

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**SUEIDE KARINA DA SILVA**

**FIXAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE NITROGÊNIO EM CULTIVOS  
CONSORCIADOS E SOLTEIROS DE GRAMÍNEAS E LEGUMINOSAS**

**RECIFE**

**2018**



Sueide Karina da Silva

Engenheira Agrônoma

**Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas e leguminosas**

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

Orientador: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Coorientadores: Dr. José Nildo Tabosa e Prof. Dr. Brivaldo Gomes de Almeida

Recife  
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

#### Ficha catalográfica

S586f Silva, Sueide Karina da  
Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados e solteiros de  
gramíneas e leguminosas/ Sueide Karina da Silva. – 2018.  
69 f. : il.

Orientadora: Ana Dolores Santiago de Freitas.

Coorientadores: José Nildo Tabosa, Brivaldo Gomes de Almeida.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa  
de Pós-Graduação em Agronomia, Recife, BR-PE, 2018.

Inclui referências.

1. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$  2. Adubação verde 3. Isótopo 4. Nodulação natural  
5. *Canavalia ensiformis* (L.) DC 6. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. I. Freitas, Ana  
Dolores Santiago de, orient. II. Tabosa, José Nildo, coorient. III. Almeida,  
Brivaldo Gomes de, coorient. IV. Título

CDD 631.4

SUEIDE KARINA DA SILVA

**Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas e leguminosas**

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.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2018

---

Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas  
Orientadora  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Vinícius Santos Gomes da Silva  
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

---

Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos  
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)



A Deus, pela dádiva da vida, pela saúde e pela força  
de enfrentar todas as etapas;  
Ao meu esposo, José Sales da Silva, pelo amor, companheirismo e  
compreensão;  
Ao meu bebê, que está a caminho;  
À minha irmã, por toda paciência e ajuda  
Aos meus pais, pelo apoio;

**Dedico**



## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela força, saúde e por todas as realizações que tenho conseguido, tudo é graças a Ele.

Ao meu esposo José Sales, por todo o apoio, ajuda e compreensão em todos os momentos. Ao meu bebê, que está a caminho.

Aos meus pais (Soledade Maria e José Ailton), pelo incentivo e apoio. À minha irmã Sulene Cássia, por toda a ajuda durante meu experimento e análises.

À minha orientadora, Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas, pela orientação, apoio, carinho, incentivo e ensinamentos. Sou muito grata por tudo.

Aos meus coorientadores, Dr. Brivaldo Gomes de Almeida e Dr. José Nildo Tabosa, pelas contribuições.

Ao IFPE-Belo Jardim, em especial ao professor Rosemberg de Vasconcelos Bezerra, pelo solo utilizado na montagem do experimento e por todo o apoio.

A toda equipe do Laboratório de Microbiologia do Solo, bem como dos Laboratórios de Química Ambiental e Física do Solo, que me acolheram para a realização das análises.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, pela oportunidade e condições para a realização do curso.

A todos os professores do programa, representados pelo professor Clístenes Williams Araújo do Nascimento, pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os funcionários da UFRPE, em especial a Maria do Socorro Santana, por toda sua simpatia, paciência e ajuda.

Aos membros da banca examinadora, pelas valiosas contribuições.

Aos meus colegas, que tanto me ajudaram nessa caminhada, pelo convívio, conversas e alegrias, que tornam toda essa caminhada mais fácil.

À FACEPE, pela concessão da bolsa.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização dessa pesquisa.

Muito obrigada!



## Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas e leguminosas

### RESUMO

A produção de diversas culturas na maioria dos solos tropicais é limitada pela necessidade de adubação nitrogenada. Afixação biológica do nitrogênio (FBN) possui potencial de reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados em sistemas agrícolas de baixo uso de insumos, comuns em diversas áreas do Nordeste do Brasil. Leguminosas e gramíneas são plantas com capacidade de fixar N em associação com bactérias diazotróficas e em cultivos consorciados parte do N fixado nas leguminosas pode ser transferido para as gramíneas, contribuindo de forma significativa para o aumento dos estoques de N no sistema. O objetivo deste trabalho foi avaliar a FBN e a transferência de N entre plantas em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas C4 (milho, *Zea mays* L.; sorgo, *Sorghum bicolor* (L.) Moench.; e milheto, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) e leguminosas (feijão-caupi e feijão-de-porco), bem como o efeito desses cultivos sobre os atributos físico-hídricos do solo. Foi conduzido um experimento em casa de vegetação, utilizando amostras da camada superficial de um Planossolo coletado no município de Belo Jardim, Semiárido de Pernambuco. Os tratamentos consistiram em cultivos solteiros e consorciados de três espécies de gramíneas e três espécies intercalares, com arranjo fatorial utilizando delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela experimental consistiu em um vaso, sempre com duas plantas, que podiam ser da mesma espécie ou de espécies diferentes, de acordo com o tratamento. Foi inserido o girassol no experimento para ser utilizado como espécie intercalar não fixadora de N, assim como vasos cultivados com algodão e mamona, para serem utilizadas como plantas referência para estimativas da FBN pelo método do  $\delta^{15}\text{N}$  (‰). As gramíneas apresentaram biomassa variando entre 23,91 e 41,76 g planta<sup>-1</sup>, sendo que os consórcios não aumentaram a produtividade em relação aos cultivos isolados. A presença de populações rizobianas compatíveis no solo foi demonstrada pela nodulação natural das leguminosas. Constatou-se que a espécie de gramínea não altera a nodulação das leguminosas. As gramíneas não obtiveram nitrogênio da atmosfera. As leguminosas fixaram altas proporções de nitrogênio atmosférico, variando entre 67% e 87% do N absorvido pela planta. Não houve transferência do nitrogênio das leguminosas para as gramíneas associadas. O solo coletado de cada vaso nos anéis volumétricos apresentaram RP variando de 0,90 a 1,36 MPa estando dentro do limite ideal para o desenvolvimento radicular das plantas. A percentagem de macroporos foi maior no consórcio com feijão-caupi (8,46%) do que em cultivo solteiro (5,42%). A macroporosidade e porosidade total do solo podem ter influenciado a nodulação natural e a biomassa de nódulos nas leguminosas.

