

KAREN CRISTINA FIALHO DOS SANTOS

**ATIVIDADE BIOLÓGICA E BIOPROSPECÇÃO
DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS À *Atriplex nummularia* EM SOLO SALINO SÓDICO
NO AGRESTE DE PERNAMBUCO**

RECIFE-PE

MAIO-2010

KAREN CRISTINA FIALHO DOS SANTOS

**ATIVIDADE BIOLÓGICA E BIOPROSPECÇÃO
DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS À *Atriplex nummularia* EM SOLO SALINO SÓDICO
NO AGRESTE DE PERNAMBUCO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência do Solo da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciência do Solo**

RECIFE-PE

MAIO-2010

Ficha catalográfica

S237a Santos, Karen Cristina Fialho dos
Atividade biológica e bioprospecção de bactérias associadas à *Atriplex nummularia* em solo salino sódico no agreste de Pernambuco / Karen Cristina Fialho dos Santos. – 2010.
50 f.: il.

Orientadora: Maria Betânia Galvão dos Santos Freire.
Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo)
- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2010.

Referências.

1. Microrganismos 2. Salinidade de solos 3. Biomassa microbiana I. Freire, Maria Betânia Galvão dos Santos, orientadora II. Título

CDD 631.46

KAREN CRISTINA FIALHO DOS SANTOS

**ATIVIDADE BIOLÓGICA E BIOPROSPECÇÃO
DE BACTÉRIAS ASSOCIADAS À *Atriplex nummularia* EM SOLO SALINO SÓDICO
NO AGRESTE DE PERNAMBUCO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência do Solo da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciência do Solo**

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 24 de maio de 2010.

Orientadora:

Dr^a Maria Betânia Galvão dos Santos Freire

Examinadores:

Dr^a Ana Dolores Santiago Freitas

Dr^a Júlia Kuklinsky Sobral

Dr^a Sônia Valéria Pereira

“Quando eu pensar que aprendi a viver, terei aprendido a morrer”.

Leonardo Da Vinci

A minha avó Geraldina Fialho, por ser a mulher
guerreira e espelho para uma vida inteira.

DEDICO.

A minha mãe Glaciete Fialho, por todo amor
incondicional e carinho dedicados a mim.

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder e me conduzir por mais uma vitória.

A minha mãe, Glauciete Fialho, por entender, segurar minha mão e me orientar, nas várias etapas da vida, além de sempre dedicar a mim um amor inexplicável. Ao meu pai Djalma Santos por ser quem é.

A minha avó, Geraldina Fialho por ser simplesmente um exemplo de vida.

A Marcelo Miranda, por todo amor, carinho e principalmente paciência a mim dedicados em todas as horas. Simplesmente por ser a pessoa maravilhosa que é.

A professora Maria Betânia, pela orientação, amizade, apoio, ensinamentos e paciência a mim conferidos passados durante todo o trabalho.

A professora Júlia Kuklinsky Sobral por toda atenção, amizade e ensinamentos a mim conferidos e ao professor Mario de Andrade Lira Junior pela orientação e conselhos.

Aos professores do PPGCS, pelo compartilhamento do conhecimento, de fundamental importância para o enriquecimento do saber.

Aos companheiros do Laboratório de Química do Solo, que aprendi a gostar e entender.

Aos amigos Márcio Fléquisson, Patrícia Ribeiro, Guilherme Medeiros, Luís Eduardo, Goédhi Antas, Monaliza Alves, Emanuel Hernandes pelo apoio e companheirismo em todos os momentos. E a Marina por ter me ajudado e me entendido nas tantas horas de análises.

A Cybelle Souza, Raiana Lira, Vinícius Gedeão, Jean Cheyson, Andresa Priscila, Renato Lemos e todos os outros amigos que fiz durante as disciplinas prestadas no Programa. Agradeço pelos vários momentos felizes e também tensos, que depois se tornaram hilários, passados durante as muitas horas de estudo.

Aos amigos do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana, Luana Lira, Andreza Raquel, Pedro Avelino, Diogo Paes, Marisângela Viana e Maria Camila, por todo apoio e amizade.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de ingressar na profissão de Bióloga, que confiro todo amor e honra.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, por todo conhecimento adquirido e por toda a credibilidade.

Aos funcionários da UFRPE, em especial Maria do Socorro, por todo apoio prestado.

A CAPES pela importante ajuda financeira por meio da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação profissional e a realização deste trabalho.

Obrigada.

BIOGRAFIA

KAREN CRISTINA FIALHO DOS SANTOS, filha de Glauciete da Silva Fialho e Djalma José dos Santos, nascida em 22 de outubro de 1987, na cidade de Recife, Pernambuco.

Cursou o ensino básico e fundamental no Colégio Visão e o ensino médio no Colégio Contato, ambos na cidade de Recife, Pernambuco.

Em 2005, ingressou no curso de Bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife-PE, graduando-se no final do ano de 2008.

Em março de 2009 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia- Ciência do Solo, no Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFRPE.

SUMARIO

Lista de Figuras.....	x
Lista de Quadros.....	xii
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
Introdução Geral.....	1
Referências Bibliográficas.....	5
Capítulo I- Atividade biológica em solo salino sódico sob cultivo de <i>Atriplex nummularia</i>	9
Resumo.....	10
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Material e métodos.....	11
Resultados e discussão.....	13
Conclusões.....	28
Referências Bibliográficas.....	28
Capítulo II- Caracterização de bactérias associadas à <i>Atriplex nummularia</i> em ambiente salino	32
Resumo.....	33
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Material e métodos.....	35
Resultados e discussão.....	38
Conclusões.....	45
Referências Bibliográficas.....	45
Conclusões Finais.....	50

LISTA DE FIGURAS

- Representação gráfica dos *scores* dos locais de amostragem SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha), obtidos nos solos coletados em período chuvoso. Proximidade entre tratamentos indica semelhança de acordo com a análise de componentes principais. 19
- Dendrograma resultante da análise de agrupamento dos locais de amostragem no solo coletado no período chuvoso, utilizando a distância euclidiana média como coeficiente de similaridade e o algoritmo de WARD como método de agrupamento. 20
- Representação gráfica dos *scores* das amostras SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha), obtidos nos solos coletados em período seco (dezembro/2009). Proximidade entre tratamentos indica semelhança de acordo com a análise de componentes principais. 26
- Dendrograma resultante da análise de agrupamento dos locais de amostragem no solo coletado no período seco, utilizando a distância euclidiana média como coeficiente de similaridade e o algoritmo de WARD como método de agrupamento. 27
- Densidade populacional total de bactérias halotolerantes associadas a *A. nummularia* isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado e solo testemunha, todos coletados no período chuvoso. Médias com diferentes letras diferem entre si, significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). 39
- Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* fixadoras de nitrogênio isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, dos isolados coletados no período chuvoso. 40
- Padrões de resultados da fixação de nitrogênio. A figura *a* apresenta o padrão considerado positivo, identificado através da mudança da coloração do meio e formação de halo próximo a superfície. A figura *b* mostra o tratamento controle negativo. 40
- Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* produtoras de AIA isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, com isolados coletado no período chuvoso. 41
- Padrões de coloração para produção de AIA. A figura mostra as diferentes tonalidades de cores encontradas. Sendo a primeira, da esquerda pra direita, o controle negativo e as outras três diferentes tonalidades para o resultado positivo. 41
- Densidade populacional total de bactérias halotolerantes associadas a *A. nummularia* isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado e solo testemunha, em solo coletado no período seco. Médias com diferentes letras diferem entre si, significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). 43
- Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* fixadoras de nitrogênio isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, em solo

coletado no período seco.

44

Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* produtoras de AIA isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, em solo coletado no período seco.

45

LISTA DE QUADROS

Matriz de correlação das variáveis biológicas obtidas em Neossolo Flúvico coletado no período chuvoso (agosto/2009), no município de Pesqueira, PE	14
Medidas estatísticas descritivas dos atributos biológicos das amostras de solos coletadas em período chuvoso, correspondentes aos pontos SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha)	16
Autovalores e variâncias dos componentes principais obtidas com os atributos biológicos do solo coletado no período chuvoso	17
Correlações (loadings) dos atributos biológicos analisados com os componentes principais (CPs) obtidos para solos coletados em período chuvoso	18
Matriz de correlação das variáveis biológicas obtidas em Neossolo Flúvico coletado no período seco (dezembro/2009), no município de Pesqueira, PE	21
Medidas estatísticas descritivas dos atributos biológicos dos solos coletados em período seco, correspondentes aos tratamentos SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha).	23
Autovalores e variâncias dos componentes principais obtidos com os atributos biológicos do solo coletado no período seco	24
Correlações (loadings) dos atributos biológicos analisados com os componentes principais (CPs) obtidos para solos coletados em período seco	25

SANTOS, KAREN CRISTINA FIALHO. MSc. Pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, maio de 2010. Atividade biológica e caracterização de bactérias associadas à *Atriplex nummularia* em solo salino sódico no agreste de Pernambuco. Orientadora: Dra. Maria Betânia Galvão dos Santos Freire.

RESUMO

A salinidade dos solos é um problema crescente e que vem se acentuando de forma descontrolada em todo o mundo, tendo como causas: a liberação de sais do material de origem, a irrigação em excesso ou com água de má qualidade e a elevada evapotranspiração, que não é compensada por conta das baixas taxas pluviométricas, promovendo a degradação de extensas áreas. Para a reabilitação, a utilização de plantas fitoextratoras de sais do solo, como a *Atriplex nummularia*, tem-se mostrado bastante viável. Para espécies que conseguem se desenvolver em ambientes extremos, como é o caso da *Atriplex*, associações simbióticas com microorganismos adaptados a este ambiente pode colaborar para seu estabelecimento e efetividade na extração de sais. Desta forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade biológica e os organismos presentes em solo salino sódico na presença ou ausência de *Atriplex nummularia* que possam contribuir para o desenvolvimento desta espécie halófila. Foram estudados microorganismos associados a ambientes com e sem plantas de *A. nummularia* em experimento de campo implantado em Neossolo Flúvico salino sódico no Município de Pesqueira-PE. Duas amostragens foram realizadas, sendo uma no período seco e outra no período chuvoso, quando o solo se encontra completamente saturado por água. Nas amostras de solo foram realizadas análises da atividade microbiana e bioprospecção biológica através do isolamento das bactérias, que foram escolhidas de acordo com os diferentes formatos e colorações das colônias, e também através de testes para fixação de nitrogênio e produção de AIA. Os resultados da atividade microbiana demonstram que a distância da raiz interfere nos dados gerais de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, bem como da respiração basal, sendo os maiores valores encontrados próximos às raízes da planta, indicando que a presença da *Atriplex* tende a promover um aumento na microbiota do solo e também que uma maior interação com as raízes, em períodos de seca, promove um benefício aos microorganismos encontrados no local. A densidade populacional bacteriana estudada em todos os pontos nos dois períodos coletados foi maior no rizoplano, reforçando a forte associação destes microorganismos, em especial, bactérias com plantas de *Atriplex*. As bactérias endofíticas isoladas dos tecidos da folha e raiz das plantas de *A. nummularia*, mesmo em menor quantidade em relação à densidade populacional, foram capazes nas duas coletadas realizadas de fixar nitrogênio e produzir AIA em percentuais satisfatórios,

mostrando a importância das bactérias endofíticas para o bom desenvolvimento das plantas da espécie pelo fato de que estas podem estar contribuindo para a capacidade de produção de biomassa desta planta em solos afetados por sais, aumentando desta forma a maior capacidade de fitoextração pela espécie.

SANTOS, KAREN CRISTINA FIALHO. MSc. at Universidade Federal Rural de Pernambuco, may of 2010. Biological activity and characterization of bacteria associated with *Atriplex nummularia* in saline sodic soil in the Agreste of Pernambuco. Guideline: Dra. Maria Betânia Galvão dos Santos Freire.

ABSTRACT

Soil salinity is a growing problem that has been developed in an uncontrolled manner throughout the world, having as causes: the release of salts from the source material, or excessive irrigation with water of poor quality and high evapotranspiration, which is not account is offset by the low annual rainfall, promoting the degradation of large areas. To the rehabilitation, the use of plants for phytoextraction of soil salts, such as *Atriplex nummularia*, has proved quite feasible. For species that can grow in extreme environments, such as the *Atriplex*, symbiotic associations with microorganisms adapted to this environment may contribute to its establishment and effectiveness in extracting salt. Thus, the purpose of this study is to evaluate the biological activity and the organisms in saline sodic soil in the presence or absence of *Atriplex nummularia* that may contribute to the development of the halophyte species. We studied microorganisms associated with environments with and without plants of *A. nummularia* deployed in a field experiment in Fluvic Neossoils saline sodic in the city of Pesqueira-PE. Two samples were taken, one in the dry season and another in the rainy season when the soil is completely saturated by water. Soil samples were analyzed for microbial activity and biological bioprospecting by isolating of the bacteria, which were chosen according to the different shapes and colors of the colonies, and also by testing for nitrogen fixation and production of IAA. The results of microbial activity showed that the distance from the root interfere in the general data of carbon and nitrogen of microbial biomass and basal respiration, and the highest values found near the roots of the plant, indicating that the presence of *Atriplex* tends to promote a increase in soil microbes and also that greater interaction with the roots in dry periods, promotes a benefit to the organisms found on site. The bacterial population studied in all the points collected in both periods was higher in the rhizoplane, reinforcing the strong association of these microorganisms, particularly bacteria with plants of *Atriplex*. The endophytic bacteria isolated from leaf and root tissues of plants of *A. nummularia*, even in smaller quantities in relation to population density, were able in two sampling in fix nitrogen and produce IAA in a satisfactory percentage, showing the importance of endophytic bacteria for the development of plants of the species because they may be contributing for the capacity of this plant biomass production in salt affected soils, thus increasing the potential of more species for phytoextraction.

INTRODUÇÃO GERAL

A salinidade em solos

Solos salinos se caracterizam pelo acúmulo de sais em horizontes ou camadas próximas à superfície, condutividade elétrica do extrato de pasta saturada superior a 4 dS m^{-1} em alguma parte do solo e por conta de impedimentos que limitam a infiltração da água da chuva ou irrigação podem apresentar lençol freático superficial, dependendo da época do ano. Os solos são classificados como salino-sódicos quando os valores de PST (percentual de sódio trocável) atinge valores superiores ou iguais a 15% e os níveis de salinidade permanecem altos, com a condutividade elétrica do extrato de pasta saturada superior a 4 dS m^{-1} (Oliveira et al., 1992; Ribeiro et al, 2009).

Segundo Lovato (1991), a salinidade é um importante fator limitante para a distribuição das plantas em ambientes naturais. Assim, os fatores químicos do solo, tais como pH, salinidade e disponibilidade de nutrientes podem determinar a distribuição ecofisiológica das espécies (Marschner, 1995).

Pereira et al. (1985) estimam que, o Nordeste brasileiro, possua uma área total de mais de 9 milhões de hectares ocupada por solos potencialmente salinos, enquanto que Gheyi (2000), estima que 25% das áreas irrigadas do Nordeste foram salinizadas. Ribeiro et al. (2003), com base no Mapa de Solos do Brasil, estimam que aproximadamente 2% do território total brasileiro seja ocupado por solos salinos, solódicos e sódicos.

A salinidade é uma propriedade encontrada, principalmente, em solos de áreas de baixas precipitações pluviais e de recepção de solutos advindos de áreas mais elevadas principalmente em regiões semi-áridas, que contribuem para um aumento da concentração de sais solúveis na solução do solo e/ou, aumento da quantidade de sódio trocável, interferindo no crescimento e desenvolvimento normal das plantas (Oliveira et al., 1992; Ribeiro et al, 2009).

Portanto, esta quantidade excessiva de sais, em algumas regiões proporciona, quase que exclusivamente, o desenvolvimento apenas de plantas halófitas, que são aquelas que necessitam de sais no solo em concentrações de médias a elevadas para conseguir completar o seu ciclo de vida, tornando limitado o crescimento de não halófitas nesses ambientes (Oliveira et al., 1992).

De acordo com Miranda (2000), o emprego de métodos biológicos para recuperação de solos salinos, embora seja muito promissor, apresenta-se atualmente bastante limitado em virtude da pequena disponibilidade de espécies de interesse comercial, pelo baixo nível de

tolerância das plantas ao estresse salino e pela pouca disponibilidade de dados que possam orientar seu cultivo. Dessa forma, a adaptação das plantas a esses ambientes de altas concentrações de sais configura-se como uma saída promissora para a reabilitação desses solos (Leal et al., 2008; Ribeiro et al., 2009).

A cultura da *Atriplex* e sua utilização na recuperação de solos afetados por sais

A família Chenopodiaceae, originária da Austrália, apresenta diversas espécies e subespécies de forrageiras, dentre elas está incluída a espécie *Atriplex nummularia* (Franclet & Le Houérou, 1971). Essa família conta com mais de 400 espécies, dentre elas aproximadamente 15% interessam à produção animal, sendo a *A. nummularia* uma das mais importantes na utilização como forrageira (Aganga et al., 2003). Esta planta tem se adaptado muito bem nas regiões áridas e semi áridas da América do Sul, em particular na Argentina, Chile e Brasil. A espécie foi introduzida no Nordeste Brasileiro, através da Inspeção Federal de Obras Contra as Secas, na década de 30 (Obras..., 1938).

