárido do nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n.3, p.875-882, 2013.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; VILLANUEVA, F. C. A.; ESPINAL, F. S. C. Aproveitamento de nitrogênio pelo milho, em razão da adubação verde, nitrogenada e fosfatada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.2, p.118-127, 2009.

SILVA, J. A. A.; VITTI, G. C.; STUCHI, E. S.; SEMPIONATO, O. R. Reciclagem e incorporação de nutrientes ao solo pelo cultivo intercalar de adubos verdes em pomar de laranja-‘pêra’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 225-230, 2002.

SILVA, T. O.; MENEZES, R. S. C.; TIESSEN, H.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H.; SILVEIRA, L. M. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou, *Crotalaria juncea*. I - Produtividade vegetal e estoque de nutrientes no solo em longo prazo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.39-49, 2007.

SILVA, T. R. B.; LEITE, V. E.; SILVA, A. R. B.; VIANA, L. H. Adubação nitrogenada em cobertura na cultura da mamona em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.9, p.1357-1359, 2007.

SIQUEIRA, K. M.; KIILL, L. H.; MARTINS, C. F.; LEMOS, I. B.; MONTEIRO, S. P.; FEITOZA, E. A. Estudo comparativo da polinização de *Mangifera indica* L. em cultivo convencional e orgânico na região do Vale do Submédio do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.303-310, 2008.

SMITH, B. N. Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios for higher plants. **Plant Physiology**, v, 47, p.380-384, 1971.

SNAPP, S. S.; MAFONGOYA, P. L.; WADDINGTON, S. Organic matter technologies for integrated nutrient management in smallholder cropping systems of southern Africa. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.71, p.185-200, 1998.

SODRÉ FILHO, J.; CARDOSO, A. N.; CARMONA, R.; CARVALHO, A. M. Fitomassa e cobertura do solo de culturas de sucessão ao milho na Região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.4, p.327-334, 2004.

SOUSA, V. F.; COELHO, E. F.; SOUZA, V. A. B. Frequência de irrigação em meloeiro cultivado em solo arenoso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.4, p.659-664, 1999.

SOUSA, Z. B. B.; MALHEIROS, M. R.; RODRIGUES, A. A. C.; COSTA, E. A.; ARAÚJO, M. S. **Leguminosas usadas como adubo verde no controle de plantas espontâneas**. VI Congresso Brasileiro de Agroecologia, Curitiba, p.664-667, 2009.

SOUZA, E. D.; COSTA, S. E. V. G. A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C. V. S.; CARVALHO, P. C. F.; MARTINS, A. P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.79-88, 2010.

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal Soil Research**, v.30, p.195-207, 1992.

SUN, B.; HALLET, P. D.; CAUL, S.; DANIELL, T. J.; HOPKINS, D. W. Distribution of soil carbon and microbial biomass in arable soils under different tillage regimes. **Plant and Soil**, v.338, p.17-25, 2011.

TORRES, J.L.R.; PEREIRA M.G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J.C. & FABIAN, A.J.; Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 29:609-618, 2005.

TRIBOUILLOIS, H.; COHAN, J. P.; JUSTES, E. Cover crop mixtures including legume produce ecosystem services of nitrate capture and green manuring: assessment combining experimentation and modelling. **Plant and Soil**, v.401, p.347-364, 2016.

UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural, 2008. 258p. (ACIAR monograph, 136).

VALLIS, I.; HAYDOCK, K.P.; ROSS, P.J.; HENZELL, E.F. Isotopic studies on the uptake of nitrogen by pastures. III. The uptake of small additions of <sup>15</sup>N-labelled fertilizer by Rhodes grass and Townsville lucerne. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p.865-877, 1967.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p.703-707, 1987.

WARDLE, D. A.; HUNGRIA, M. A. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Eds.) **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994, p.195-216.

WILLEMS, A. The taxonomy of rhizobia: an overview. **Plant and Soil**, v.287, p.3-14, 2006.

WUTKE, E. B.; AMBROSANO, E. J.; RAZERA, L. F.; MEDINA, P. F.; CARVALHO, L. H.; KIKUTI, H. (Coord.). **Bancos comunitários de sementes de adubos verdes: informações técnicas**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007, 52p.

WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: Lima Filho, O. F.; Ambrosano, E. J.; Rossi, F.; Carlos, J. A. D. (Ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília, DF: Embrapa, v.1, 2014, 507p.

WUTKE, E. B.; TRANI, P. E.; AMBROSANO, E. J.; DRUGOWICH, M. I. **Adubação verde no Estado de São Paulo**. Campinas: CATI, 2009, 89p.

XAVIER, F. A. S.; MAIA, S. M. F.; OLIVEIRA, T. S.; MENDONÇA, E. S. Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na Chapada da Ibiapaba – CE. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.247-258, 2006.

ZOTARELLI, L. **Balço de nitrogênio na rotação de culturas em sistema de plantio direto e convencional na região de Londrina - PR**. 2000. 134p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.