**Palavras-chave:** Abundância natural do <sup>15</sup>N. Adubação verde. Isótopo. Nodulação natural. *Canavalia ensiformis* (L.) DC. *Vigna unguiculata* (L.) Walp.



## Nitrogen fixation and transfer in intercropping and single crops of grasses and legumes

### ABSTRACT

The production of several crops in most tropical soils is limited by the need for nitrogen fertilization. Biological nitrogen fixation (BNF) has the potential to reduce the use of nitrogen fertilizers in agricultural systems with low input use, common in several areas of Northeast Brazil. Leguminosae and grasses are plants capable of fixing N in association with diazotrophic bacteria and in intercropped crops part of the N fixed in the legumes can be transferred to the grasses, contributing significantly to the increase of N stocks in the system. The objective of this work was to evaluate BNF and N transfer between plants in intercropped and single crops of C4 grasses (maize, *Zea mays L.*, sorghum, *Sorghum bicolor (L.) Moench*.; and millet, *Pennisetum glaucum (L.)*) and legumes (cowpea and cowpea), as well as the effect of these crops on soil physical and hydraulic attributes. A greenhouse experiment was conducted using samples from the surface layer of a Planosols collected in the city of Belo Jardim, semiarid region of Pernambuco. The treatments consisted of single and intercropping cultures of three grass species and three intercalary species, with a factorial arrangement using a randomized block design, with four replications. Each experimental plot consisted of a vase, always with two plants, that could be of the same species or of different species, according to the treatment. Sunflower was inserted in the experiment to be used as an N-fixing non-binding intermediate species, as well as pots grown with cotton and castor bean, to be used as reference plants for BNF estimates using the  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) method. Grasses presented biomass ranging from 23.91 to 41.76g / plant, and the consortia did not increase productivity in relation to isolated crops. The presence of compatible rhizobial populations in the soil was demonstrated by the natural nodulation of legumes. It was verified that the grass species does not alter the nodulation of legumes. Grasses did not get nitrogen from the atmosphere. The legumes fixed high proportions of atmospheric nitrogen, varying between 67% and 87% of the N absorbed by the plant. There was no nitrogen transfer from the legumes to the associated grasses. The soil collected from each vase in the volumetric rings presented PR varying from 0.90 to 1.36 MPa and being within the ideal limit for the root development of the plants. The percentage of macropores was higher in the consortium with cowpea (8.46%) than in single crop (5.42%). Macroporosity and total soil porosity may have influenced natural nodulation and nodule biomass in legumes.

**Keywords:** Natural abundance of  $^{15}\text{N}$ . Green manure. Isotope. Natural nodulation. *Canavalia ensiformis (L.) DC.*.. *Vigna unguiculata (L.) Walp.*



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Sementes de milho (A), milheto (B), sorgo (C), feijão-de-porco (D), feijão-caupi (E), algodão (F), girassol (G) e mamona (H) utilizadas no experimento.....	35
<b>Figura 2</b> - Plantas de milho, milheto e sorgo em consórcio quatro dias após o plantio do feijão-caupi.....	36
<b>Figura 3</b> - Cultivo solteiro de feijão-caupi e feijão-de-porco após quatro dias de plantio.....	36
<b>Figura 4</b> - Indivíduos de milho, milheto e sorgo solteiros após desbaste em casa de vegetação.....	37
<b>Figura 5</b> - Indivíduos de milho (A), milheto (B) e sorgo (C) consorciados após desbaste em casa de vegetação.....	37
<b>Figura 6</b> - Nitrato de amônio equivalente à dose recomendada para as culturas de milho (A), milheto (B) e sorgo (C) utilizadas na adubação nitrogenada.....	38
<b>Figura 7</b> - Aplicação do fertilizante nitrogenado nas plantas de milho, milheto e sorgo: A, B e C, respectivamente.....	38
<b>Figura 8</b> - Coleta dos solos nos vasos em anéis volumétricos.....	39
<b>Figura 9</b> - Remoção das raízes(A), peneiramento do solo para resgate de nódulos caídos (B), raiz de feijão-de-porco com nódulos (C), nódulos de feijão-de-porco (D) e armazenamento dos nódulos (E).....	39
<b>Figura 10</b> – Microondas para digestão das amostras (A), Filtragem do material digerido (B), Preparo da curva de amarelo de vanadato (C), Preparo das amostras para leitura (D), Leitura das amostras(E).....	41
<b>Figura 11</b> -Permeômetros de carga constante usados nos ensaio de Ksat.....	42
<b>Figura 12</b> -Amostras dos solos na mesa de tensão, usada para equilíbrio à 1,6 e 10 kPa.....	43
<b>Figura 13</b> - Penetrômetro eletrônico de bancada.....	45



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Tratamentos utilizados no experimento com cultivos solteiros e consorciados de gramíneas e leguminosas e inserção de planta referência.....33
- Tabela 2** - Características químicas e granulometria do Planossolo coletado no município de Belo Jardim, Agreste de Pernambuco.....34
- Tabela 3** - Biomassa, concentrações e acúmulos de N e P em gramíneas em cultivo consorciado com diferentes espécies C3 ou em cultivo solteiro (com e sem adubação nitrogenada) em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....48
- Tabela 4** - Nodulação das diferentes espécies de leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....50
- Tabela 5** - Biomassa, concentrações e acúmulos de N e P em leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....51
- Tabela 6** - Sinais isotópicos de plantas C3 e C4 cultivadas em diferentes sistemas de consórcio em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....52
- Tabela 7** - Nitrogênio derivado da atmosfera (%) e N fixado (mg/planta) das diferentes espécies de leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....53
- Tabela 8** - Resistência a Penetração de raízes (RP), Umidade na capacidade de campo ( $\Theta_{cc}$ ), Condutividade hidráulica do solo saturado (Ksat) e Densidade do solo (DS) nos tratamentos de cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....56
- Tabela 9** - Porosidade Total e Distribuição de Tamanho de Poros do solo nos tratamentos de cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco.....57