Por ser originária de regiões áridas, a *Atriplex nummularia*, também conhecida como erva-sal é importante, principalmente, por conseguir produzir e manter uma abundante fitomassa, mesmo em ambientes de alta aridez e salinidade (Kelley *et al.*, 1982).

A planta é arbustiva, perene e apresenta uma altura média de 1,5 m, podendo chegar até 3,0 m. O sistema radicular pode atingir profundidade de até 3,5 m e é composto por uma raiz pivotante e raízes laterais, que facilitam sua nutrição e estabilidade.

As plantas adaptam-se bem a solos secos e pobres em nutrientes, porém os melhores crescimentos são observados em solos próximos a fonte de água, desde os argilosos até arenosos, salinos, altamente alcalinos e calcáreos, toleram solos poucos profundos, não sobrevivendo em solos encharcados. As plantas do gênero *Atriplex* são consideradas como “halófitas autênticas”, ou seja, precisam de sais para completar seu ciclo de vida (Flower et al., 1977; O’Leary, 1990; Porto et al, 2000). Há, ainda, registros de bons crescimentos da cultura em solos com valores de condutividade elétrica de 20 dS m⁻¹ até cerca de 60 dS m⁻¹.

De acordo com a FAO (1996), as características que lhe dão importância são: alta resistência às condições de aridez e salinidade; bom rendimento forrageiro, proteína bruta entre 7 e 24,7%, variando em função da estação do ano, tipo de tecido e idade da planta; fácil propagação; alto poder calorífico e pouca susceptibilidade a pragas e doenças. Além de todos esses fatores ainda pode-se contar com um alto teor de caroteno em suas forragens e a propriedade de manter abundante fitomassa foliar ativa durante os períodos desfavoráveis do ano, sobretudo na época das secas (Olivares, 1983).

Uma das principais características morfológicas da espécie é o fato das folhas possuírem vesículas esbranquiçadas acumuladoras de sais, que é um dos mecanismos que permite à espécie ser tolerante aos altos níveis de salinidade do solo (Kelley et al., 1982; Porto et al., 2000, Santana & Silva, 2000; Zhu, 2001).

Devido à alta concentração de sal em suas folhas e ramos, essas plantas apresentam uma elevada tensão osmótica em suas células, principal mecanismo fisiológico que faculto à planta reter a umidade, o que resulta em resistência à seca. Nesse tipo de planta, o aumento da salinidade resulta em maior suculência, conservando a água no interior do tecido vegetal e, conseqüentemente, reduzindo a taxa de transpiração. De acordo com Sharma (1982), o turgor e a percentagem de saturação das folhas da *Atriplex* aumentam de acordo com o aumento da salinidade, enquanto as taxas de transpiração e fotossíntese decrescem. O conjunto desses atributos faz com que a erva-sal seja uma das mais importantes espécies empregadas na recuperação de solos salinos em todo o mundo (Squire & Ayoub, 1994; Porto et al., 2000).

Microrganismos encontrados em ambientes salinos

Em solos com elevados teores de sais podem ser encontrados microrganismos halotolerantes (Eubacteria), que se caracterizam por se desenvolver em meios contendo de 2 a 5% de sais e também os microrganismos halófilos (Archea), caracterizados por requererem um mínimo de 9% e podendo tolerar até 23% de sais no meio (Oetterer, 2009).

Estes microrganismos halotolerantes, utilizam, em geral, estratégias de osmo Adaptação flexíveis que lhes permitem responder rapidamente a flutuações de salinidade do meio exterior. Neste caso, as estratégias de adaptação passam pela acumulação de solutos compatíveis, compostos orgânicos de baixa massa molecular, sejam importados do meio ou sintetizados, e que, mesmo em concentrações elevadas, são inofensivos para a funcionalidade das proteínas e de outros componentes celulares. A acumulação de solutos, além de conferir uma larga adaptabilidade, apresenta ainda a vantagem de proteger a célula contra modificações moderadas no gradiente de temperatura. Talvez seja por este conjunto de fatores que a acumulação de solutos orgânicos constitui o mecanismo utilizado pela grande maioria dos microrganismos conhecidos (Santos et al., 2001).

Os microrganismos halófilos, além de acumularem íons inorgânicos em concentrações elevadas para contrabalançarem a pressão osmótica externa e manterem a integridade celular, também podem possuir em suas membranas uma composição por glicoproteínas. As glicoproteínas muitas vezes contêm grandes quantidades de aminoácidos carregados negativamente. Por este fato, há uma tendência a ocorrer um bombeamento de grandes

quantidades de K^+ para o interior da célula, superando a concentração externa de Na^+ . Além disso, as cargas negativas da parede interagem com os íons Na^+ do ambiente, estabilizando a parede (Kyaw, 2009).

Estas estratégias possibilitam a sobrevivência de microrganismos em solos salinos e sódicos, ambientes inóspitos ao desenvolvimento de outras espécies, sendo necessário o conhecimento das especificidades dos mesmos, verificando possíveis associações com plantas existentes neste meio, que possam beneficiar sua sobrevivência em troca de benefícios próprios. O uso deste conhecimento poderia ajudar no estabelecimento de associações mais efetivas entre plantas e microrganismos adaptados a ambientes salinos que poderiam incrementar o processo de recuperação nestes solos (Stamford et al., 2005).

Microrganismos associados à *Atriplex nummularia* em solos afetados por sais

A matéria vegetal, principalmente folhas e ramos finos, de plantas do gênero *Atriplex* tem sido utilizada na alimentação animal pelo teor de proteína bruta, que varia de 7 a 24,7%, representando alternativa viável para épocas de seca com baixa oferta de forragem para os animais, especialmente caprinos e ovinos (FAO, 1996). Contudo, na maioria dos plantios de *Atriplex* não são utilizadas fontes de adubos nitrogenados, mesmo sendo o N elemento essencial na constituição das proteínas, levantando-se a dúvida sobre qual a forma de obtenção deste nutriente pela cultura para a produção de grande biomassa vegetal.

O conhecimento e isolamento de bactérias nativas com capacidade de fixação do N em plantas tolerantes e halófitas em solos salino sódicos podem contribuir para o entendimento desta capacidade de desenvolvimento da *Atriplex* em ambiente naturalmente pobre em N e, desta forma, contribuir para o processo de fitorremediação de solos salinos e sódicos (Silva et al., 2008).

A prospecção de microrganismos associados a esta planta e capazes de promover o desenvolvimento vegetal, como fixar N_2 e, ou, produzir fitohormônios, possibilitaria conduzir o manejo da cultura de maneira mais adequada para promover melhor desenvolvimento da mesma em ambiente salino e, portanto incremento na retirada de sais do solo, contribuindo no processo de fitorremediação.

A utilização desses microrganismos para o melhoramento desses solos tem sido realizada por meio de associações microbianas com o sistema radicular das plantas, que promove um desenvolvimento mais vigoroso das espécies em áreas com problemas de salinidade e sodicidade (Silva et al., 2008).

Estudos sobre este tema ainda são escassos, sendo necessárias pesquisas que identifiquem microrganismos que possam, juntamente à espécie de *Atriplex*, promover a remediação de solos salinos.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade biológica e isolar bactérias presentes em solo salino sódico em associação ou não com plantas de *Atriplex nummularia*, que possam contribuir para o desenvolvimento desta espécie halófito e recuperação de solos afetados por sais.

Referências Bibliográficas

AGANGA, A.A.; MTHETHO, J.K.; TSHWENYANE, S. *Atriplex nummularia* (Old Man Saltbrush): A potential forage crop for arid regions of Botswana. *Pakistan Journal Nutrition*, v. 2, p.72-75, 2003.

FAO (Roma, Itália). Espécies Vegetales para las Zonas Aridas y Semiáridas de Chile y México. Roma, 1996. 146 p. (FAO: Zonas Áridas y Semiáridas, 10).

FLOWER, T. J.; TROKE, P.F.; YEO, A.R. The Mechanism of Salt Tolerance in Halophytes. *Annual Review of Plant Physiol.*, Palto Alto, v. 28 p. 89-121, 1977.

FRANCLET, A.; LE HOUÉROU, H. N. Les *Atriplex* en Tunisie et en Afrique du Nord. Roma: FAO, 1971. 249 p. (FAO Report Technique, 7).

GHEYI, H.R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T.; ASSIS, R.N.; ROMERO, R.E. & SILVA, J.R.C., eds. Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido. Fortaleza, Universidade Federal do Ceará, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p.329-345.

KELLEY, D.B.; GOODIN, J. R.; MILLER, D.R. Biology of *Atriplex*. In: Sen, D. N.; Rajpuorohit, K. S. *Tasks for vegetation Science*, v. 2, p. 79-107, Junk Publ., 1982.

KYAW, C.M. Domínio Archaea. Disponível em: <<http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/archaea/archaea.html>>. Acesso em: 30 de outubro de 2009.

LEAL, I. G.; ACCIOLY, A. M. A.; NASCIMENTO, C. W. A.; FREIRE, M. B. G. S.; MONTENEGRO, A. A. A.; FERREIRA, F. L. Fitorremediação de solo salino sódico por *Atriplex nummularia* e gesso de jazida. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, p. 1065-1072, 2008.

LOVATO, M.B. Variabilidade genética da tolerância salina em populações de *Stylosanthes humilis* H. B. K. de diferentes regiões ecogeográficas do Estado de Pernambuco. Piracicaba, 1991. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2a ed. London: Academic Press Inc., 1995. 889 p.

MIRANDA, J.R.P. Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de Cajueiro Anão-Precoce (*Anacardium occidentale* L.) e de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Minas Gerais, 2000. 186p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras.

OBRAS contra as secas: objetivos, programas, ação da Inspeção, resultados. *Boletim da Inspeção Federal de Obras Contra as Secas*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 157-197, out./dez/1938.

OETTERER, M. O processo de fermentação do pescado (Anchovamento). USP/ ESALQ. LAN.662. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Fermentacao%20do%20pescado.pdf>>. Acesso em: 30 de outubro de 2009.

O’LEARY J. W. The role of Halophytes irrigated Agriculture. In: Potential roles of Halophytes. Cap. 16, p. 285–300, 1990.

OLIVARES, A. Los arbustos del género *Atriplex* y su importancia como especies forrageras. In: Actas del encuentro del estado de las investigaciones sobre manejo silvopastoral en Chile. Proyecto CONAF/PNUD/FAO. Talca, Universidad de Talca, Dpt°. Ing. Florestal. P. 5-13, 1983.

OLIVEIRA, J.B. de; JACOMINE, P.K.T.; CAMARGO, M.N. Classes gerais de solos do Brasil: guia auxiliar para seu reconhecimento. 2 ed. Jaboticabal, FUNEPE, 201p. 1992.

PEREIRA, J. R.; VALDIVIESO, C. R.; CORDEIRO, G. G. Recuperação de solos afetados por sais através do uso do gesso. In: Seminário sobre o uso do fosfogesso na agricultura, Brasília. p.85-105, 1985.

PORTO, E. R.; DUTRA, M. T. D.; AMORIM, M. C. C.; ARAÚJO, G. G. L. Uso da erva-sal (*Atriplex nummularia*) como forrageira irrigada com água salina. Circular Técnica da Embrapa Semi-Árido. Setembro, 2000. 9p.

RIBEIRO, M. R.; BARROS, M. F. C.; FREIRE, M. B. G. S. Química dos solos salinos e sódicos. In: Melo, V. F.; ALLEONI, L. R, eds. Química e Mineralogia do Solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 2., p. 449- 484, 2009.

RIBEIRO, M. R.; FREIRE, F. J.; MONTENEGRO, A. A. Solos halomórficos no Brasil: Ocorrência gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: CURI, N.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVAREZ, V, eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3. p. 165-208, 2003.

SANTANA, L.M. de; SILVA, A.F. Características de solos do litoral onde ocorre o guajuru (*Chrysobalanus icaco* L.) e teores de N, P, K e Na nos órgãos desta espécie. Revista Ceres. v.47, p. 169-179, 2000.

SANTOS, H.; LAMOSA, P.; COSTA, M. S. Extremófilos: microrganismos à prova de agressões ambientais extremas. Boletim de biotecnologia. Lisboa., v. 69. p. 2-10, 2001.

SHARMA, M. L. Aspects of salinity and water relations of australian chenopods. In: SEN, D. N.; RAJPUROHIT, K. S. Contributions to the ecology of halophytes. Hague: W. Junk, 1982. Cap. 4, p. 155-175. Tasks for Vegetation Science.

SILVA, A. J. N.; CARVALHO, F. G.; STAMFORD, N. P.; SILVA, V. N. Processos microbiológicos na recuperação de solos salinos. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H.

A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S., eds. *Microorganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. Guaíba, RS, Agrolivros, p. 547- 566, 2008.

SQUIRE, V. R.; AYOUB, A. T. *Halophytes as a resource for livestock and for rehabilitation of degraded lands*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publ., 315, p 1994.

STAMFORD, N.P.; STAMFORD, T.L.M.; ANDRADE, D.E.G.T.; MICHEREFF, S.J. *Microbiota dos Solos Tropicais*. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D.E.G.T. & MENEZES, M., eds. *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais Recife*, PE. p. 399, 2005.

ZHU, J.K. *Plant salt tolerance*. *Trends Plant Sci.*, 6:66-71, 2001.

Capítulo I

Atividade biológica em solo salino sódico sob cultivo de *Atriplex nummularia*

Biological activity in saline sodic soil under cultivation of *Atriplex nummularia*

Resumo

Solos afetados por sais são comumente encontrados no Nordeste brasileiro, comprometendo seu uso agrícola. Nestes solos, pouco se conhece a respeito da microbiota existente, especialmente a cerca da atividade microbiana. Em algumas dessas áreas têm-se testado a técnica da fitorremediação com plantas halófitas do gênero *Atriplex*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar a atividade microbiana de um solo salino sódico do Agreste do Estado de Pernambuco, na presença e ausência de plantas de *Atriplex nummularia*. Para isso, realizaram-se amostragens de solo a 20 cm de profundidade em diferentes situações: solo sem cultivo, solo coletado a 20 cm da planta e solo coletado a 125 cm da planta; em dois períodos distintos, na época chuvosa e seca. Nas amostras de solo foram feitas análises de C e N da biomassa microbiana, respiração basal, e C e N total dos solos. Verificou-se uma tendência de aumento da atividade dos microrganismos com a proximidade das raízes das plantas de *Atriplex*, mostrando que, além de ser uma planta viável para ser utilizada para fitorremediação de solos afetados por sais, esta ainda promove uma melhoria da microbiota do solo.

Palavras-chave: Microrganismos, salinidade de solos, biomassa microbiana

Abstract

Salt affected soils are commonly found in the Brazilian Northeast, undermining its agricultural use. In these soils, little is known about the existing microbiology, especially around the microbial activity. In some of these areas have been tested with the technique of phytoremediation with halophytes of the genus *Atriplex*. Therefore, the aim of this study was to assess the microbial activity of a saline sodic soil of the Agreste of the state of Pernambuco, in the presence and absence of plants of *Atriplex nummularia*. For that, there were samples of soil to 20 cm depth in different situations: uncultivated soil, soil collected 20 cm from the plant and soil collected at 125 cm from the plant, in two distinct periods, in the rainy and dry season. Soil samples were analyzed for C and N microbial biomass, basal respiration and C and N total of soils. There was a tendency to increase the activity of microorganisms with the proximity of plant roots of *Atriplex*, showing that, besides being a viable plan to be used for phytoremediation of soils affected by salt, it still promotes an improvement of soil microbes.

Keywords: microorganisms, soil salinity, microbial biomass

Introdução

A salinização é um processo de degradação do solo que vem aumentando em todo o mundo (Liang et al., 2005). Quantidades excessivas de sais proporcionam uma série de efeitos adversos nas propriedades físicas e químicas do solo, processos microbiológicos e no crescimento de plantas (Levy, 2000; Sardinha et al., 2003). Algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas em solos salinos e o declínio das comunidades bacterianas, além do declínio da sua atividade, vem sendo evidenciada em muitos estudos (Sardinha et al., 2003). Entretanto, tanto diminuições quanto aumentos na mineralização do C e N com o aumento da salinidade têm sido observados (Pathak & Rao, 1998).

A biomassa microbiana do solo é uma reserva livre de matéria orgânica que é responsável por 1 a 3% do total da matéria orgânica do solo (Jenkinson & Ladd, 1981). Essa biomassa atua como fonte de nutrientes requeridos pelas plantas (Smith & Paul, 1990) e regulam o funcionamento do solo. A cobertura vegetal afeta diretamente a quantidade e qualidade dos níveis da biomassa microbiana no solo (Wardle, 1992). A atividade respiratória da biomassa microbiana tem sido utilizada para analisar os efeitos dos fatores ambientais e a população microbiana (Campbell et al., 1991; Anderson & Domsch, 1993). Essas mensurações são extremamente sensíveis às mudanças qualitativas e quantitativas em relação à matéria orgânica presente no solo e quanto à manutenção da estabilidade do ecossistema (Insam, 1990).

A atividade biológica do solo em relação ao crescimento de plantas e ao manejo de solos afetados por sais ainda é pouco estudada, podendo representar mais um importante fator na recuperação de áreas degradadas pela salinidade e sodicidade. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade microbiana de um solo salino sódico do Agreste do Estado de Pernambuco.

Material e Métodos

Para a análise da atividade microbiana, amostras de solo foram coletadas em um experimento de campo, com o cultivo de plantas de *Atriplex nummularia* implantado em setembro de 2008, visando a recuperação de Neossolo Flúvico salino sódico, localizado no Município de Pesqueira (PE) (Souza, 2010). Foram realizadas duas coletas de amostras de solo: uma no período chuvoso (agosto/2009), quando o solo da área experimental encontrava-se completamente saturado por água e outra no período seco (dezembro/2009). As principais

características do solo no início do experimento (setembro/2008) eram: textura média (120 g kg⁻¹ de argila, 500 g kg⁻¹ de silte e 380 g kg⁻¹ de areia), estimada através do método do peneiramento para a separação da fração areia com posterior utilização da sedimentação para a estimativa da quantidade de silte e argila presentes na amostra de acordo com a lei de Stokes; densidade do solo=1,68 g cm⁻³, estimada através do método do anel volumétrico; pH=9,1, CEes=21,49 dS m⁻¹, Na⁺ solúvel=277,29 mmol_c L⁻¹, Cl⁻ solúvel=223,78 mmol_c L⁻¹, PST=30,51% e COT=0,73 dag kg⁻¹, todas as análises químicas e físicas seguiram a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997). O experimento foi conduzido em delineamento experimental em blocos casualizados, com três tratamentos: planta cultivada sem regime de poda, planta sob regime de poda aos seis e doze meses e o tratamento testemunha, sem cultivo de Atriplex, em quatro repetições.

Foram coletadas amostras de solo na camada de 0-20 cm em três locais distintos por bloco: 1) nas proximidades das raízes (20 cm do colo da planta); 2) no ponto intermediário do espaçamento entre plantas (125 cm), sendo estes feitos nas plantas submetidas ou não à poda, 3) e na área sem cultivo das plantas (tratamento testemunha). O experimento foi montado em blocos casualizados (4 ao todo), resultando em um total de 20 amostras coletadas do experimento.

Imediatamente após a coleta, as amostras de solo foram armazenadas sob refrigeração e transportadas ao laboratório para o procedimento das análises. As amostras de solo foram submetidas à secagem parcial quando coletadas em período chuvoso, tendo em vista a saturação do solo por água, com posterior tratamento de peneiramento para desagregação dos torrões. No período seco não foi necessária secagem, sendo realizado apenas o peneiramento. Posteriormente amostragens foram tomadas para estimativa da capacidade de campo. Antes das análises referentes a atividade biológica a umidade nas amostras foi ajustada para 60% da capacidade de campo com a finalidade de ativar o metabolismo da biomassa presente no solo.

A respiração basal microbiana (RBS) foi determinada pelo método da estimativa do CO₂ onde este é adsorvido em NaOH presente em potes fechados e posteriormente determinado por titulação com HCl (Alef & Nannipieri, 1995); o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM) foram determinados pelo método da fumigação-extração, onde foi realizada a análise da biomassa microbiana extraível em solução aquosa de sulfato de potássio (K₂SO₄) a 0,5M (Vance et al., 1987). A fumigação do solo com o clorofórmio, além de matar, rompe as células microbianas liberando o constituinte microbiano, principalmente o citoplasma, para o solo e permitindo assim sua extração (Powelson & Jenkinson, 1976); o carbono total do solo (COT) foi mensurado pelo método

adaptado por Yeomans & Bremner (1988) e o nitrogênio total do solo (NT) foi determinado pelo método adaptado de Bremner & Mulvaney (1982) e Tedesco et al. (1995).

Com os resultados obtidos, foram calculados o quociente metabólico (qCO_2), representado pela razão: (respiração basal)/(carbono da biomassa microbiana), esta relação entre o CO_2 acumulado e o total do CBM prediz que, à medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente em utilizar os recursos em seu meio, menos C é perdido como CO_2 pela respiração, podendo este ser incorporado aos tecidos microbianos; o quociente microbiano (qMIC), calculado pela relação entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo, segundo a expressão: $qMIC = CBM/COT$, que indica quanto do carbono está imobilizado na forma microbiana; a relação NBM/NT, que expressa quanto do nitrogênio está retido nos microrganismos; a relação entre o carbono e o nitrogênio da biomassa (CBM/NBM); bem como a relação entre o carbono e o nitrogênio total do solo (C/N).

Os dados resultantes do trabalho foram analisados através das medidas de estatística descritiva, onde os resultados foram avaliados considerando os parâmetros: média (tendência central) e coeficiente de variação (variabilidade).

A análise de componentes principais (ACP) foi aplicada como técnica de análise intermediária e a análise de agrupamento (AA) se constituiu em um método finalizador e conclusivo. Todos os procedimentos estatísticos multivariados foram realizados com o software STATISTICA 8.0. Esta análise visou a comparação dos diferentes tratamentos separadamente e também em conjunto, para cada coleta de solo.

Resultados e Discussão

Solo coletado no período chuvoso

A matriz de correlação obtida através da Análise de Componentes Principais (ACP) das variáveis biológicas do solo mostra um número significativo de correlações com valores altos entre algumas variáveis estudadas (Quadro 1). Correlações altas entre estas variáveis podem ser importantes e explicar relações fundamentais para a manutenção da estabilidade da microbiota do solo. Pelos valores das correlações encontradas, é possível verificar que as variáveis RBS, COT, NT, qMIC, qCO_2 , dependendo da variável com a qual estão relacionadas, explicaram mais do comportamento da biota no solo, por conta de seus altos valores de correlação.

Como exemplo, pode-se analisar as relações positivas, do C e do N totais do solo em relação à RBS, que indica quanto do aumento da respiração basal está relacionada ou é explicada pelos aumentos nos teores de C e N do solo.

Quadro 1. Matriz de correlação das variáveis biológicas obtidas em Neossolo Flúvico coletado no período chuvoso (agosto/2009), no município de Pesqueira, PE

	RBS	CBM	COT	qMIC	qCO ₂	NBM	CBM/NBM	NT	C/N	NBM/N
RBS ¹	1,00	-0,47	<u>0,81</u>	<u>-0,80</u>	<u>0,89</u>	0,34	-0,68	<u>0,79</u>	0,18	0,08
CBM ²		1,00	-0,14	<u>0,88</u>	<u>-0,76</u>	0,52	-0,30	-0,26	0,39	0,79
COT ³			1,00	-0,54	0,50	0,73	-0,84	<u>0,98</u>	-0,03	0,42
qMIC ⁴				1,00	<u>-0,91</u>	0,09	0,15	-0,60	0,15	0,42
qCO ₂ ⁵					1,00	-0,10	-0,30	0,52	0,11	-0,33
NBM ⁶						1,00	-0,84	0,62	0,31	0,91
CBM/NBM ⁷							1,00	-0,74	-0,36	-0,73
NT ⁸								1,00	-0,21	0,27
C/N ⁹									1,00	0,54
NBM/N ¹⁰										1,00

¹ Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ solo hora⁻¹); ² Carbono da biomassa microbiana (mg de C-CBM kg⁻¹ solo seco); ³ Carbono orgânico total do solo (dag kg⁻¹); ⁴ Quociente microbiano (%); ⁵ Quociente metabólico (mg C-CO₂ mg⁻¹ C-CBM dia⁻¹); ⁶ Nitrogênio da biomassa microbiana (mg de N-NBM kg⁻¹ solo seco); ⁷ Relação entre o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana; ⁸ Nitrogênio total do solo (dag kg⁻¹); ⁹ Relação entre o carbono e o nitrogênio totais do solo; ¹⁰ Relação entre nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo.

A RBS responde sensivelmente a mudanças de fatores ambientais e, por isso, é uma quantificação importante, tendo em vista que representa a atividade biológica geral do solo estudado. Nas correlações positivas entre a RBS e COT e o NT, há uma indicação de maiores concentrações desses elementos no solo, que proporcionam uma maior concentração de microrganismos e, conseqüentemente, uma maior taxa de respiração no solo. A importância dessa relação é altíssima, pois solos com maior biomassa de microrganismos conseguem promover melhores condições para o estabelecimento de plantas.

Pode-se, ainda, observar a alta correlação positiva entre o COT e o NT, que se aproxima do valor máximo da correlação. O carbono total tem grande influência sobre as propriedades químicas, disponibilidade de nutrientes e atividade microbiana no solo (Bayer & Mielniczuk, 2008). Um aumento da atividade microbiana provavelmente promoverá crescimento na população de microrganismos capazes de fixar nitrogênio, de forma que uma associação entre estes elementos é de fundamental importância para a manutenção da microbiota e da fertilidade do solo.

Altas correlações negativas, indicando aumento de uma variável em função da diminuição da outra foram observadas entre a RBS e o qMIC, entre o qMIC e o qCO₂, e entre o qCO₂ e o CBM. Todas as relações envolvem o CBM, indicando que esta é uma variável fundamental e decisiva para a manutenção da atividade microbiana.

Bezerra et al. (2008), trabalhando com atividade microbiana relacionada à cana-de-açúcar, encontraram resultados semelhantes, com correlação negativa entre o qCO_2 e CBM; contudo, Santos et al. (2004), trabalhando com Planossolo sob diferentes sistemas de manejo, encontraram correlações positivas entre a RBS e o $qMIC$, resultados estes que discordam dos encontrados neste trabalho.

Como o qCO_2 é a relação entre a RBS e o CBM, um alto valor de RBS relacionado a um baixo valor de CBM, resulta em um alto valor de qCO_2 , gerando possivelmente resultados de correlação positivos e altos, como o demonstrado na matriz de correlação. Este resultado é diferente do encontrado por Bezerra et al. (2008), que encontraram uma correlação negativa e baixa para as mesmas variáveis citadas. Por analogia, o valor negativo da correlação entre o CBM e o qCO_2 mostra o inverso entre essas duas variáveis; enquanto o CBM e o $qMIC$ se relacionam positivamente.

Solos com elevados teores de sais, como o deste estudo, podem apresentar limitações ao desenvolvimento de plantas e microrganismos, que podem promover a queda da população microbiana e, portanto, de sua atividade. Por outro lado, como os teores de COT e NT estão correlacionados positivamente com a RBS do solo, isso levaria à diminuição nessas variáveis acompanhando a RBS do solo (Quadro 2). Santos et al. (2004), trabalhando com diferentes sistemas de manejo em Planossolo, observaram que solos sem cultivo agrícola possuíam maiores valores de RBS, qCO_2 , COT e NT. Estes autores ainda observaram que quanto maior o estresse causado pelos diferentes sistemas de manejo, menores eram os valores das variáveis citadas.

Baixas relações C/N, indicam maior taxa de decomposição dos resíduos orgânicos, do que em relações mais elevadas (Aita & Giacomini, 2003). Esta relação variou entre 7,73 e 14,96 entre os solos estudados, dependendo da localização em relação à planta de *Atriplex nummularia*, com valores médios entre 10,33 e 11,51 (Quadro 2). Observou-se maior relação C/N no solo sem interferência da planta (Testemunha) em relação aos solos localizados próximos às raízes, indicando maior decomposição da matéria orgânica nas proximidades das raízes da *Atriplex*, provavelmente, em função da maior incidência de microrganismos promotores da decomposição. Em contrapartida, o valor máximo da relação C/N encontrado na CPR, que deveria estar menor, por conta da alta população microbiana, ficou próximo do valor verificado no tratamento testemunha. Provavelmente, isso se deve à recuperação da poda drástica pela qual a planta havia sido submetida, poda esta que imobilizou estes microrganismos em prol da possível reestabilização da biomassa, fazendo com que estes apenas mantivessem a atividade de decomposição, após um equilíbrio local.

Quadro 2. Medidas estatísticas descritivas dos atributos biológicos das amostras de solos coletadas em período chuvoso, correspondentes aos pontos SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha)

Variável biológica	Amostra	M	MIN	MAX	CV
RBS mg C-CO ₂ kg ⁻¹ solo hora ⁻¹	SRSP	0,364	0,103	0,736	85,850
	SRCP	0,531	0,207	0,753	45,120
	SPR	1,407	0,631	2,637	61,120
	CPR	1,351	1,128	1,897	27,248
	T	0,497	0,166	0,856	56,983
CBM mg C-CBM kg ⁻¹ solo seco	SRSP	89,312	27,259	184,303	81,778
	SRCP	63,101	26,050	120,417	67,355
	SPR	77,712	37,173	130,502	57,443
	CPR	62,651	36,990	94,856	42,563
	T	124,489	103,158	135,184	11,832
COT dag kg ⁻¹	SRSP	0,891	0,647	1,186	31,896
	SRCP	0,872	0,634	1,014	20,807
	SPR	1,320	0,698	1,760	35,620
	CPR	1,011	0,691	1,696	45,691
	T	0,936	0,642	1,426	38,125
qMIC %	SRSP	0,013	0,002	0,028	97,119
	SRCP	0,008	0,003	0,015	73,236
	SPR	0,006	0,002	0,011	54,747
	CPR	0,006	0,005	0,009	27,863
	T	0,015	0,009	0,021	40,653
qCO ₂ mg C-CO ₂ mg ⁻¹ C- CBM dia ⁻¹	SRSP	0,006	0,001	0,014	99,223
	SRCP	0,013	0,002	0,025	75,377
	SPR	0,019	0,012	0,026	31,527
	CPR	0,026	0,013	0,051	66,739
	T	0,004	0,001	0,006	54,446
NBM mg N-NBM kg ⁻¹ de solo seco	SRSP	7,411	3,565	12,742	58,851
	SRCP	6,100	1,804	14,710	97,569
	SPR	25,074	18,833	31,953	23,054
	CPR	7,232	3,692	9,224	34,373
	T	20,731	8,793	50,339	95,517
CBM/NBM	SRSP	17,706	4,010	51,695	128,403
	SRCP	23,155	2,467	66,734	126,935
	SPR	3,148	1,391	4,767	54,433
	CPR	11,084	4,010	25,691	89,416
	T	9,330	2,685	15,164	56,473
NT dag kg ⁻¹	SRSP	0,087	0,055	0,116	28,800
	SRCP	0,081	0,070	0,093	11,934
	SPR	0,124	0,074	0,168	30,818
	CPR	0,094	0,060	0,171	55,040
	T	0,081	0,065	0,116	29,865
C/N	SRSP	10,333	7,734	11,688	18,024
	SRCP	10,794	7,582	12,816	21,113
	SPR	10,747	7,318	13,551	27,118
	CPR	11,209	9,250	14,086	19,199
	T	11,506	8,961	14,960	23,358
NBM/N %	SRSP	0,010	0,004	0,023	88,396
	SRCP	0,008	0,003	0,019	99,828
	SPR	0,023	0,015	0,043	58,715
	CPR	0,010	0,002	0,014	55,626
	T	0,029	0,010	0,077	109,802

M – média; Min – valor mínimo; Max – valor máximo; CV – coeficiente de variação.

Os resultados da relação CBM/NBM foram, em sua maioria, maiores do que aqueles observados por Barreto et al. (2008) que, trabalhando com solos cultivados com eucalipto, chegaram a valores médios que variaram entre 2,13 e 3,91. Isso indica a presença de elevadas populações microbianas no solo estudado neste trabalho, sugerindo que os microrganismos presentes, mesmo em ambiente extremamente salino ($CEs=23,65 \text{ dS m}^{-1}$), estão adaptados, possivelmente por possuírem mecanismo(s) de halotolerância aos sais presentes no solo.

Na análise de componentes principais, a variância contida em cada componente principal gerado é expressa pelos autovalores da matriz padronizada, de tal forma que o maior autovalor está associado ao primeiro componente principal (CP), o segundo maior autovalor ao segundo CP, e assim por diante, até que o menor autovalor esteja associado ao último CP, colocando os primeiros como os mais importantes. Sendo assim, os primeiros componentes principais gerados pela ACP explicam a maior parte da variância dos dados originais. Conforme critério de seleção dos componentes citados preferiu-se adotar a retenção dos componentes que explicaram mais de 70% da variância (Santos, 2010).

No Quadro 3 estão apresentados os autovalores, as percentagens das variâncias associadas aos CPs e a percentagem cumulativa. Neste caso, observa-se que a CP1, juntamente com a CP2, explicam 86,36% da variação dos dados obtidos. Por isso, um estudo de todas as variáveis com apenas a informação dessas duas CPs, não ocasionaria perdas relevantes de informações.