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Hipóteses .....	21
1.2 Objetivo geral .....	21
1.3Objetivos específicos .....	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	22
2.1 Gramíneas tropicais .....	22
2.2 Utilização de fertilizantes nitrogenados em milho, sorgo e milheto .....	23
2.3 A fixação biológica de nitrogênio .....	24
2.4 Utilização de adubos verdes .....	27
2.5 Consórcio e transferência de N entre gramíneas e leguminosas .....	28
2.6 Características físicas do solo e sua influência na FBN .....	30
3MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Descrição do experimento .....	32
3.2 Coleta e caracterização do solo .....	33
3.3 Instalação e condução do experimento.....	34
3.4 Coleta do experimento.....	38
3.5 Estimativa da fixação biológica e da transferência de N.....	40
3.6 Acúmulo de N e P nas plantas .....	41
3.7 Parâmetros físico-hídricos .....	42
3.7.1 Condutividade hidráulica do solo saturado (Ksat) .....	42
3.7.2 Porosidade Total do Solo (P) e Distribuição de Tamanho de Poros (DTP) .....	43
3.7.3 Resistência do solo à penetração de raízes (RP).....	44
3.7.4 Umidade Volumétrica na Capacidade de Campo ( $\theta$ ) .....	45
3.7.5 Densidade do solo (Ds).....	46

3.8 Análises estatísticas .....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
4.1 Produtividade de biomassa de diferentes gramíneas nos cultivos solteiros e consorciados .....	47
4.2 Nodulação (número e biomassa de nódulos por planta) e produtividade de biomassa aérea das leguminosas em consórcio com as gramíneas.....	49
4.3 Sinais isotópicos e contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das diferentes espécies.....	51
4.4 Transferência de N fixado das leguminosas para as gramíneas. ....	54
4.5 Ensaio físico-hídrico.....	55
5 CONCLUSÕES .....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	59

## 1. INTRODUÇÃO

Gramíneas de sistema fotossintético C4 apresentam maior afinidade com o CO<sub>2</sub> e, por esse motivo, melhor eficiência fotossintética e de uso da água em relação às plantas C3 e CAM. Por possuírem mecanismos como menor abertura estomática, conseguem ser mais eficientes em seu desenvolvimento vegetativo e assim apresentam potencial de alta produção de biomassa. Culturas como milho, milheto e sorgo são amplamente cultivadas por produtores de diversas regiões do Brasil, quer seja para consumo na agricultura familiar, para fornecimento aos animais, produção de pastagem, feno, entre outros usos, além de apresentarem potencial de uso como culturas energéticas.

A produção de quantidades elevadas de biomassa vegetal requer aportes significativos de nutrientes e, na maioria dos solos tropicais, é limitada pela baixa disponibilidade de nitrogênio. A fixação biológica de nitrogênio (FBN), realizada por micro-organismos diazotróficos que possuem um complexo enzimático (nitrogenase) responsável pela redução do N<sub>2</sub> atmosférico a amônia, é de extrema importância para a agricultura, pois tem o potencial de reduzir o uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados, resultando em economia para o produtor e redução dos impactos sobre o meio ambiente. Além disso, é a principal possibilidade de aporte de N em sistemas agrícolas de baixo uso de insumos, comuns em diversas áreas do Nordeste do Brasil.

Tradicionalmente, as leguminosas são consideradas as espécies com maior capacidade de se beneficiar da FBN, por meio de suas associações simbióticas com bactérias do grupo dos rizóbios, garantindo aportes consideráveis de N aos sistemas de cultivo (ZOTARELLI et al., 2012). Entretanto, algumas espécies da família das Poaceae, tais como milho (ROESCH et al., 2007; MONTAÑEZ et al., 2009), sorgo (FERREIRA NETO et al., 2017), cana de açúcar (URQUIAGA et al., 2012), capim elefante (MORAIS et al., 2012), entre outras, podem incorporar N atmosférico por meio da associação com bactérias diazotróficas endofíticas ou epifíticas. Apesar da contribuição da FBN em gramíneas ser, em geral, menor que as relatadas para as leguminosas, o alto potencial de produção de biomassa das espécies C4 resulta na possibilidade de grandes aportes de N aos sistemas agrícolas.

O consórcio entre gramíneas e leguminosas é uma prática que pode contribuir de forma significativa para o aumento do aporte de N ao sistema, podendo permitir redução da fertilização com nitrogênio. Nesses sistemas, as leguminosas são plantadas entre as fileiras de cultivo das gramíneas e parte do nitrogênio fixado pode ser transferido para a gramínea associada. Além dos benefícios como adubação verde, ao cortar as leguminosas e depositar

seu material sobre o solo, os nutrientes de sua biomassa serão liberados, melhorando a qualidade física do solo e fornecendo nutrientes, aumentando assim a capacidade produtiva do solo de forma sustentável, pois não há adição de fertilizantes nitrogenados.

O cultivo consorciado de milho e feijão-caupi é um dos sistemas agrícolas mais comuns entre os agricultores de base familiar. Como raramente são utilizados fertilizantes nitrogenados, as culturas contam com a FBN e com a decomposição da matéria orgânica do solo como únicas fontes de N. Poucos são os estudos desenvolvidos com esses consórcios de gramíneas e leguminosas, principalmente no estado de Pernambuco. O cultivo do milho, sorgo ou milheto pode ser incentivado de acordo com a disponibilidade hídrica do local e a produtividade dos sistemas pode ser garantida pelo consórcio com leguminosas que fixam o nitrogênio atmosférico e transferem parte desse N para as gramíneas.