Quadro 3. Autovalores e variâncias dos componentes principais obtidas com os atributos biológicos do solo coletado no período chuvoso

Componente principal	Autovalor	% da variância total	Autovalor cumulativo	% Cumulativa
CP1	4,86	48,57	4,866	48,57
CP2	3,78	37,79	8,64	86,36
CP3	1,17	11,75	9,81	98,11
CP4	0,19	1,89	10,00	100,00

A importância de uma variável é analisada pela sua correlação com os CPs selecionadas. Essa avaliação é feita através dos *loadings* (pesos) das variáveis calculados pela ACP, de forma que, quanto maior o valor modular do *loading* da variável analisada, maior a correlação com o CP a ela associada. Deste modo, é possível identificar quais variáveis estão correlacionadas com cada CP e qual a importância de cada variável para os objetivos da pesquisa (Santos, 2010).

Utilizando a mesma consideração feita para o Quadro 3, no Quadro 4 são apresentadas as correlações que foram mais importantes para o estudo as variáveis, ou seja, aquelas que se correlacionaram com os CPs 1 ou 2.

Houve uma distribuição entre as variáveis biológicas estudadas quanto a associação ao CP1 ou CP2 (Quadro 4). As variáveis mais importantes quanto aos tratamentos estudados foram: RBS, CBM, COT, NT e NBM/N. As variáveis qMIC, qCO₂, NBM, CBM/NBM, não se mostraram tão importantes quanto as citadas anteriormente, mas também contribuíram para o resultado final da análise do solo em questão. Segundo Mingoti (2005), as variáveis que apresentam uma menor correlação com os CPs selecionadas, são consideradas menos discriminantes na distinção dos tratamentos.

De posse dos valores das variáveis geradas para os CPs estudadas anteriormente, foram gerados valores dos locais de amostragem, também conhecidos por *Scores* que demarcam os pontos relacionados a cada local de amostragem em um gráfico de pontos. Como visto nos Quadros 3 e 4, os dois CPs utilizados, geraram um gráfico bidimensional, para as amostras de solo coletadas no período chuvoso (Figura 1).

Quadro 4. Correlações (loadings) dos atributos biológicos analisados com os componentes principais (CPs) obtidos para solos coletados em período chuvoso

Variáveis	CP1	CP2
RBS ¹	<u>-0,942881</u>	-0,222211
CBM ²	0,294644	<u>0,947687</u>
COT ³	<u>-0,956875</u>	0,149786
qMIC ⁴	0,688478	<u>0,691702</u>
qCO ₂ ⁵	<u>-0,712479</u>	-0,592189
NBM ⁶	-0,597368	<u>0,762471</u>
CBM/NBM ⁷	<u>0,812372</u>	-0,535570
NT ⁸	<u>-0,927256</u>	0,010399
C/N ⁹	-0,116138	0,468377
NBM/N ¹⁰	-0,305938	<u>0,944542</u>

¹ Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ solo hora⁻¹); ² Carbono da biomassa microbiana (mg de C-CBM kg⁻¹ solo seco); ³ Carbono orgânico total do solo (dag kg⁻¹); ⁴ Quociente microbiano (%); ⁵ Quociente metabólico (mg C-CO₂ mg⁻¹ C-CBM dia⁻¹); ⁶ Nitrogênio da biomassa microbiana (mg de N-NBM kg⁻¹ solo seco); ⁷ Relação entre o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana; ⁸ Nitrogênio total do solo (dag kg⁻¹); ⁹ Relação entre o carbono e o nitrogênio totais do solo; ¹⁰ Relação entre nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo.

Sabendo-se que valores positivos para o CP1 tendem a posicionar um ponto do lado direito do gráfico, e negativos do lado esquerdo, enquanto para o CP2, valores positivos posicionam o ponto mais acima do gráfico e os negativos mais abaixo da linha central deste (Figura 1).

Observa-se no Quadro 4 que as variáveis RBS, COT, qCO₂ e NT apresentam correlação negativa quanto ao CP1, mostrando que estas têm os seus valores médios aumentados quando indo da direita para esquerda do gráfico. Já a variável CBM/NBM, correlacionou-se positivamente, tendo seu valor médio aumentado da esquerda para a direita do gráfico. Quanto ao CP2, as variáveis CBM, qMIC, NBM e NBM/N correlacionaram-se positivamente, indicando que seus valores médios aumentam de baixo para cima do gráfico.

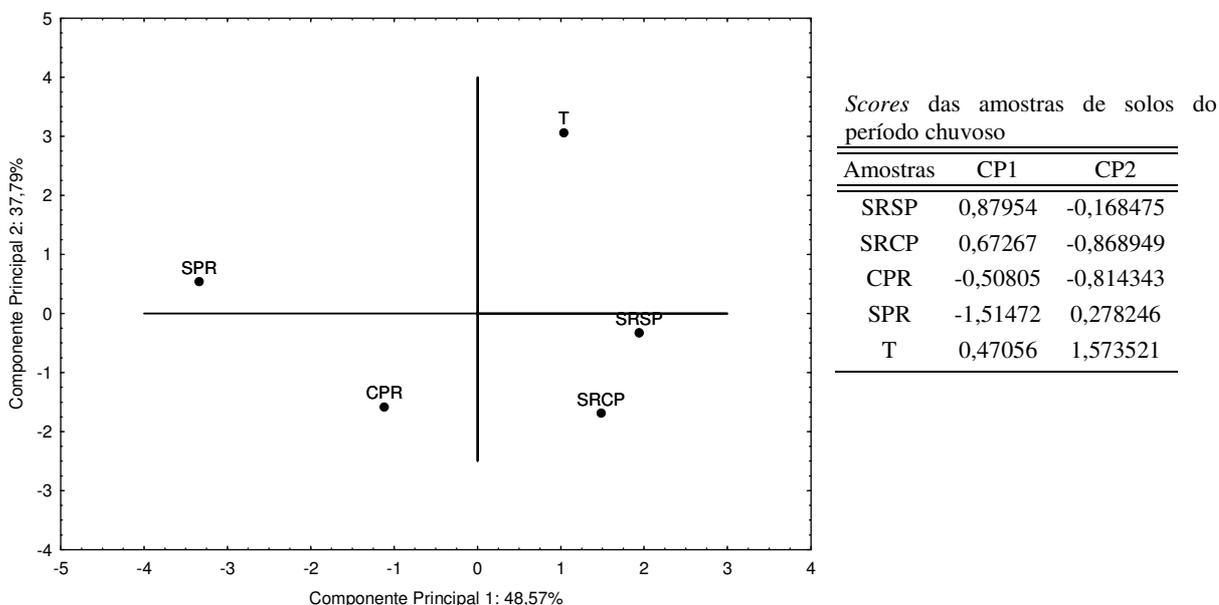


Figura 1- Representação gráfica dos *scores* dos locais de amostragem SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha), obtidos nos solos coletados em período chuvoso. Proximidade entre tratamentos indica semelhança de acordo com a análise de componentes principais.

Correlações positivas com o CP1, e aquelas negativas não tão discriminantes no CP2, aproximaram os usos SRSP e SRCP (Figura 1). As correlações negativas do CP1 foram as mais importantes pelo distanciamento dos tratamentos SPR e CPR, do T. Sendo que este último, provavelmente ficou isolado, por conta dos valores positivos em ambos os CPs para o CBM e qMIC, provavelmente por conta do alto grau de estresse pelo qual os microrganismos vem passando nos solos sob condição extremamente salina. Isso fica mais nítido ao se observar o dendrograma que representa os resultados obtidos por meio da análise de agrupamento (AA), em que as amostras de SRCP e SRSP se aproximam, distanciando-se da testemunha e mais ainda das amostras de SPR e CPR (Figura 2).

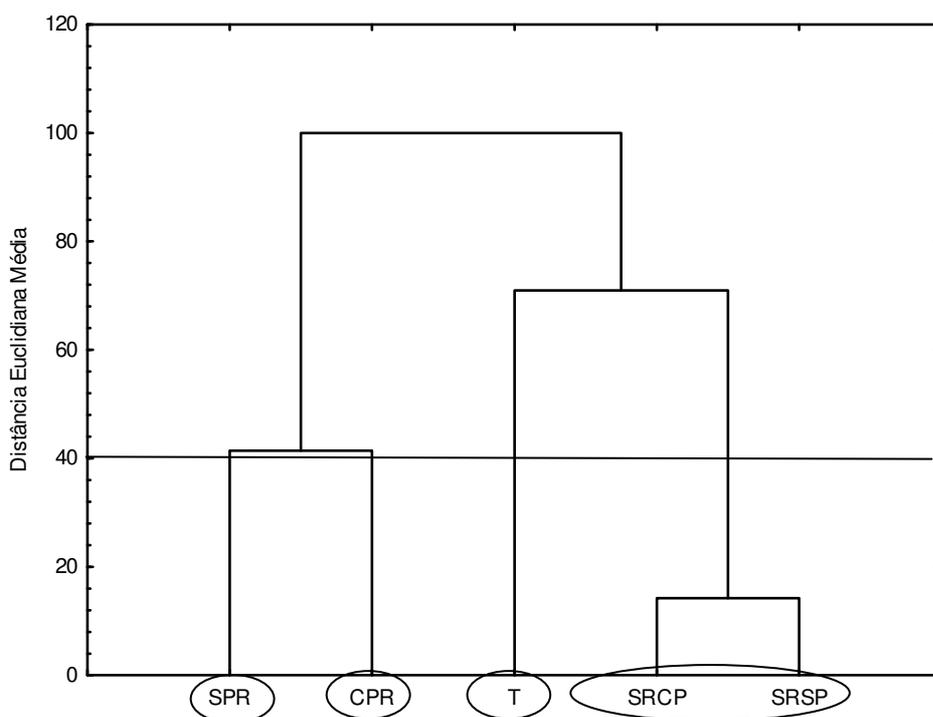


Figura 2- Dendrograma resultante da análise de grupamento dos locais de amostragem no solo coletado no período chuvoso, utilizando a distância euclidiana média como coeficiente de similaridade e o algoritmo de WARD como método de agrupamento.

A linha de corte existente na figura 2 foi determinada com base na distância entre os grupos (primeiro maior salto de valor entre os mesmos). Desta forma, houve a geração de 4 grupos distintos. Na geração dos grupos, verificou-se que as únicas amostras que se agruparam foram as coletadas no solo a 125 cm das plantas, que sofriam pouca interferência das raízes, submetidos ou não a poda.

As amostras coletadas a 20 cm das plantas isolaram-se em grupos distintos em função do corte realizado durante a poda, indicando que este trato cultural nas plantas interfere na atividade biológica do solo próxima as raízes, provavelmente pela tentativa de restabelecimento das condições homeostáticas locais por parte da planta, alterando as condições para o desenvolvimento da microbiota do solo.

Na amostra de solo coletada no tratamento testemunha, pelo fato de não ter a influência das raízes, e ser um solo extremamente salino, permaneceu isolado, possivelmente por conta de uma redução drástica da microbiota do solo naquelas condições, tendo em vista que os solos sob a ação da fitoextração por *Atriplex nummularia*, apresentam melhores condições de adaptação e sobrevivência aos microrganismos em solos salinos. Em trabalho realizado com *Atriplex nummularia* e irrigação destas com rejeitos salinos, Pereira et al. (2004), observaram que houve um aumento da atividade microbiana, estimulada pelo plantio da *Atriplex*.

Solo coletado no período seco

No período seco, além da deficiência hídrica nos solos, a salinidade também aumenta pelo acúmulo da concentração de sais, dificultando ainda mais a sobrevivência dos seres vivos, que ficam limitados às espécies mais adaptadas a estas condições. Isso também reduz o período de produção e acréscimo de compostos orgânicos aos solos em regiões sob clima árido e semi árido, o que justifica os baixos teores de matéria orgânica encontrados nestes solos. D'Andréa et al. (2004) ressaltam que em solos com cobertura vegetal natural, há uma manutenção nos níveis de matéria orgânica no solo, mas que ao ser alterado esse equilíbrio apenas retorna quando é alcançado um novo equilíbrio, de acordo com o sistema de manejo adotado.

Sob estas condições, a relação do COT com o NT dos solos é de fundamental importância para a manutenção de muitos processos biológicos que destes elementos necessitam. Para as variáveis analisadas nas amostras de solo coletadas no período seco, a matriz de correlação obtida através da ACP demonstra uma alta correlação entre estes dois elementos (Quadro 5).

Quadro 5- Matriz de correlação das variáveis biológicas obtidas em Neossolo Flúvico coletado no período seco (dezembro/2009), no município de Pesqueira, PE

	RBS	CBM	COT	qMIC	qCO ₂	NBM	CBM/NBM	NT	C/N	NBM/N
RBS ¹	1,00	-0,56	<u>0,88</u>	<u>-0,86</u>	0,57	-0,46	0,38	<u>0,71</u>	0,11	-0,70
CBM ²		1,00	-0,26	<u>0,74</u>	-0,52	<u>0,85</u>	-0,42	-0,33	0,27	<u>0,82</u>
COT ³			1,00	-0,62	0,30	-0,31	0,18	<u>0,91</u>	-0,11	-0,61
qMIC ⁴				1,00	-0,37	0,42	-0,12	-0,51	-0,04	0,60
qCO ₂ ⁵					1,00	-0,61	<u>0,96</u>	0,09	0,41	-0,60
NBM ⁶						1,00	-0,64	-0,46	0,44	<u>0,94</u>
CBM/NBM ⁷							1,00	0,03	0,29	-0,57
NT ⁸								1,00	-0,51	<u>-0,70</u>
C/N ⁹									1,00	0,42
NBM/N ¹⁰										1,00

¹ Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ solo hora⁻¹); ² Carbono da biomassa microbiana (mg de C-CBM kg⁻¹ solo seco); ³ Carbono orgânico total do solo (dag kg⁻¹); ⁴ Quociente microbiano (%); ⁵ Quociente metabólico (mg C-CO₂ mg⁻¹ C-CBM dia⁻¹); ⁶ Nitrogênio da biomassa microbiana (mg de N-NBM kg⁻¹ solo seco); ⁷ Relação entre o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana; ⁸ Nitrogênio total do solo (dag kg⁻¹); ⁹ Relação entre o carbono e o nitrogênio totais do solo; ¹⁰ Relação entre nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo.

Também foi verificada uma correlação alta e positiva entre o CBM e o NBM. Monteiro & Gama-Rodrigues (2004), trabalhando com serrapilheira de floresta natural, encontraram

correlações positivas, mas não tão altas como as encontradas no presente trabalho, provavelmente por conta do ambiente por eles estudado, com altas taxas de decomposição.

Observou-se, ainda, a correlação positiva entre o CBM e NBM/N, indicando que quanto maior a quantidade de CBM no solo, maior será a capacidade dos microrganismos de imobilizar o N presente no solo na forma de NBM, reforçando a correlação e a estreita associação entre o CBM/NBM.

Da mesma forma que ocorreu no solo coletado no período chuvoso, pode-se observar na matriz de correlação que a RBS está correlacionada positivamente com o COT e NT, demonstrando que maiores concentrações desses elementos no solo, proporcionam uma maior concentração de microrganismos, e conseqüentemente uma maior respiração. Indicando que independentemente do período do ano, há uma manutenção dos níveis aceitáveis para a sobrevivência dos microrganismos neste solo, mesmo sob salinidade elevada.

A correlação positiva entre o qCO_2 e a relação CBM/NBM, indica ainda que, quanto maior a relação C/N da biomassa, maior será a respiração basal envolvida, pelo fato de haver, provavelmente, uma maior concentração de microrganismos na amostra coletada e, portanto, uma maior imobilização destes elementos na microbiota do solo.

As variáveis NBM e NT correlacionaram-se com a variável NBM/N, sendo com o NBM uma correlação positiva e com o NT negativa, pelo fato que esta última baseia-se em uma relação inversamente proporcional ao NT (Quadro 5). Estas correlações constituem uma autocorrelação, que é a correlação entre uma variável e um índice obtido a partir desta variável (Monteiro & Gama-Rodrigues, 2004).

Poucas correlações foram negativas, uma de grande importância foi a da RBS em relação ao $qMIC$. Esta pode ser explicada através da correlação negativa entre a RBS e o CBM, e a correlação positiva entre a RBS e COT, tendo em vista que as variáveis CBM e COT, são integrantes do $qMIC$. Correlação negativa entre estas duas variáveis também foi encontrada no período chuvoso.

Os resultados médios dos atributos biológicos analisados nas amostras de solo coletadas no período seco (Quadro 6), quando em comparados aos resultados obtidos no período chuvoso (Quadro 2), demonstram que o teor de água presente no solo salino sódico estudado foi decisivo para a diminuição da atividade biológica neste solo nos diferentes locais de amostragem em relação à planta. No período seco, foram observados menores valores das variáveis em geral, provavelmente, pela limitação hídrica, prejudicando o metabolismo dos microrganismos, que devem diminuir os processos metabólicos gerais para economizar energia e água em processos simples como imobilização de substâncias e respiração em excesso (Cordeiro, 2000).

Quadro 6- Medidas estatísticas descritivas dos atributos biológicos dos solos coletados em período seco, correspondentes aos tratamentos SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha).