Desta forma, foi desenvolvida a hipótese que leguminosas e gramíneas fixam nitrogênio por meio de associações com bactérias diazotróficas naturalmente estabelecidas em solo do Semiárido brasileiro e que parte do N fixado pode ser transferido para plantas não fixadoras consorciadas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a FBN e a transferência de N entre plantas em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas C4 (milho, sorgo ou milheto) e leguminosas (feijão-caupi e feijão-de-porco), bem como o efeito desses cultivos sobre os atributos físico-hídricos do solo.

## **1.1 Hipóteses**

Leguminosas e gramíneas fixam nitrogênio por meio de associações com bactérias diazotróficas naturalmente estabelecidas nos solos e parte do N fixado pode ser transferido para plantas não fixadoras consorciadas.

## **1.2 Objetivo geral**

Avaliar a fixação biológica e a transferência de N entre espécies em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas C4 e leguminosas.

## **1.3 Objetivos específicos**

1. Estimar a produtividade de biomassa de diferentes gramíneas em cultivos solteiros e consorciados;

2. Estimar a nodulação (número e biomassa de nódulos por planta) e a produtividade de biomassa aérea de diferentes leguminosas em consórcio com as gramíneas;
3. Estimar a contribuição do processo de FBN por bactérias diazotróficas para a nutrição nitrogenada das leguminosas e as quantidades de N fixadas em sua biomassa;
4. Estimar a contribuição do processo de FBN para a nutrição nitrogenada das gramíneas e as quantidades de N transferidos das leguminosas para as gramíneas.
5. Avaliar o efeito desses cultivos sobre os atributos físico-hídricos do solo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Gramíneas tropicais

Gramíneas de sistema fotossintético C4 evoluíram primariamente nos trópicos (em relação às espécies C3 e CAM) e se adaptaram à elevadas intensidades luminosas e altas temperaturas (MARIN; NASSIF, 2013). Possuem alta afinidade com o CO<sub>2</sub> e, por esse motivo, apresentam maior eficiência de uso de água que as plantas C3. Devido à utilização mais eficiente do CO<sub>2</sub>, as plantas C4 realizam a mesma taxa de fotossíntese das plantas C3, porém com uma menor abertura estomática, podendo ser duas a três vezes mais eficientes em relação ao desenvolvimento vegetativo (LOPES; LIMA, 2015). Por esse motivo, as gramíneas C4 apresentam potencial de alta produção de biomassa (PEDROSO et al., 2014; GORLITSKY et al., 2015). Além da importância na alimentação humana e de animais, apresentam grande interesse para utilização como culturas energéticas (LIMA et al., 2014) e são matéria-prima ideal para produção de etanol e outros biomateriais. No Brasil, este potencial já vem sendo bem utilizado desde a crise do petróleo com o cultivo da cana-de-açúcar para produção de etanol. Espécies menos utilizadas no Brasil, como o milho, o sorgo e o milheto, também podem ser exploradas em áreas inadequadas para o cultivo da cana-de-açúcar.

O milho (*Zea mays* L.) é uma angiosperma, monocotiledônea, diplóide e alógama, pertencente à família Poaceae. Tem sua origem no México e América Central, com os primeiros registros de cultivo há cerca de 7.300 anos. Mesmo sendo considerada como a melhor espécie cultivada já descrita, inúmeras incógnitas ainda restam sobre a dispersão do milho cultivado e de suas mais variadas raças, questões estas que estão relacionadas à dispersão, expansão e separação geográfica dos povos agricultores da América e aos diversos

processos de seleção de centenas ou milhares de gerações (PATERNIANI; MIRANDA FILHO, 1987). É uma cultura amplamente utilizada na agricultura familiar e em cultivos de larga escala, para a alimentação humana e animal, devido a seu alto potencial produtivo e energético, além de ser utilizada em indústrias de alta tecnologia como a produção de álcool. Estudos mostram que a cultura é bem adaptada a diversas condições ambientais do Nordeste brasileiro, tendo estabilidade de produção para a maioria dos híbridos analisados (CARVALHO et al., 2002; 2011).

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) também é uma angiosperma, monocotiledônea, anual, diplóide e alógama, pertencente à família Poaceae. Provavelmente foi “domesticado” na Etiópia, cerca de 5.000 anos atrás, e em seguida foi cultivado na África Ocidental, desde o Sudão até o rio Níger (FERNANDES, 1981). No Brasil, a sua introdução se atribui aos escravos e, por isso, a cultura ficou conhecida como milho d’Angola (LIRA, 1981). O sorgo adapta-se a condições de restrições hídricas desfavoráveis à maioria de outros cereais e apresenta boa composição bromatológica, podendo ser utilizado para silagem, pastejo/corte, fenação, cobertura morta ou vassoura (SANTOS et al., 2013; BOLSON et al., 2014). Além disso, possui ampla faixa de adaptação agroecológica e tolerância a estresses ambientais (ANANDA et al., 2011; VASILAKOGLU et al., 2011), representando um potencial de produção de biomassa em áreas inadequadas às culturas mais tradicionais para produção de etanol (GUIGOU et al., 2011; FERNANDES et al., 2014).

O milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) também é uma angiosperma, monocotiledônea, anual, diplóide e alógama, pertencente à família Poaceae. É uma planta de origem africana, de fácil implantação e manejo, que se destaca por sua adaptação a uma grande diversidade de ambientes e a diferentes condições de clima e solo, caracterizando-se por sua precocidade, seu alto potencial de produção e sua qualidade nutritiva, além de sobreviver melhor que outros cereais em locais de baixa disponibilidade hídrica, devido ao seu sistema radicular, que explora maior área lateral e em profundidade, conseguindo assim absorver maiores quantidades de água, mesmo quando ocorre baixa precipitação, além de terem maior capacidade de recuperação com o retorno da chuva (TORRES et al., 2014).