Variável	Tratamento	M	Min	Max	CV
mg C-CO ₂ kg ⁻¹ solo hora ⁻¹	SRSP	0,358	0,139	0,588	53,616
	RBS SRCP	0,629	0,488	0,866	26,253
	SPR	0,668	0,450	0,824	23,988
	CPR	0,554	0,330	0,807	35,821
	T	0,369	0,144	0,547	51,924
mg C-CBM kg ⁻¹ solo seco	SRSP	82,666	41,960	115,059	45,676
	RBS SRCP	60,567	4,040	116,148	90,396
	SPR	77,456	32,405	133,084	54,909
	CPR	49,565	20,281	87,314	56,187
	T	86,322	26,458	217,863	104,485
COT dag kg ⁻¹	SRSP	0,695	0,294	0,962	46,039
	RBS SRCP	0,783	0,532	0,979	28,000
	SPR	0,899	0,647	1,157	23,971
	CPR	0,732	0,454	1,078	35,248
	T	0,615	0,422	0,815	26,164
qMIC %	SRSP	0,017	0,004	0,039	92,478
	RBS SRCP	0,010	0,000	0,022	103,200
	SPR	0,008	0,005	0,012	37,197
	CPR	0,007	0,003	0,010	46,234
	T	0,014	0,004	0,036	106,145
qCO ₂ mg C-CO ₂ mg ⁻¹ C- CBM dia ⁻¹	SRSP	0,006	0,001	0,010	80,170
	RBS SRCP	0,044	0,004	0,139	144,220
	SPR	0,012	0,003	0,020	62,504
	CPR	0,013	0,008	0,025	57,175
	T	0,008	0,003	0,019	101,864
NBM mg N-NBM kg ⁻¹ de solo seco	SRSP	10,348	3,451	17,601	55,871
	RBS SRCP	5,150	1,727	10,404	72,820
	SPR	13,469	3,505	24,618	65,747
	CPR	5,653	3,334	7,130	31,024
	T	18,818	6,709	42,378	87,009
CBM/NBM	SRSP	9,745	4,182	17,126	58,627
	RBS SRCP	24,658	0,807	67,249	125,965
	SPR	6,792	3,382	9,245	40,272
	CPR	8,460	6,071	12,684	37,059
	T	6,342	0,677	12,525	81,227
NT dag kg ⁻¹	SRSP	0,080	0,037	0,130	50,488
	RBS SRCP	0,079	0,046	0,098	28,489
	SPR	0,094	0,079	0,116	17,560
	CPR	0,083	0,056	0,126	37,015
	T	0,060	0,051	0,075	16,641
C/N	SRSP	8,784	7,392	10,195	15,151
	RBS SRCP	10,060	7,971	11,452	15,044
	SPR	9,553	8,160	11,887	18,171
	CPR	8,888	8,167	9,702	7,591
	T	10,301	7,541	13,586	27,662
NBM/N %	SRSP	0,018	0,003	0,029	73,799
	RBS SRCP	0,006	0,004	0,011	52,559
	SPR	0,015	0,004	0,029	74,180
	CPR	0,007	0,004	0,010	39,910
	T	0,033	0,009	0,076	90,704

M – média; Min – valor mínimo; Max – valor máximo; CV – coeficiente de variação.

Os valores da relação C/N variaram entre 7,39 e 13,59, dependendo do tratamento local de amostragem do solo (Quadro 6), valores próximos aos observados no solo coletado no período chuvoso. Em geral, no solo coletado no tratamento testemunha, sem interferência das plantas, foram verificadas maiores relações C/N, superando os valores observados nas amostras de solo direta ou indiretamente envolvidos com a zona radicular, corroborando a idéia levantada na análise dos dados da primeira coleta de solo, confirmando a existência de maiores incidências de microrganismos promotores da decomposição próximos às plantas, possivelmente pelo fato de que a Atriplex promove uma melhoria nas condições locais, contribuindo para uma maior concentração de microorganismos no solo.

As variáveis qMIC e qCO₂ no período seco estavam em valores superiores aos observados nas amostras de solo coletado no período chuvoso, o que pode demonstrar um estresse dos microrganismos em relação ao meio, com maiores concentrações de sais, por conta da elevada evapotranspiração e baixo percentual pluviométrico. Gama-Rodrigues & Gama-Rodrigues (2008), trabalhando com matéria orgânica observaram que em solos com matéria orgânica de baixa qualidade nutricional, a biomassa microbiana encontra-se sob estresse e é incapaz de utilizar totalmente o C orgânico e, nesse caso, o qMIC tende a diminuir.

No Quadro 7 são apresentados os autovalores, as percentagens das variâncias associadas aos CPs e a percentagem cumulativa, observando-se que o CP2, juntamente com o CP1, explica 76,16% da variação dos dados obtidos. Por isso, um estudo de todas as variáveis com apenas a informação desses dois CPs, não ocasionaria perdas relevantes de informações. As correlações que foram mais importantes para o estudo das variáveis, ou seja, aquelas que se correlacionaram com o CPs 1 ou 2 são apresentadas no Quadro 8.

Quadro 7- Autovalores e variâncias dos componentes principais obtidos com os atributos biológicos do solo coletado no período seco

Componente principal	Autovalor	% da variância total	Autovalor Cumulativo	% Cumulativa
CP1	5,48	54,82	5,48	54,82
CP2	2,13	21,34	7,61	76,16
CP3	1,55	15,50	9,17	91,67
CP4	0,83	8,33	10,00	100,00

Houve uma distribuição entre as variáveis biológicas estudadas quanto à associação ao CP1 ou CP2, sendo as variáveis mais importantes em relação ao local de coleta das amostras:

RBS, CBM, NBM e NBM/N (Quadro 8). As variáveis COT, qMIC, qCO₂, C/N da biomassa, NT e C/N foram importantes, em valores de coeficientes menores que as primeiras citadas, mas superiores ao mínimo estabelecido, que foi de 60% de correlação, desta forma, todas as variáveis, direta ou indiretamente contribuíram para o resultado final da análise do solo em questão.

Quadro 8. Correlações (loadings) dos atributos biológicos analisados com os componentes principais (CPs) obtidos para solos coletados em período seco

Variáveis	CP1	CP2
RBS ¹	<u>0,873677</u>	0,057571
CBM ²	<u>-0,810620</u>	0,075360
COT ³	<u>0,729032</u>	0,365086
qMIC ⁴	<u>-0,759350</u>	-0,132304
qCO ₂ ⁵	0,680440	<u>-0,717583</u>
NBM ⁶	<u>-0,836794</u>	0,096523
CBM/NBM ⁷	0,580091	<u>-0,734567</u>
NT ⁸	<u>0,708816</u>	0,616991
C/N ⁹	-0,191035	<u>-0,724876</u>
NBM/N ¹⁰	<u>-0,956680</u>	-0,066390

¹ Respiração basal (mg C-CO₂ kg⁻¹ solo hora⁻¹); ² Carbono da biomassa microbiana (mg de C-CBM kg⁻¹ solo seco); ³ Carbono orgânico total do solo (dag kg⁻¹); ⁴ Quociente microbiano (%); ⁵ Quociente metabólico (mg C-CO₂ mg⁻¹ C-CBM dia⁻¹); ⁶ Nitrogênio da biomassa microbiana (mg de N-NBM kg⁻¹ solo seco); ⁷ Relação entre o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana; ⁸ Nitrogênio total do solo (dag kg⁻¹); ⁹ Relação entre o carbono e o nitrogênio totais do solo; ¹⁰ Relação entre nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo.

Com a apropriação dos dados dos valores das variáveis geradas, para os CPs analisadas, valores correspondentes a cada local de coleta das amostras em relação às plantas de Atriplex foram gerados, ou *Scores* que demarcaram os pontos relacionados a cada amostra no gráfico. Assim como na primeira coleta analisada, os dois CPs utilizados, geraram um gráfico bidimensional para as amostras dos solos coletados no período chuvoso (Figura 3).

De acordo com gráfico, os *scores* das amostras, e os resultados do Quadro 8, verifica-se quanto ao CP1, que as variáveis RBS, COT e NT tenderam a posicionar as amostras do lado direito do gráfico com médias que resultaram em maiores correlações destes, pelo fato de apresentarem correlações positivas (Figura 3). Já o CBM, qMIC, NBM e NBM/N tenderam a posicionar os valores do lado esquerdo do gráfico, por conta das correlações negativas.

Quanto ao CP2, as variáveis qCO₂, CBM/NBM e C/N tenderam a posicionar as amostras na parte inferior do gráfico, de acordo com a maior interferência dessas variáveis nas mesmas.

Devido à interferência dessas variáveis no CP1 e CP2, as amostras correspondentes ao SPR e ao CPR, ficaram mais próximas no gráfico, provavelmente em função dos altos valores

do COT e NT em relação aos encontrados nas outras amostras. As amostras T e SRSP tenderam a se agrupar no gráfico de pontos, provavelmente por conta da correlação C/N elevada em T separadamente, e NBM, CBM e NBM/N em T e SRSP, mostrando que estas amostras permaneceram juntas, possivelmente pela submissão a um estresse salino mais intenso. Isto mostra que, na época de estiagem, a poda nas plantas de *Atriplex* promove uma alternativa para a sobrevivência homeostática das espécies, já que as plantas secretam exudatos que atraem os microrganismos e os microrganismos ajudam a planta a se recuperar da poda. Fialho et al. (2006), em trabalho realizado em áreas com vegetação natural, ressaltam que a liberação dos exudatos radiculares são os fatores responsáveis pelo desenvolvimento microbiano no solo.

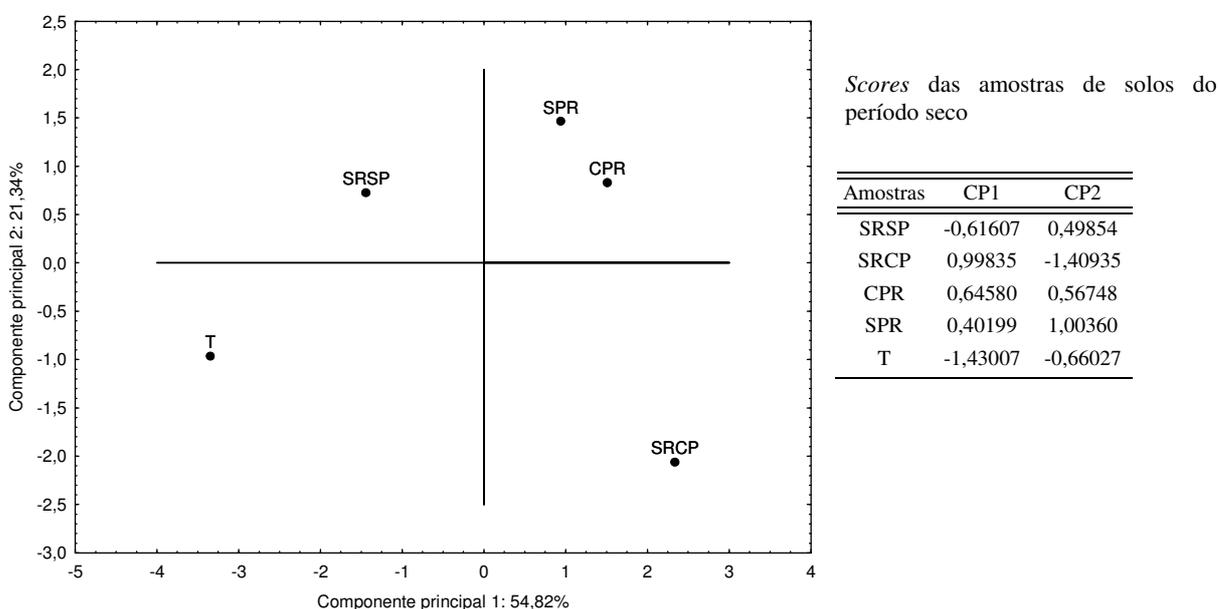


Figura 3- Representação gráfica dos *scores* das amostras SRSP (solo coletado a 125 cm da planta sem poda), SRCP (solo coletado a 125 cm da planta com poda), CPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta com poda), SPR (solo coletado a 20 cm do colo da planta sem poda), T (testemunha), obtidos nos solos coletados em período seco (dezembro/2009). Proximidade entre tratamentos indica semelhança de acordo com a análise de componentes principais.

Nas amostras de SRCP, o isolamento dos outros dois grupos deve-se ao fato de que este possui por sua vez maiores médias de qCO₂ e CBM/NBM em relação a todas as outras amostras, o que pode ser atribuído à influência da poda no aumento da RBS em relação ao CBM no solo, por conta do aumento bacteriano em resposta a liberação dos exudatos.

Com os valores das variáveis que geraram o gráfico de pontos foi construído um dendrograma, representando os resultados obtidos com a Análise de Agrupamento (AA) (Figura 4).

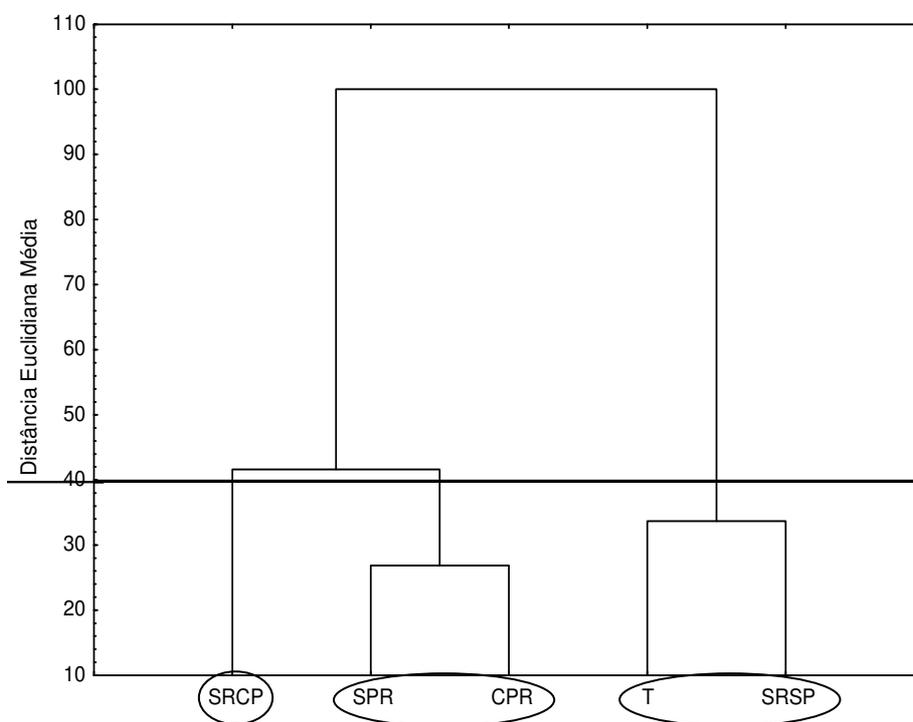


Figura 4- Dendrograma resultante da análise de agrupamento dos locais de amostragem no solo coletado no período seco, utilizando a distância euclidiana média como coeficiente de similaridade e o algoritmo de WARD como método de agrupamento.

A linha de corte demonstrada no gráfico foi determinada com base na distância entre os grupos (primeiro maior salto de valor entre os mesmos). Desta forma, houve a geração de três grupos distintos, em que as amostras de solo coletadas mais próximo às raízes das plantas de Atriplex (SPR e CPR), indicando que a aproximação das raízes promoveu maior atividade microbiana, principalmente na época da estiagem, em que os microrganismos estavam sendo submetidos a um maior estresse, sendo beneficiados pela presença de vegetação.

Seguindo o mesmo comportamento, nas amostras onde os solos foram coletados no ponto intermediário entre duas plantas (a 125 cm), a poda também influenciou para uma melhor adaptação microbiana, explicada pela similaridade entre as amostras correspondentes a T e SRSP (Figura 4).

Conclusões

- A atividade microbiana está diretamente relacionada à proximidade das raízes de plantas da espécie *Atriplex nummularia*, em condições de campo.
- As diferentes condições de umidade no solo no momento da coleta influenciaram no comportamento e metabolismo dos microrganismos.
- A poda nas plantas de *Atriplex nummularia* exerceu uma interferência importante sobre a atividade microbiana próxima às raízes da planta.

Referências bibliográficas

AITA, C., GIACOMINI, S.J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. R. Bras. Ci. Solo, v. 27, p. 601-612, 2003.

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

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ ($q\text{CO}_2$) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. Soil Biol. Biochem., v. 25, p. 393–395, 1993.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. (Eds.). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, p. 7-16, 2008.

BARRETO, P.A.B., GAMA-RODRIGUES, E.F., GAMA-RODRIGUES, A.C., BARROS, N.F., FONSECA, S. Atividade microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana em plantações de eucalipto, em seqüências de idades. R. Bras. Ci. Solo, v.32 p.611-619, 2008.

BEZERRA, R. G. D., SANTOS, T.M.C., ALBUQUERQUE, L.S., CAMPOS, V.B., PRAZERES, S.S. Atividade microbiana em solo cultivado com cana-de-açúcar submetido a doses de fósforo. Revista Verde, Rio Grande do Norte, v.3, n.4, p. 64-69, 2008.

BREMNER, J.M., MULVANEY, R.G. Nitrogen total. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, pp. 575-624. 1982.

CAMPBELL, C.A.; BIEDERBECK, V.O.; ZENTNER, R.P.; LAFOND, G. P. Effect of crop rotations and cultural practices on soil organic matter, microbial biomass and respiration in a thin black chernozem, microbial biomass and respiration in a thin black chernozem. *Can. J. Soil Sci.*, v. 71, p. 363–376, 1991.

CORDEIRO, L. Fixação de nitrogênio em leguminosas ocorrentes no cerrado. In: Klein, A.L. (Ed.), *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. UNESP, São paulo, p. 143. 2000.

D'ANDRÉA, A.F., SILVA, M.L.N., CURTI, N., GUILHERME, L. R. G. Estoque de carbono e nitrogênio e formas de nitrogênio mineral em um solo submetido a diferentes sistemas de manejo. *Pesq. agropec. bras.*, v.39, n.2, 2004, p.179-186.

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

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

GAMA-RODRIGUES, E.F. da; GAMA-RODRIGUES, A.C. da. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L.S. CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A. O. (Ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2.ed. rev. e atual. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p.159-170.

INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climate regime? *Soil Biol. Biochem.*, v. 22, p. 525–532, 1990.

JENKINSON, D.S., LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A., Ladd, J.N. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. 5. Marcel Dekker, New York, p. 415–471, 1981.

LEVY, G.J. Sodicity. In: Sumner, M.E. (Ed.), *Handbook of Soil Science*. CRC Press, Boca Raton, 2000. pp. G27–G63.

LIANG, Y., NIKOLIC, M., PENG, Y., CHEN, W., JIANG, Y. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. *Soil Biol. Biochem*, v. 37, p. 1185–1195, 2005.

MINGOTI, S.A. Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: Uma abordagem aplicada. Belo Horizonte: UFMG, p. 295, 2005.

MONTEIRO, M.T., GAMA-RODRIGUES, E.F. Carbono, nitrogênio e atividade da biomassa microbiana em diferentes estruturas de serrapilheira de uma floresta natural. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 28, p.819-826, 2004.

PATHAK, H., RAO, D.L.N. Carbon and nitrogen mineralization from added organic matter in saline and alkali soils. *Soil Biol. Biochem*, v. 30, p. 695–702, 1998.

PEREIRA, S.V., MARTINEZ, C.R., PORTO, E.R., OLIVEIRA, B.R.B., MAIA, L.C. Atividade microbiana em solo do Semi-Árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.39, n.8, p.757-762, 2004.

POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. The effects of biological treatments on metabolism in soil. II. Gamma irradiation, autoclaving, air-drying and fumigation with chloroform or methyl bromide. *Soil Biology and Biochemistry*, v.19, p.179-188, 1976.

SANTOS, P.R. Atributos do solo em função dos diferentes usos adotados em perímetro irrigado do sertão de Pernambuco. Recife, 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 112p.

SANTOS, V.B., CASTILHOS, D.D., CASTILHOS, R.M.V., PAULETTO, E.A., GOMES, A.S., SILVA, D.G. Biomassa, atividade microbiana e teores de carbono e nitrogênio totais de

um Planossolo sob diferentes sistemas de manejo. R. bras. Agrociência, v.10, n. 3, p. 333-338, 2004.

SARDINHA, M., MULLER, T., SCHMEISKY, H., JOERGENSEN, R.G. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. Appl. Soil Ecol., v. 23, p. 237–244, 2003.

SMITH, J.L., PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), Soil Biochemistry, Vol. 6. Marcel Dekker, New York, 1990. pp. 357–396.

SOUZA, E.R. Fitorremediação de Neossolo Flúvico salino sódico de Pernambuco com *Atriplex nummularia*. Recife, 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 68 p.

TEDESCO, M.J; GIANELLO, C; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre, Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 174P.

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

WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. Biol. Rev., v. 67, p. 321–358, 1992.

YEOMANS, J.C., BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of carbon in soil. Soil Sci. Plant Anal., v. 19, p. 1467-1476, 1988.

Capítulo II

Bioprospecção de bactérias associadas à *Atriplex nummularia* em ambiente salino

Bioprospecting of bacteria associated with *Atriplex nummularia* in saline environments

Resumo

O habitat associado às plantas é um ambiente dinâmico explorado por uma grande variedade de bactérias. Apesar de sua grande importância, o número de grupos bacterianos conhecidos e descritos representa apenas uma pequena fração da diversidade microbiana encontrada na natureza, principalmente em relação a solos afetados por sais. As plantas de *Atriplex* cultivadas em solos salino sódicos estimulam o desenvolvimento de bactérias, por conta da fitoextração de sais e liberação de exudatos radiculares e as bactérias atuam produzindo compostos de interesse para a planta envolvida. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi isolar bactérias presentes em um solo salino sódico no Agreste de Pernambuco e avaliá-las quanto à produção de auxina e fixação de nitrogênio, quando em associação ou não com a cultura de *Atriplex nummularia*. Bactérias endofíticas isoladas de folhas e raízes e bactérias provenientes do rizoplano, zona radicular, solo cultivado e solo sem a planta (testemunha), foram cultivadas em meio TSA 10% contendo 50 g l⁻¹ de NaCl, provenientes de duas coletas (períodos chuvoso e seco). Além disso, foram feitos testes para fixação de nitrogênio e capacidade de produzir o ácido 3-indolacético (AIA). O número total de isolados halotolerantes entre os dois isolamentos foi de 73 bactérias, sendo que 27% destas demonstraram a capacidade de executar as duas funções propostas. As bactérias associadas ao rizoplano foram aquelas que alcançaram os maiores valores de densidade populacional. Já as bactérias endofíticas de folhas e raízes obtiveram percentuais elevados quanto a fixação de nitrogênio e produção de auxina, mesmo possuindo baixos valores na densidade populacional, mostrando a importância destas para o desenvolvimento das plantas. Os resultados desse trabalho indicam que as bactérias halotolerantes associadas às plantas de *Atriplex nummularia* são capazes de fixar N e produzir AIA, principalmente em interações mais próximas com as plantas.

Palavras chave: salinidade, bactérias endofíticas, promoção de crescimento de plantas

Abstract

The habitat associated with plants is a dynamic environment operated by a variety of bacteria. Despite its importance, the number of bacterial groups known and described represents only a small fraction of microbial diversity found in nature, especially in relation to salt affected soils. *Atriplex* plants grown in saline sodic soils encourage the growth of bacteria, due to the phytoextraction of salts and release of root exudates and bacteria act to produce compounds of interest for the plant involved. Therefore, the aim of this study was to isolate bacteria from a saline sodic soil in the Agreste of Pernambuco and evaluate them as to the production of auxin and nitrogen fixation, when used in combination or not with the culture of *Atriplex nummularia*. Endophytic bacteria isolated from leaves and roots and bacteria from the rhizoplane, the root zone, soil and cultivated soil without plant (control) were cultured in a 10% TSA containing 50 g l⁻¹ NaCl, from two collections (the rainy and dry). In addition, tests were performed for nitrogen fixation and the capacity to produce 3-indole acetic acid (IAA). The total number of halotolerant strains between the two isolates was 73 bacteria, and 27% of these have demonstrated the ability to perform two functions are proposed. Bacteria associated with rhizoplane were those that reached the highest values of population density. Already endophytic bacteria from leaves and roots had high percentages as nitrogen fixation and auxin production, despite having low values on population density, showing their importance to plant development. The findings indicate that halotolerant bacteria associated with *Atriplex nummularia* plants are able to fix nitrogen and produce IAA, especially in interactions with nearby plants.

Palavras chave: salinity, endophytic bacteria, promoting plant growth

Introdução

Os processos de formação naturais dos solos em regiões quentes e secas, frequentemente, dão origem a solos salinos e com um baixo potencial agrícola. Nesses tipos de solos, problemas sempre são detectados em relação aos atributos químicos, físicos e biológicos. Também nesses ambientes, normalmente, apenas são encontradas espécies vegetais altamente tolerantes à salinidade, por conta da toxidez causada pelas altas concentrações de sais e pela dificuldade de captar água, tendo em vista o baixo potencial osmótico ao qual estas espécies têm que se submeter para conseguir essa captura, que é extremamente dispendioso energeticamente para a maioria das culturas (Souza, 2010).

No âmbito da agricultura sustentável, os microrganismos, de forma geral, podem atuar indiretamente melhorando a agregação das partículas no solo (Bayer & Mielniczuk, 2008) e desenvolvendo diversas atividades de interesse agrícola, tais como controle biológico e promoção de crescimento vegetal (Mariano & Kloepper 2000; Whipps, 2001). Devido a grande diversidade microbiana presente no solo e associada às plantas, alguns microrganismos apresentam tolerância à salinidade, sendo de grande importância para o desenvolvimento agrícola de solos salinos (Ruiz-Lozano et al., 1996).

Neste contexto, as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) atuam promovendo diretamente o crescimento vegetal por meio da produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção pelas raízes, entre outros (Conn et al., 1997; Lazarovits & Nowak, 1997).

Dentre os mecanismos de promoção de crescimento vegetal, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) se destaca por ser a maior responsável pelo aporte de nitrogênio nos sistemas biológicos, contribuindo com cerca de 65% do nitrogênio fixado (NEWTON, 1999). Este processo consiste na transformação do nitrogênio molecular (N_2) em formas mais reduzidas, como NH_3 , que podem ser assimiladas pelos organismos vivos. Além da FBN, a produção de fitohormônios, como o ácido indol acético, da classe das auxinas, têm sido estudado em bactérias associadas às plantas ao solo (Cattelan et al., 1999).

Ultimamente, o potencial uso de microrganismos como indicadores da qualidade do solo, vem ganhando espaço, pelo fato de que estes são os responsáveis direta e indiretamente pela melhoria dos atributos do solo (Santos, 2010).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi isolar bactérias presentes em um solo salino sódico no Agreste de Pernambuco e avaliá-las quanto a produção de auxina e fixação de nitrogênio, quando em associação ou não com a cultura de *Atriplex nummularia*.

Material e métodos

Amostras de solo e vegetal

Para a bioprospecção de bactérias as amostras de solo foram coletadas em um experimento de campo, com plantas de *Atriplex nummularia* implantado em setembro de 2008 em Neossolo Flúvico salino sódico no Município de Pesqueira (PE) (Souza, 2010). Foram realizadas duas coletas de amostras de solo: uma no período chuvoso (agosto/2009), quando o solo da área experimental encontrava-se completamente saturado por água e outra no período seco (dezembro/2009). As principais características do solo no início do experimento (setembro/2008) eram: textura média (120 g kg⁻¹ de argila, 500 g kg⁻¹ de silte e 380 g kg⁻¹ de areia), estimada através do método do peneiramento para a separação da fração areia com posterior utilização da sedimentação para a estimativa da quantidade de silte e argila presentes na amostra de acordo com a lei de Stokes; densidade do solo=1,68 g cm⁻³, estimada através do método do anel volumétrico; pH=9,1, CEes=21,49 dS m⁻¹, Na⁺ solúvel=277,29 mmol_c l⁻¹, Cl⁻ solúvel=223,78 mmol_c l⁻¹, PST=30,51% e COT=0,73 dag kg⁻¹, todas as análises químicas e físicas seguiram a metodologia proposta pela EMBRAPA (1997). O experimento foi conduzido em delineamento experimental em blocos casualizados, com três tratamentos: planta cultivada sem regime de poda, planta sob regime de poda aos seis e doze meses e o tratamento testemunha, sem cultivo de *Atriplex*, em quatro repetições.

Foram coletadas amostras de solo na camada de 0-20 cm em três locais distintos por bloco: 1) nas proximidades das raízes (20 cm do colo da planta); 2) no ponto intermediário do espaçamento entre plantas (125 cm), sendo estes feitos apenas nas plantas submetidas à poda, 3) e na área sem cultivo das plantas (tratamento testemunha). O experimento foi montado em blocos casualizados (4 ao todo), resultando em um total de 12 amostras coletadas do experimento.

Nas amostras da zona radicular, foram coletadas juntamente as raízes presentes na massa de solo, sendo também coletados ramos terminais das plantas de aproximadamente 30 cm contendo folhas, para a determinação das bactérias endofíticas dos materiais vegetais.

Após a coleta do solo e material vegetal as amostras foram imediatamente transportadas ao Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM), da Unidade Acadêmica de Garanhuns, UFRPE, para que as análises pudessem ser procedidas.

*Isolamento de bactérias do solo e associadas à *Atriplex**

Para o isolamento de bactérias do solo distantes 20 cm do colo da planta (Zona radicular), a 125 cm de duas plantas e no tratamento testemunha, cerca de 5g de cada amostra foram transferidas para frascos Erlenmeyers (250ml) contendo 5g de pérolas de vidro (0,1cm de diâmetro) e 50ml de tampão fosfato salino (Phosphate Buffered Saline – PBS: 1,44g l⁻¹ de Na₂HPO₄; 0,24g l⁻¹ de KH₂PO₄; 0,20g l⁻¹ de KCl; 8,00g l⁻¹ de NaCl; pH 7,4). Estes frascos foram mantidos sob agitação constante a 90rpm por 1h, em temperatura ambiente (28°C). Em seguida, foram realizadas diluições seriadas em tampão PBS e 100µl foram inoculados em placa de Petri contendo o meio de cultura TSA 10% (*Tryptone Soy Agar*) acrescido de 5% de NaCl, suplementado com o fungicida Cercobyn 700 (50 µg ml⁻¹), e incubados a 28°C para avaliação após 3, 8 e 14 dias. A população bacteriana total por grama de solo fresco (UFC/g SF) foi estimada pela contagem de colônias cultivadas em meio de cultura. Colônias características de cada tipo morfológico (referentes a formato, tamanho e coloração) foram repicadas das placas de isolamento, purificadas pela técnica de esgotamento e mantidas a -20°C, em meio TSA 10% líquido suplementado com 20% de glicerol, que pelo fato de ser um crioprotetor evita a desidratação da membrana bacteriana.

Para realização do processo de obtenção das bactérias associadas ao rizoplano, foram utilizados cerca de 3g de raízes, previamente lavadas para retirada do solo agregado, que foram depositadas em Erlenmeyers (500ml) contendo 5g de pérolas de vidro (0,1cm de diâmetro) e 50ml de tampão PBS. Estes frascos foram mantidos sob agitação constante a 90rpm por 1h, em temperatura ambiente (28°C). Em seguida, foi realizado o mesmo procedimento utilizado para o solo da raiz e zona radicular. A população bacteriana total por grama de tecido vegetal fresco (UFC/g TVF) foi estimada pela contagem de colônias cultivadas em meio de cultura.

Para o isolamento de bactérias endofíticas foi realizada a desinfecção superficial das amostras de folhas e raízes, através de lavagem por 1 minuto em etanol 70%; 3 minutos em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% de cloro ativo (v/v) e 30 segundos em etanol 70%, seguido de duas lavagens em água destilada esterilizada. Dessa última lavagem em água estéril, foi tomada uma alíquota de 100µl e inoculadas em placa contendo o meio de cultura TSA 10% acrescido de 5% de NaCl, suplementado com o fungicida Cercobyn 700 (50µg ml⁻¹), para ter-se um controle da eficiência da desinfecção realizada. Posteriormente, os tecidos foram cortados em pequenos fragmentos e triturados em 10ml de tampão PBS com o auxílio de cadinhos e pistilos. Em seguida, todo o material foi transferido para tubos Falcon de 15ml e mantidos sob agitação constante a 120rpm por 1h, em temperatura ambiente (28°C). Em seguida, foram realizadas diluições em tampão PBS (100µl) e foram da mesma forma que o solo, inoculados meio de cultura TSA 10% acrescido de 5% de NaCl, suplementado com o

fungicida Cercobyn 700 ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$), incubados a 28°C e avaliados após 3, 8 e 14 dias. A população bacteriana por grama de tecido vegetal fresco (UFC/g TVF) foi estimada pela contagem de colônias cultivadas em meio de cultura, tendo como base a quantidade inicial pesada para assepsia e trituração.

Depois da estimativa das colônias bacterianas endofíticas e associadas ao rizoplasma, as colônias características de cada tipo morfológico foram repicadas das placas de isolamento, purificadas pela técnica de esgotamento e mantidas a -20°C , em meio TSA 10% líquido suplementado com 20% de glicerol.