Por serem plantas típicas de regiões de clima quente e apresentarem alta eficiência do uso de água, essas três gramíneas representam uma opção alternativa e/ou estratégia para cultivo em áreas com pouca disponibilidade hídrica.

## **2.2 Utilização de fertilizantes nitrogenados em milho, sorgo e milheto**

O nitrogênio é o nutriente mais exigido para as culturas do milho, milheto e sorgo, pois compõe compostos orgânicos essenciais, como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hormônios e clorofila (MALAVOLTA, 2006). No solo sofre diversas transformações, podendo ser perdido por lixiviação, erosão, volatilização, ou desnitrificação (CHAPIN et al., 2011; BRADY; WEIL, 2013).

É o nutriente que mais influencia a produtividade do milho (SILVA; SILVA; LIBADI, 2013) e o que mais onera o custo de produção (MELO; CORA; CARDOSO, 2011). Guedes et al. (2017) tiveram resultados que evidenciaram que a adubação de fundação e em cobertura proporcionam maior produtividade de massa verde total, porém o parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura não promoveu resultados significativos. Em relação à fonte de nitrogênio, Portela et al. (2016) utilizando dois tipos de adubos nitrogenados observaram que o sulfato de amônio promoveu melhores resultados (número, produtividade, diâmetro, comprimento de espigas verdes, altura de planta e altura de inserção da primeira espiga) que a uréia na cultura do milho.

Para o sorgo e milheto, o nitrogênio (N) é também o nutriente mais limitante e o mais requerido, sendo que seu acúmulo ocorre linearmente até a maturação (LIMA et al., 2013). Sua necessidade é em altas doses, podendo chegar, por exemplo, a 200 kg de N ha<sup>-1</sup> para obtenção da maior produtividade de massa fresca total para o sorgo sacarino BRS 506 (JARDIM et al., 2015).

As grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados aplicados na agricultura contribuem para a poluição das águas, quer seja por manejo inadequado ou quantidades superiores às requeridas pela cultura. Esse elemento, em elevada concentração na água, contribui com a eutrofização, que é uma excessiva concentração de nutrientes que resulta em alto crescimento da biota aquática e restringe o uso da água em diversas atividades. A proliferação de muitos gêneros de cianobactérias nesses ambientes, quando submetidas a determinadas condições ambientais, pode produzir toxinas que chegam a ser fatais aos animais e aos seres humanos (RAMOS et al., 2016). Por mais que tenha sua principal atenção voltada ao fósforo, o nitrogênio também contribui para esse fenômeno (VIDAL; CAPELO NETO, 2014).

### **2.3 A fixação biológica de nitrogênio**

A produção de diversas culturas na maioria dos solos tropicais é limitada pela necessidade de adubação nitrogenada. Embora corresponda a mais de 78% do ar atmosférico,

o  $N_2$  não pode ser absorvido pelas plantas, sendo necessária a quebra da tripla ligação e produção de amônia ( $NH_3$ ). A fixação do N atmosférico pode se dar por meio de descargas elétricas na atmosfera; pelo processo industrial de Haber-Bosch, que emprega temperaturas de 300 a 500° C a uma pressão acima de 300 atm (RIBEIRO, 2013); ou pela ação de micro-organismos que apresentam o complexo nitrogenase, enzima que transforma o N presente no ar em formas assimiláveis pelas plantas (REIS, 2013). A FBN é de extrema importância para a agricultura, pois tem o potencial de reduzir o uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados, resultando em economia para o produtor e mitigação dos impactos sobre o meio ambiente. Além disso, é a principal possibilidade de aporte de N em sistemas agrícolas de baixo uso de insumos, comuns em diversas áreas do Nordeste do Brasil.

Um dos exemplos mais importantes do sucesso do uso da FBN na agricultura é na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.), em que a inoculação com *Bradyrhizobium* substituiu com sucesso o uso do fertilizante mineral (MENDES; HUNGRIA, 2003) e torna o Brasil competitivo no mercado internacional do grão. Outro exemplo extremamente importante é a cana-de-açúcar que, no país, é cultivada recebendo doses de fertilizantes nitrogenados que não suprem a exportação do nutriente pelas colheitas (BODDEY et al., 2003). A FBN, resultante da associação da cana com bactérias diazotróficas, influencia diretamente na economia de fertilizante nitrogenado, um insumo que demanda altos níveis de energia fóssil na sua síntese e no seu transporte, tornando a cana-de-açúcar uma das culturas mais eficientes na produção bioenergética do mundo (BALDANI et al., 2009).

Para a cultura do milho, estima-se que a utilização de inoculação de bactérias diazotróficas pelos produtores, poderá gerar uma economia de 1,2 bilhões de dólares por ano, utilizando apenas uma complementação de 50% do N-fertilizante para as culturas (HUNGRIA et al., 2010). Assim, a FBN apresenta extrema importância para substituir ou complementar a adubação com fertilizantes químicos em diversas culturas.

Micro-organismos fixadores de nitrogênio podem ser encontrados entre diversos grupos filogenéticos representativos de Bactérias e Arqueas e essa alta diversidade garante suas ocorrências nos mais diferentes tipos de habitats. De acordo com as relações entre estes micro-organismos diazotróficos e as plantas, eles podem ser classificados como: simbióticos, que têm relação mutuamente vantajosa; associativos, quando estabelecem relação menos especializada, ou de vida livre, que habitam diversos tipos de solos, rizosfera ou filosfera de plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A associação simbiótica entre espécies da família das leguminosas e as bactérias diazotróficas conhecidas como rizóbios é o sistema mais bem estudado. Nesta associação, as

bactérias invadem as raízes das plantas, formando nódulos onde o nitrogênio livre no ar é convertido em nitrogênio fixado para assimilação ou estoque pela planta.