Avaliação da capacidade de fixação de nitrogênio

As linhagens de bactérias foram avaliadas quanto a capacidade de fixar N_2 por meio de teste de inoculação das bactérias em meio de cultura com ausência de nitrogênio. Para isso, as bactérias foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 ml do meio de cultura NFb [5g l^{-1} de ácido málico; $0,5 \text{g l}^{-1}$ de K_2HPO_4 ; $0,2 \text{g l}^{-1}$ de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $0,1 \text{g l}^{-1}$ de NaCl ; $0,01 \text{g l}^{-1}$ de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 2ml l^{-1} Fe.EDTA (solução 1,64%), 2ml l^{-1} de azul de bromotimol (0,5%); 2ml l^{-1} de solução de micronutrientes ($0,2 \text{g l}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $0,235 \text{g l}^{-1}$ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $0,28 \text{g l}^{-1}$ H_3BO_3 ; $0,008 \text{g l}^{-1}$ de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); $1,75 \text{g l}^{-1}$ de ágar; pH 6,8], incubadas a 28°C e avaliadas após 7 dias de crescimento. O resultado positivo foi caracterizado por presença de um halo de crescimento no interior do meio de cultura. Todas as análises foram realizadas em duplicata e como controle positivo foi utilizada a bactéria diazotrófica endofítica de soja EN303 (*Pseudomonas oryzae*) (Kuklinsky-Sobral, et al, 2004).

Avaliação da capacidade de produção de ácido indol acético

A seleção de bactérias produtoras de ácido 3-indolacético ou AIA (auxina) foi realizada por meio de inoculação em meio específico, utilizando-se a técnica qualitativa (Bric et al, 1991). As bactérias foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 3 ml do meio líquido TSA suplementado com 5 mM de L-triptofano. Logo após, os tubos foram mantidos em agitação constante a 120rpm por um período de 16h, na ausência de luz. Quando constatado o crescimento bacteriano, foi realizada uma reação com o reagente de Salkowski (2% de FeCl_3 0,5M e 35% de ácido perclórico), na relação de 1:1. A reação foi mantida a temperatura ambiente por 20 minutos, na ausência de luz, e somente depois as linhagens bacterianas foram caracterizadas positiva ou negativamente. Essa caracterização se deu com as diferentes colorações que foram resultantes da reação, onde as negativas não mudaram de cor e as

positivas apresentaram uma coloração rósea, com diferentes tonalidades, sendo classificadas em+ a ++++, de acordo com a intensidade da cor verificada em relação ao controle negativo. Como controle positivo foi utilizada a linhagem endofítica diazotrófica, produtora de AIA, EN303 (*Pseudomonas oryzihabitans*) (Kuklinsky-Sobral et al., 2004). Os experimentos foram realizados em duplicata.

Análise estatística

Para a análise estatística da densidade populacional bacteriana os valores da UFCs, foram submetidos a transformações para \log_{10} de $X + 1$, para então serem analisados pela ANOVA, a 1% de significância, no delineamento experimental inteiramente casualizado. Posteriormente o teste de Tukey foi aplicado para uma comparação entre médias.

Resultados e Discussão

Solo coletado no período chuvoso

A interação entre as bactérias encontradas nos diferentes tecidos e solos amostrados e as plantas de *Atriplex nummularia*, foram avaliados durante o período chuvoso. Foi observado a presença de diferentes tipos morfológicos bacterianos cultivados em meio de cultura com alta concentração salina, classificando-as como halotolerantes.

A Figura 1 apresenta a densidade populacional total das bactérias isoladas de diferentes tecidos ou solos avaliados. Pode-se observar que o rizoplaneo deteve o maior número de unidades formadoras de colônias (UFCs), seguido pela zona radicular, solo cultivado e solo testemunha, que não diferiram significativamente entre si. As raízes e as folhas diferenciaram-se dos quatro primeiros tratamentos, sendo que as raízes ainda obtiveram maiores valores de UFCs/g do que as folhas. Isto pode ser explicado pelo fato de que grande parte dos microrganismos evoluíram no sentido de colonizarem a rizosfera das plantas, beneficiando-se assim dos compostos ricos em carbono, que são exsudados pelas raízes (Sprent & Faria, 1989). Segundo Rovira (1969), embora as quantidades de compostos orgânicos exsudados pelas raízes não sejam em larga escala, raramente excedam 0.4% do carbono total fotossintetizado, eles tem uma influência muito importante nos microrganismos do solo e podem ser significantes na disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Como observado ainda na figura 1, Elvira-Recuenca & van Vuurde, 2000, observaram que as raízes parecem ser o local preferencial para a colonização de bactérias epifíticas e

endofíticas, sugerindo que as bactérias endofíticas tendam a se locomover por entre o sistema radicular durante o desenvolvimento da planta.

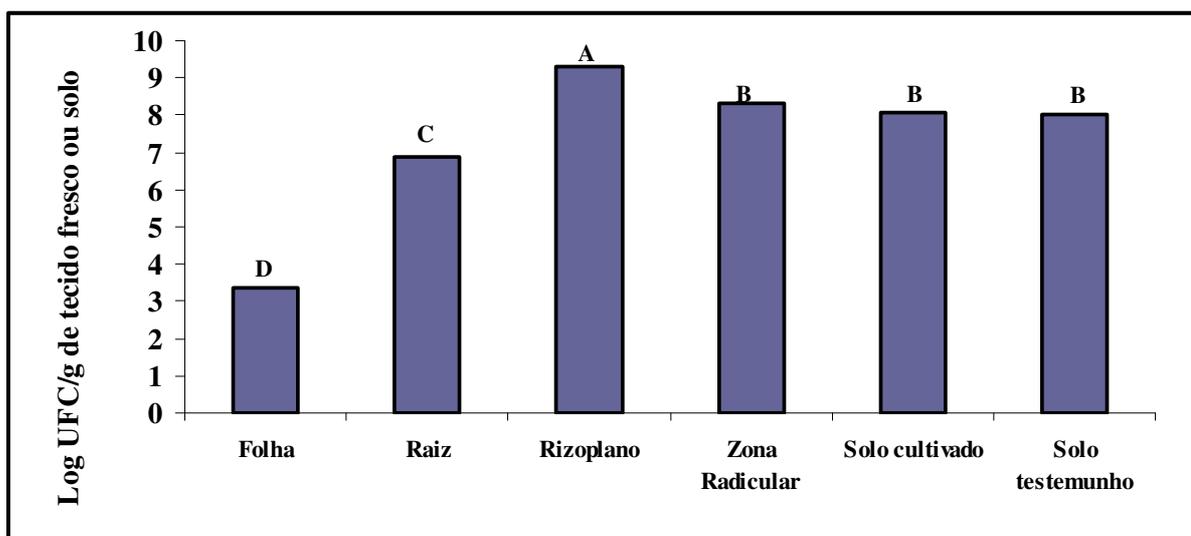


Figura 1- Densidade populacional total de bactérias halotolerantes associadas a *A. nummularia* isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado e solo testemunha, todos coletados no período chuvoso. Médias com diferentes letras diferem entre si, significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

O habitat em que as plantas estão associadas é um ambiente dinâmico, no qual vários fatores podem afetar a estrutura e a composição das espécies e as comunidades bacterianas que colonizam os tecidos das plantas. Alguns desses fatores são as mudanças climáticas ou estacionais, os próprios tecidos das plantas, as espécies destas e os cultivares, além do tipo do solo (Fromin *et al.*, 2001; Mocali *et al.*, 2003; Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2004). Um melhor entendimento a respeito destas associações é fundamental para compreender como os processos biológicos associados às plantas são influenciados pelos fatores ambientais.

Um total de 41 bactérias foram isoladas, quando em associação com a *Atriplex nummularia*, das folhas, raízes, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, além do solo testemunha. A quantidade de bactérias analisadas por cada região coletada foram de respectivamente 12, 4, 6, 7, 5 e 7. Estas bactérias foram escolhidas aleatoriamente, depois do isolamento, e foram avaliadas quanto a possibilidade de fixar nitrogênio atmosférico. Os resultados revelaram que 56% dos isolados halotolerantes foram capazes de crescer em meio livre de nitrogênio. Bilal *et al.* (1990) observaram que havia uma atividade da nitrogenase associadas às raízes em *Atriplex* spp. Da mesma que os resultados encontrados no presente trabalho, a percentagem de bactérias fixadoras de nitrogênio foi maior (maior que 60%), para as bactérias com interação próxima com as plantas hospedeiras, do que nos resultados

conseguidos (Figura 2). Os diferentes padrões quanto ao resultado da fixação do nitrogênio atmosférico são mostrados na figura 3.

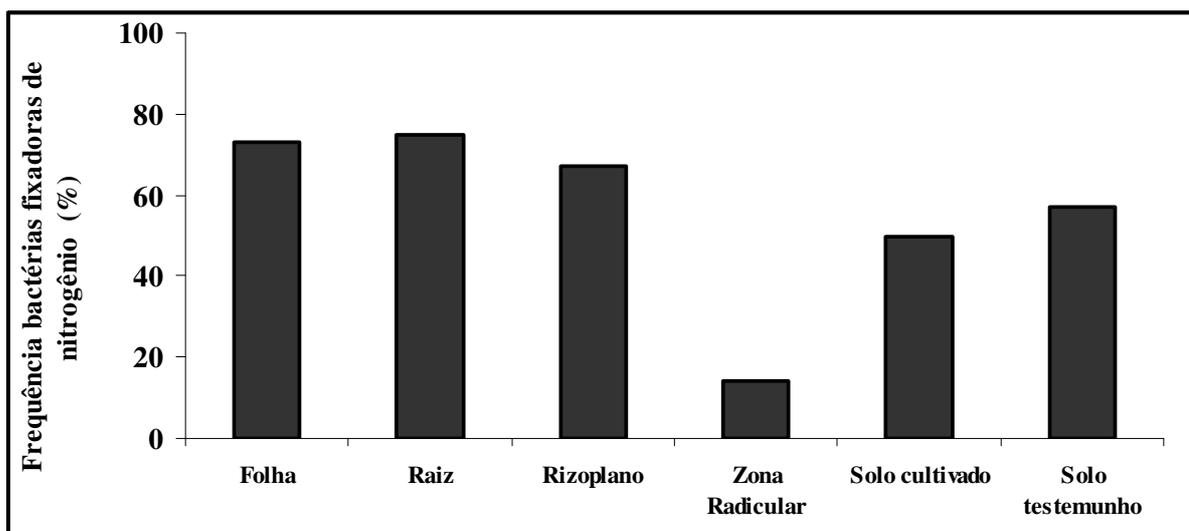


Figura 2. Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* fixadoras de nitrogênio isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, dos isolados coletados no período chuvoso.

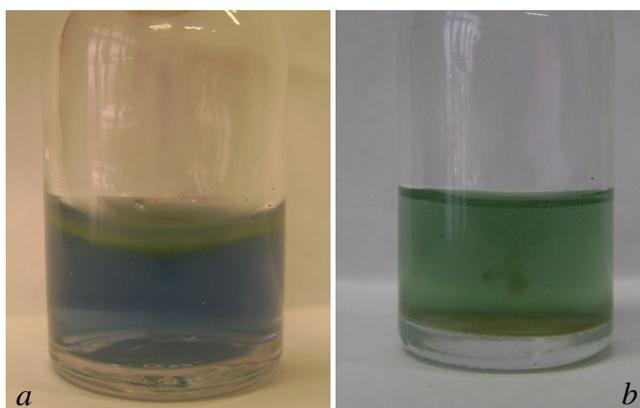


Figura 3. Padrões de resultados da fixação de nitrogênio. A figura *a* apresenta o padrão considerado positivo, identificado através da mudança da coloração do meio e formação de halo próximo a superfície. A figura *b* mostra o tratamento controle negativo.

Das 41 bactérias isoladas, apenas 33 conseguiram se desenvolver em meio líquido, portanto, apenas estas foram utilizadas para a realização do teste de produção de AIA. Do total de bactérias testadas, aproximadamente 70%, revelaram a capacidade de produzir o ácido em questão (Figura 4). Os diferentes padrões de coloração obtidos no resultado de produção de AIA estão apresentados na figura 5.

Pode-se observar que a maior concentração de bactérias produtoras de AIA são endofíticas de raízes. Sarwar & Kremer (1995) avaliaram 16 isolados da rizosfera de

diferentes plantas e verificaram que os isolados associados à raiz das plantas eram mais eficientes na produção de auxinas do que os não associados às plantas.

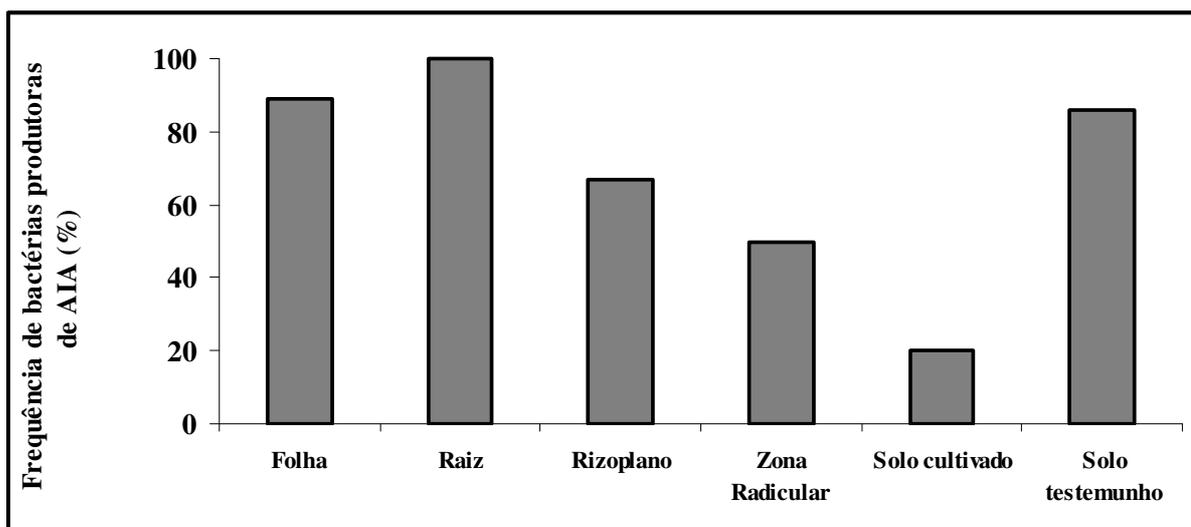


Figura 4. Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* produtoras de AIA isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, com isolados coletado no período chuvoso.

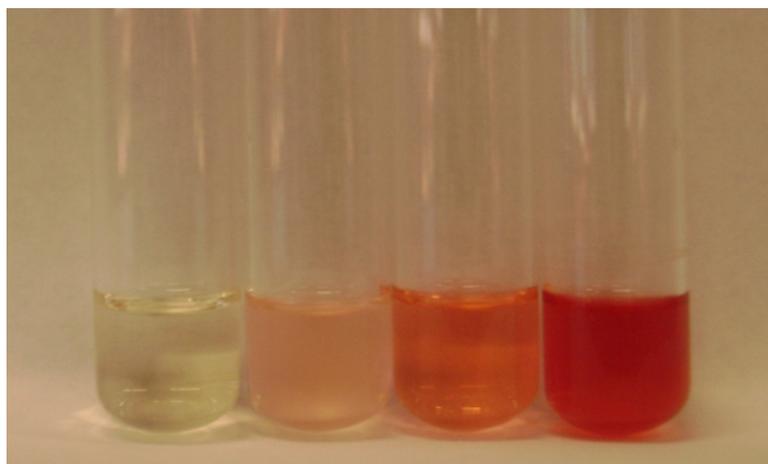


Figura 5- Padrões de coloração para produção de AIA. A figura mostra as diferentes tonalidades de cores encontradas. Sendo a primeira, da esquerda pra direita, o controle negativo e as outras três diferentes tonalidades para o resultado positivo.

Um trabalho realizado por Omay et al (1993), trabalhando com *Azospirillum*, mostra que dependendo das condições em que as bactérias estão inseridas, principalmente quanto a quantidade de carbono disponível, pode acontecer uma estimulação da produção de AIA, em locais próximos a rizosfera, por conta da competição pelos substratos orgânicos liberados pelas raízes. Segundo dados obtidos por Narayanaswami & Veerajou (1996) houve uma detecção de uma quantidade três vezes maior de AIA na rizosfera, do que nos outros locais

estudados. Estas afirmativas vão de encontro aos resultados obtidos na produção de AIA, provavelmente pelo fato de haver uma baixa competição no local, por conta de uma densidade populacional mais baixa, ocasionada pelos altos níveis de sais no solo.

Em trabalho realizado por Tripathi & Mishra (1998) foi observado que elevadas concentrações de NaCl inibiram o crescimento e produção de AIA em bactérias. Radwan et al. (2005), observaram que a adição de NaCl ao meio de cultivo inibiu apenas a produção de auxina, em duas estipes bacterianas em doses superiores a 5 g L^{-1} .

Solo coletado no período seco

Como observado durante o isolamento realizado no período chuvoso, no período seco também houve uma variedade de grupos morfológicos encontrados no meio de cultura onde as bactérias foram inicialmente isoladas.

A Figura 7 apresenta a densidade populacional total das bactérias encontradas, nos diferentes tecidos ou solos utilizados. Pode-se observar que o rizoplano, a exemplo do primeiro isolamento, deteve o maior número de unidades formadoras de colônias (UFCs), seguido pela zona radicular, raiz e solo testemunha, que não diferenciaram-se significativamente entre si, nem entre o rizoplano ou o solo cultivado. A folha, também como no primeiro isolamento, gerou uma menor quantidade de UFCs.