Embora presente em um grande número de espécies, a capacidade de FBN não é comum a todas as leguminosas, variando entre sub-famílias, gêneros e até mesmo entre espécies dentro de um mesmo gênero (SPRENT, 2009). Diversos grupos de pesquisa vêm se dedicando a estudar diferentes aspectos relacionados à FBN no Nordeste brasileiro. Como resultado desse esforço, existe uma literatura crescente sobre a diversidade de rizóbios nativos de solos da região (FREITAS et al., 2015), demonstrando a existência natural de populações de microssimbiontes capazes de nodular feijão-caupi (FREITAS et al., 2012), amendoim (LYRA et al., 2013), leguminosas utilizadas como adubo verde (CALHEIROS et al., 2013), entre outras.

Diversas espécies diazotróficas já foram observadas colonizando raízes ou colmos de gramíneas: como *Azospirillum* spp. em arroz (CARDOSO et al., 2010), milho e trigo (HUNGRIA et al., 2010); e *Burkholderia* em cana-de-açúcar (PEREIRA et al., 2012) e capim elefante (VIDEIRA et al., 2012). Diversas espécies de bactérias foram isoladas por Pedrinho et al. (2010) em tecidos de milho, sendo as mais frequentes: *Bacillus*, *Burkholderia* e *Azospirillum*, seguidas de *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum*, *Pantoea* e *Bosea*. Estudo em dois genótipos de capim elefante, através de sequenciamento de fragmentos 16S rRNA confirmaram a presença de *Azospirillum brasilense*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *G. liquefaciens*, *G. saccharz*, *Burkholderia silvatlantica*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter cloacae* e *E. Oryzae* colonizando as folhas, caules e raízes dessa gramínea. Por serem capazes de produzir substâncias promotoras de crescimento, esses micro-organismos têm potencial para exploração como biofertilizantes (VIDEIRA et al., 2012).

A comunidade diazotrófica associada a espécies de gramíneas é bastante estudada, porém, ainda não está estabelecido se o principal benefício para as gramíneas é a FBN ou a produção de ácido indol-3-acético (AIA) e/ou outras substâncias promotoras de crescimento (antibióticos, sideróforos, hormônios vegetais) que, comprovadamente, provocam alterações morfológicas na raiz (como o aumento das raízes laterais e dos pelos radiculares), aumentando a absorção de nutrientes (VIDEIRA et al., 2012; BENEDUZI et al., 2013; ALVES et al., 2015). A interação entre as bactérias diazotróficas associativas e as plantas não tem a mesma organização das simbioses, o que acarreta em menor eficiência da contribuição dos processos que realizam, incluindo a FBN, e dificuldades no seu manejo, com respostas nem sempre previsíveis da inoculação. Além disso, várias espécies ocorrem numa mesma planta, o que dificulta a identificação de quais estão contribuindo mais efetivamente e em qual

magnitude. Ainda não foi comprovada a existência de especificidade como a que ocorre entre os rizóbios e as leguminosas (MOREIRA et al., 2010).

Para se estimar a fixação biológica de nitrogênio têm sido cada vez mais utilizadas técnicas isotópicas, que podem ser pela abundância natural dos isótopos de N, pela técnica de diluição isotópica ou com o uso de N marcado. Para isso, é necessária a utilização de uma planta não fixadora de nitrogênio, ou testemunha. Esta planta controle e a planta fixadora de N<sub>2</sub> devem absorver N do solo com o mesmo enriquecimento de <sup>15</sup>N (BODDEY, 1987). Para se ter êxito na quantificação da FBN, deve-se fazer uso de uma planta-controle que explore um volume de solo semelhante ao da fixadora, apresentando, ainda, padrões de absorção e assimilação do N parecidos.

Existem, na natureza, dois isótopos estáveis do N, o de massa 14 e o de massa 15 (<sup>14</sup>N e <sup>15</sup>N). Estes são encontrados no ar, em proporções de 99,6337% e 0,3663% de átomos de <sup>14</sup>N e <sup>15</sup>N, respectivamente, e essa proporção é denominada de abundância natural. De acordo com Ledgard et al. (1984), que avaliaram a variabilidade no enriquecimento de <sup>15</sup>N no perfil de solos de diferentes profundidades (0-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-50 e 50-60 cm) verificou-se um aumento no  $\delta^{15}\text{N}$  com a profundidade e caso a planta testemunha não explore a mesma profundidade do solo que a planta em estudo, isso poderá refletir em diferenças no  $\delta^{15}\text{N}$  (BODDEY et al., 2001). Sendo assim, Urquiaga et al. (2007) aperfeiçoaram este método coletando amostras de solo em diferentes profundidades, cultivando três espécies de plantas não fixadoras e o  $\delta^{15}\text{N}$  de referência é calculado com a média ponderada do  $\delta^{15}\text{N}$ .

## **2.4 Utilização de adubos verdes**

A adubação verde é uma técnica baseada no uso de plantas que são incorporadas ao solo com a finalidade de melhorar sua qualidade física e fornecer nutrientes, aumentando assim a capacidade produtiva do solo de forma sustentável, pois não há adição de fertilizantes nitrogenados. Espécies da família das leguminosas são as mais utilizadas nessa prática, devido à sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico mediante simbiose com rizóbios; sua baixa relação C/N, aliada à grande presença de compostos solúveis, favorece a rápida decomposição e mineralização; além de possuírem sistema radicular profundo e ramificado, com capacidade de extrair nutrientes nas camadas mais profundas do solo (FERREIRA et al., 2011; PARTELLI et al., 2011).

Andrade Neto et al. (2010) observaram que uma maior produção de fitomassa da parte aérea do sorgo forrageiro é obtida quando se cultiva as leguminosas mucuna-preta e lab-lab

em consórcio com a gramínea, havendo também grande quantidade de nutrientes acumulados na parte aérea do sorgo, principalmente com uso do lab-lab e que ambos se apresentaram como boas opções de adubação verde para a cultura.