Fernandes et al. (2001), trabalhando com bactérias endofíticas de folha de coqueiros encontrou valores mais baixos de UFCs, do que as encontradas no presente trabalho, mesmo estas tendo obtido os menores valores entre os tratamentos do isolamento.

Para que o metabolismo das bactérias funcione adequadamente, as mesmas devem estar adequadas as condições edafoclimáticas locais. Todos os isolados bacterianos do primeiro e segundo isolamento desenvolveram-se em meio contendo 50 g/l de NaCl, o que demonstra a adaptação das bactérias em relação ao solo extremamente salinos do qual foram coletadas.

Nóbrega et al. (2004), trabalhando com diversas estirpes bacterianas provenientes de vários pontos do Brasil e também da África, não encontraram crescimento de UFCs em meios contendo uma concentração maior que 30 g/l de NaCl. Medeiros et al. (2007), trabalhando com bactérias fixadoras de nitrogênio, encontraram em todas as estirpes estudadas, uma tolerância à salinidade de 50 g/l .

Estas observações são de fundamental importância, pois a partir delas, pode-se obter explicações para as diferenças de comportamento da fixação de nitrogênio e produção de AIA do segundo em relação ao primeiro isolamento.

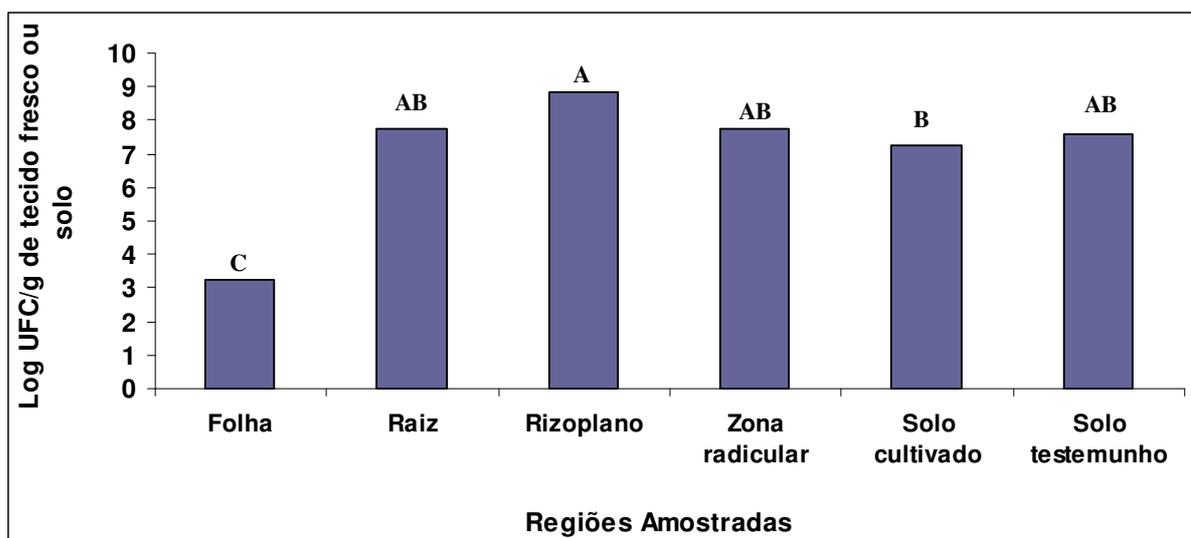


Figura 7- Densidade populacional total de bactérias halotolerantes associadas a *A. nummularia* isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado e solo testemunha, em solo coletado no período seco. Médias com diferentes letras diferem entre si, significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Ao todo 32 bactérias conseguiram ser isoladas quando em associação com a *Atriplex nummularia*, das folhas, raízes, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, além do solo testemunha, para o período seco. A quantidade de bactérias analisadas por cada região coletada foram de respectivamente 7, 6, 6, 4, 5 e 4.

Dos 32 isolados, 50% foram capazes de fixar nitrogênio, onde diferentemente do período chuvoso, a folha foi o local onde foram encontradas a maior parte das bactérias fixadoras (figura 8). Isto pode ser explicado pelo fato de que as plantas de *Atriplex*, mesmo em período seco, conseguem reduzir seu potencial osmótico a níveis muito baixos (Souza, 2010), para conseguir captar a água do solo, mantendo desta forma a homeostase no interior dos tecidos, promovendo um ambiente adequado para o metabolismo bacteriano.

Pode-se notar ainda, em relação ao primeiro isolamento, que com exceção das folhas, apenas a zona radicular obteve um aumento no percentual das bactérias fixadoras, sendo que a raiz, rizoplano, solo cultivado e solo testemunha, tiveram quedas expressivas no percentual em questão. O que já demonstra em relação ao primeiro isolamento, que a quantidade de água disponível no solo é um fator determinante para o desenvolvimento das espécies.

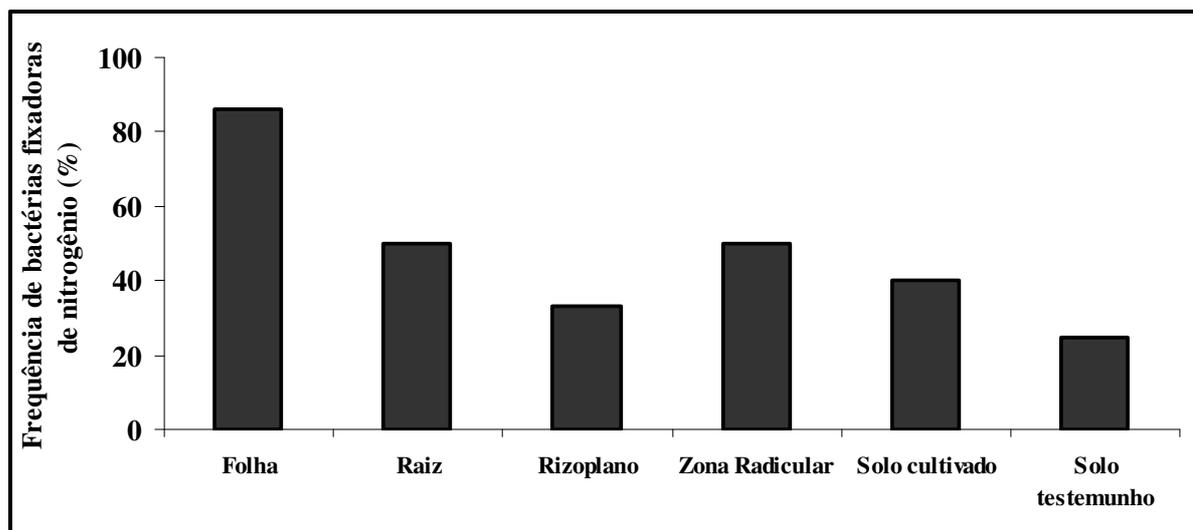


Figura 8. Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* fixadoras de nitrogênio isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, em solo coletado no período seco.

King & Purcell (2005), avaliaram a inibição da fixação de nitrogênio em soja quando submetidos a estresse hídrico. Com a diminuição na disponibilidade de água, as cultivares estudadas apresentaram diminuição da atividade nitrogenase, provocando um aumento da quantidade de aminoácidos exportados para as raízes e posteriormente para as folhas, desencadeando um feedback que inibiu a fixação do nitrogênio.

Do total de 32 isolados bacterianos, 66% mostrou-se capaz de crescer em meio líquido, portanto, foram utilizados para os testes de produção de AIA. Destes, 71% revelaram a capacidade de produção do ácido (Figura 9). Os diferentes padrões de coloração resultantes do teste estão expostos na figura 5.

Em comparação ao primeiro isolamento, observa-se claramente o aumento do percentual de bactérias produtoras de AIA no rizoplano e zona radicular. Isto se deve, provavelmente, a tentativa da promoção da homeostase do crescimento das raízes mesmo em condições de falta de água, podendo caracterizar um estresse hídrico.

Segundo Baldani & Baldani (2005), a quantidade produzida de auxinas, pode ser limitante para a maior absorção de nitrogênio pelas raízes. O desenvolvimento destas através de pêlos radiculares permite uma melhor exploração do solo e conseqüentemente acaba por beneficiar as plantas em condições de estresse hídrico (Creus et al., 2004).

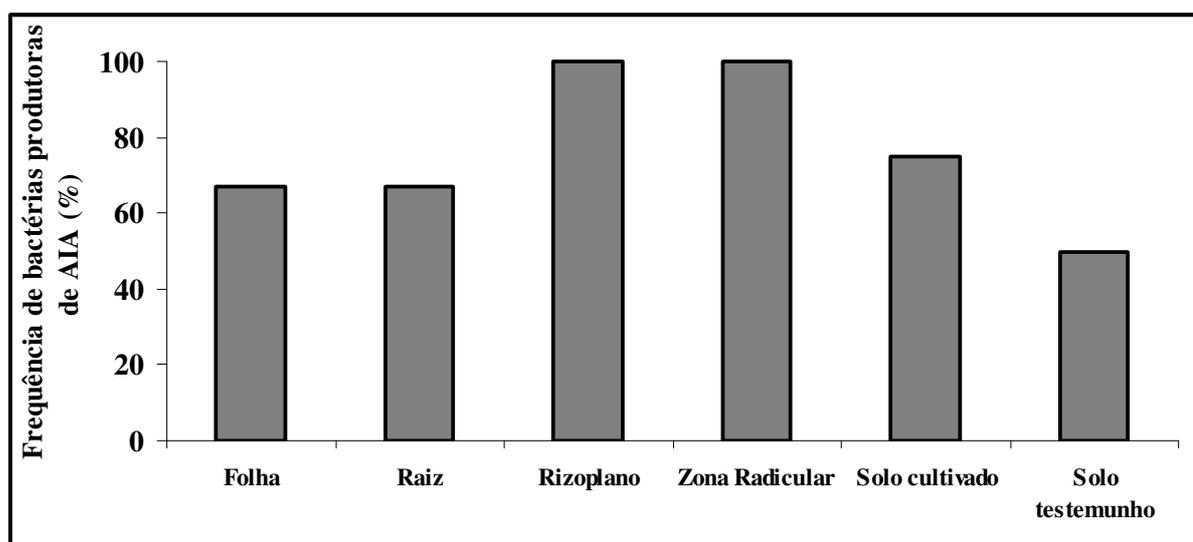


Figura 9. Frequência de bactérias associadas a *A. nummularia* produtoras de AIA isoladas de: folha, raiz, rizoplano, zona radicular, solo cultivado, solo testemunha, em solo coletado no período seco.

Provavelmente por conta de não sofrer influência ou interferência das raízes o solo testemunha obteve os valores menores de bactérias fixadoras de nitrogênio e produtoras de AIA, mostrando que as plantas de Atriplex, promovem uma melhoria nas condições do solo, o que permite um melhor desenvolvimento das bactérias.

Conclusões

- Solos salinos e cultivados com Atriplex apresentam associação com bactérias halotolerantes e com características de promoção de crescimento vegetal, como produção de auxinas e fixação de nitrogênio;
- A maior ou menor quantidade de água no solo influenciou diretamente a densidade populacional total de bactérias halotolerantes;
- A umidade no solo na coleta das amostras de solo foi delimitante para o percentual de bactérias fixadoras de nitrogênio ou produtoras de AIA.

Referências Bibliográficas

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, p.549–579, 2005.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, p. 7-16, 2008.

BILAL, R., RASUL, G., MAHMOOFL, K., MALIK, K.A. Nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria associated with the roots of *Atriplex* spp. growing in saline sodic soils of Pakistan. *Biology and Fertility of Soils* 9:315-320.1990.

BRIC, J.M.; BOSTOCK, R.M.; SILVERSTONE, S. Rapid in situ assay for indolacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, v.57, p.535-538, 1991.

CATTELAN, A.J.; HARTEL, P.G. & FUHRMANN, J.J. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, v. 63, p. 1670-1680, 1999.

CONN, K.L., NOWAK, J. & LAZAROVITS, G.A. gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 801-808. 1997.

CREUS, C.M.; SUELDO, R.J.; BARASSI, C.A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany*, v.82, p.273-281, 2004.

ELVIRA-RECUENCO, M.; VAN VUURDE, J. W. L. Natural incidence of endophytic bacteria in pea cultivars under field conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, v.46, p.1036-1041, 2000.

FERNANDES, Marcelo Ferreira; FERNANDES, Roberta Pereira Miranda and RODRIGUES, Luciana da Silva. Bactérias diazotróficas associadas a coqueiros na região de baixada litorânea em Sergipe. *Pesq. agropec. bras.*, vol.36, n.12, 2001, pp. 1509-1517.

FROMIM, N., ACHOUAK, W., THIERY, J. M., HEULIN, T. The genotypic diversity of *Pseudomonas brassicacearum* populations isolated from roots of *Arabidopsis thaliana*: influence of plant genotype. *FEMS Microbial Ecology* 37: 21-29. 2001.

KING, C.A.; PURCELL. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. *Plant Physiology*, v.137, p.1389-1396, 2005.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W.L.; MENDES, R.; GERALDI, I.O.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology*, 6: 1244-1251. 2004.

LAZAROVITZ, G. & NOWAK, J. Rhizobacterium for improvement of plant growth and establishment. *Hortscience* 32:188-192. 1997.

MARIANO, R.L.R.; KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 8, p. 121-137, 2000.

MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS, S.M.P.; GOMES, A.M.A.; NASCIMENTO, A.R.P.; DONATO, V.M.T.S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma*, Recife, v. 1, p.89-111, 2004.

MEDEIROS, E.V., SILVA, K.J.P., MARTINS, C.M., BORGES, W.L. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes dos municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v.7, n.2, 2007, p. 160-168.

MOCALI, S., BERTELLI, E., CELLI, F.D., MENGONI, A., SFALANGA, A., VILANI, F., CACIOTTI, A., TEGLI, S., SURICO, G., FANI, R. Fluctuation of bacteria isolated from elm tissues during different seasons and from different plant organs. *Research Microbiology* 154: 105-114. 2003.

NARAYANASWAMI, R.; VEERRAJU, V. IAA syntesis in paddy soil as influenced by ammonium sulfates fertilization. *Current science*, v.38, p. 517-518, 1969.

NEWTON, W.E. Nitrogen fixation in perspective. In: NITROGEN FIXATION: FROM MOLECULES TO CROP PRODUCTIVITY, 12th, 1999, Foz do Iguçu. Proceeding. Dordrecht: Klumer Academic Publishers, p. 3-8, 2000.

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

OMAY, S. H.; SCHIMIDT, W. A.; MARTIN, P.; BANGERTH, F. Indoleacetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd. Under *in vitro* conditions. Canadian Journal Microbiology. V.39, p. 187-192, 1993.

RADWAN, T.EL-S,EL-D., MOHAMED, Z.K., REIS, V.M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.40, n.10, p.997-1004, 2005.

ROVIRA, A.D. Plant root exudates. The Botanical Review, v. 35, n. 1, p. 35-53, 1969.

RUIZ-LOZANO, J.M.; AZCÓN, R. & GÓMES, M. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. Physiology Plantarum 98:767-772, 1996.

SANTOS, P.R. Atributos do solo em função dos diferentes usos adotados em perímetro irrigado do sertão de Pernambuco. Recife, 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SARWAR, M.; KREMER, R.J. Enhanced suppression of plant growth through production of L-tryptophan-derived compounds by deleterious rhizobacteria. Plant and Soil, v.172, p.261-269, 1995.

SOUZA. E.R. Fitorremediação de Neossolo Flúvico salino sódico de Pernambuco com *Atriplex nummularia*. Recife, 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SPRENT, J.; FARIA, S. M. Mechanisms of infection of plants by nitrogen fixing organisms. In: SKINNER, F.A.; BODDEY, R.M.; FENDRINK, K.L. ed. Nitrogen fixation with nonlegumes. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p.3-11, 1989

TRIPATHI, A.K.; MISHRA, B.M. Responses of *Azospirillum brasilense* to salinity stress. In: MALIK, K.A.; MIRZA, M.S.; LADHA, J.K. (Ed.). Nitrogen fixation with non-legumes. Dordrecht: Kluwer, 1998. p.179-185.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, v. 52, p.487-511, 2001.

Conclusões finais

- A atividade biológica no solo foi diretamente proporcional à proximidade das raízes de *Atriplex nummularia* e também às condições de umidade no ambiente em questão.
- A densidade bacteriana mostrou-se maior, nos dois períodos coletados, no rizoplano, indicando a existência de exudatos radiculares promovendo uma melhoria nas condições ambientais para o desenvolvimento das bactérias relacionadas.
- O cultivo de plantas de *Atriplex nummularia* promove uma melhoria na qualidade de solos salinos e sódicos, que reflete em um maior número de microrganismos encontrados.
- O estado de umidade no solo diferenciou a população de bactérias encontradas, bem como o percentual de bactérias fixadoras de nitrogênio ou produtoras de AIA;
- Estudos mais avançados da identificação das bactérias isoladas e suas associações devem ser desenvolvidos para evidenciar os efeitos desses microrganismos no desenvolvimento de mudas e de plantas de *Atriplex nummularia* em campo