Para o milho, o uso de adubos verdes (tremoço branco, aveia preta e nabo forrageiro) é uma alternativa viável para se obter maior rendimento de grãos de milho, dispensando a adubação nitrogenada em cobertura (LÁZARO et al., 2013). Já Massad et al. (2014) comprovaram que o cultivo do milho verde em sucessão à crotalária mostra capacidade de substituir totalmente a aplicação de esterco, que é bastante utilizado no local, e torna uma alternativa significativa aos produtores da região.

Estudos com o uso de coquetéis vegetais, que consistem na utilização de diferentes espécies que são semeadas misturadas como culturas de cobertura e quando atingem o estágio de florescimento são cortadas e depositadas sobre o solo, mostram que a decomposição e liberação de nutrientes devido à adubação verde é muito benéfica ao solo, sendo metade da biomassa decomposta em 55 a 68 dias após o corte dos coquetéis, e a liberação de 50% dos macronutrientes ocorrendo a partir do 47º dia (GIONGO et al., 2011).

Pesquisas recentes mostram benefícios também para o meloeiro, em que a incorporação da fitomassa de coquetéis vegetais é uma alternativa viável para a adição de biomassa e nutrientes ao solo, proporcionando aumento de produtividade da cultura (GIONGO et al., 2016). Na mangueira a adubação verde promove alterações na composição química da matéria orgânica do solo, aumentando o conteúdo de substâncias húmicas, que apresentam grande quantidade de grupos carboxílicos e nitrogenados (CUNHA et al., 2016).

## **2.5 Consórcio e transferência de N entre gramíneas e leguminosas**

Uma abordagem que pode se revelar interessante para se beneficiar do processo de FBN em cultivos de gramíneas C4 é o consórcio com leguminosas capazes de formar simbiose eficiente com rizóbios entre as fileiras de plantio. Essa prática pode contribuir de forma significativa para o aumento de N no sistema, podendo, até mesmo, permitir redução da fertilização com nitrogênio, como já demonstrada entre milho e feijão-caupi (SANTOS et al., 2016).

A FBN nas leguminosas pode contribuir para a auto-suficiência do nitrogênio em sistemas de consórcio, já que parte do nitrogênio fixado pela leguminosa pode ser transferida para a gramínea associada. Porém, os mecanismos de transferência de N neste consórcio não são totalmente conhecidos, havendo apenas evidências da transferência do N de raízes de

leguminosas para a gramínea associada. A transferência pode ocorrer de forma direta, pela absorção de produtos nitrogenados excretados pelas raízes, por fluxo de nitrogênio através de hifas de micorrizas e por reabsorção do nitrogênio volatilizado ou lixiviado das folhas da leguminosa; ou indireta, pelos mecanismos de reciclagem no solo, senescência de raízes e nódulos (LOUARN et al., 2015).

Tais processos podem ocorrer em todas as direções, conforme constatado por Carlsson e Danell (2014), sendo de leguminosa para leguminosa, de leguminosa para não leguminosa, de não leguminosa para leguminosa e de não leguminosa para não leguminosa, mostrando assim a importância da utilização de plantas de referência em mistura com as leguminosas para que possam ser feitas quantificações confiáveis da fixação e transferência de  $N_2$  e não haja uma superestimação ao se usar uma planta de referência isolada do ambiente em que as outras plantas estão.

A transferência de nitrogênio entre espécies leguminosas e não leguminosas também pode ser investigada com o uso de isótopos estáveis. As variações naturais de nitrogênio são medidas por meio de espectrômetros de massa e as pequenas diferenças na abundância natural do  $^{15}N$  nas leguminosas, não leguminosas e  $N_2$  atmosférico determina o que foi proveniente da FBN. O valor de abundância natural de  $^{15}N$  da não leguminosa cultivada sozinha é maior do que quando estas crescem em consórcio com leguminosas e isso é o que é usado para estimar o valor de N transferido (PEOPLES et al., 2015).

Observa-se a transferência de nitrogênio não apenas em sistemas de consórcio gramínea-leguminosa, mas também em consórcio de leguminosas com outras famílias como a Solanaceae, em que a adubação verde em pré-cultivo e consórcio contribui significativamente para o fornecimento de N para a cultura da berinjela e a quantidade de N introduzida pela fixação biológica derivada da adubação verde de pré-cultivo e consórcio com berinjela é suficiente para compensar o N exportado pela colheita dos frutos (CASTRO et al., 2004).

Em pesquisa desenvolvida para avaliar a transferência de N entre leguminosas (glicíndia, crotalária e feijão guandu) em mangueira e gravioleira, observou-se que a crotalária forneceu, em dois cortes,  $149,5 \text{ kg ha}^{-1}$  por ano de N, com  $96,5 \text{ kg}$  derivados da FBN (64,5% do seu nitrogênio) e a glicíndia, com três podas,  $56,4$  e  $80,3 \text{ kg ha}^{-1}$  por ano de N, com  $45$  e  $64 \text{ kg}$  derivados da FBN (80% do seu nitrogênio), em dois anos consecutivos. Essa quantidade fornecida foi superior a demandada pela mangueira e gravioleira (PAULINO et al., 2009).

A presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMAS) auxilia nos processos de transferência do nitrogênio. As associações simbióticas entre eles e as raízes de plantas

apresentam baixa especificidade, ou seja, qualquer espécie de planta capaz de desenvolver a colonização fúngica pode ser colonizada por FMAS (SMITH; READ, 2008). O aumento do volume de solo explorado pelas hifas e o pequeno diâmetro delas, as permite explorar espaços no solo que não são acessíveis pelas raízes das plantas, além da zona de depleção de nutrientes próxima às raízes (MOHAMMADI et al., 2011). Além disso, se torna possível que a hifa externa dos FMAS, que se desenvolve no solo e está conectada às estruturas fúngicas dentro da raiz, possa estabelecer interconexões entre plantas, que permitem a transferência de substâncias entre plantas através da passagem direta pela hifa do fungo, tais como: carbono, fósforo, nitrogênio e água (CARRENHO, 2010). As hifas são também capazes de absorver elementos minerais dos solos e transferi-los para as raízes das plantas para serem absorvidos e assimilados. E dentro das raízes, a troca bidirecional ocorre principalmente nos arbúsculos, que são estruturas fúngicas presentes no córtex da planta (BERBARA et al., 2006). A absorção de N feita pelos FMAs está relacionada a uma bactéria diazotrófica, quando os FMAs inserem P à planta, contribuem também para a maior nodulação da leguminosa pelo rizóbio, já que o P é um dos elementos indispensáveis à nodulação e fixação do N. (CARDOSO et al., 2010)

## **2.6 Características físicas do solo e sua influência na FBN**

Os processos que envolvem disponibilidade, fixação e perdas de nutrientes no sistema solo-planta requerem uma abordagem não apenas dos fatores biológicos envolvidos, mas de outros que interferem direta ou indiretamente em tais eventos, como aqueles que refletem a qualidade física do solo, avaliada por atributos físico-hídricos que avaliam a estrutura do solo (CARVALHO; ZABOT, 2012).

Nesse contexto, atributos indicadores da qualidade física do solo como densidade, porosidade total do solo e distribuição do diâmetro dos poros, obtida pela relação entre umidade do solo e respectiva energia de retenção de água nos poros, estabilidade de agregados, bem como a resistência do solo à penetração do sistema radicular, estão inter-relacionados e refletem a estrutura do solo, podendo ser usados para avaliar a qualidade estrutural do solo (LI et al., 2011).

A estrutura do solo é um atributo edáfico que serve como referência aos estudos do solo no campo, ela influencia praticamente todos os fatores em que o potencial produtivo do solo está relacionado, como disponibilidade de água e nutrientes, aeração, germinação de sementes, penetração de raízes e atividade microbiana. Essas características físicas podem

interferir no estabelecimento das culturas porque afetam o desenvolvimento do sistema radicular.

O potencial de tolerância de uma cultura a condições de estresse hídrico e compactação do solo está associado às características do sistema radicular, que por sua vez, necessita de ambiente favorável para seu estabelecimento. Estudos relatam alterações significativas nos atributos físicos do solo em virtude do tráfego contínuo de máquinas pesadas e equipamentos agrícolas, onde a compactação tem sido indicada como a principal causa da degradação física desses solos pela redução de seu espaço poroso (BERGAMIN et al., 2010). Como consequência, há uma reestruturação do solo devido a reorganização das partículas sólidas e de seus agregados (RICHART et al., 2005), aumentando a densidade do solo (Ds), a resistência do solo à penetração de raízes (RP) e reduzindo a macroporosidade, afetando assim o crescimento e desenvolvimento radicular das plantas, conforme observado por Farias et al. (2013) na cultura do feijão-guandu e Bergamin et al. (2010) na cultura do milho, onde foram constatadas reduções nos valores de diâmetro, comprimento e superfície radicular.

A compactação do solo por meio de pastejo intenso de animais também pode causar redução na abundância de macroporos e consequente deficiência de oxigênio, o que resulta em uma menor diversidade bacteriana (CHAVEZ et al., 2011). Nas relações simbióticas entre micro-organismos e plantas, a falta de aeração gerada pela compactação eleva a temperatura do solo e afeta sensivelmente a associação nos estágios iniciais da infecção, isto é, no encurvamento dos pêlos radiculares - quando o processo de infecção é por esta via- no afrouxamento da parede celular (FRANCO, 1982).

A deficiência hídrica afeta não só a infecção, uma vez que altera a população rizobiana no solo, mas também a própria sobrevivência dos nódulos (CORDEIRO, 2002). A compactação reduz a porosidade do solo e esta, por sua vez, altera a dinâmica de água no solo, que é o meio pelo qual os nutrientes são absorvidos e disponibilizados para o metabolismo vegetal, podendo ocasionar deficiência de fósforo e potássio (CABRAL et al., 2012) e o fósforo está presente na ATP (Adenosina Trifosfato), necessária para reduzir o N<sub>2</sub> em amônia na fixação biológica.

A deficiência de nutrientes como molibdênio e ferro também afetam a eficiência da simbiose, pois são constituintes da nitrogenase (enzima responsável pela redução do N<sub>2</sub> à amônia), que é composta por duas metaloproteínas: uma, é a ferro proteína; e a outra, molibdênio-ferro proteína (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A utilização de cultivos consorciados proporciona aumento na macroporosidade e na porosidade total do solo, conforme Chioderoli et al. (2012), que evidenciam a importância das forrageiras na agregação, estruturação e permeabilidade do solo, podendo favorecer o desenvolvimento do sistema radicular e permitir a maior exploração do perfil do solo, facilitando o desenvolvimento do sistema radicular até as camadas mais profundas e proporcionando maior absorção de água e nutrientes.

Desse modo, percebe-se que tais deficiências nutricionais podem ser consequência da redução da qualidade física do solo, especificamente, quando da degradação da estrutura do solo, pela diminuição da macroporosidade, predominância de microporos, influenciando na disponibilidade e absorção de nutrientes para as plantas (KLEIN; LIBARDI, 2002; DEXTER, 2004).

Segundo Kopie Douglas (1991) a estrutura do solo considerada como ideal para o uso agrícola é aquela que permite uma grande área de contato entre as raízes e o solo, com espaço poroso suficiente e contínuo para o movimento da água e gases nos poros do solo, e onde a resistência do solo à penetração do sistema radicular das plantas não seja impeditiva ao crescimento de suas raízes e folhas.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Descrição do experimento**

Foi conduzido um experimento em casa de vegetação, utilizando vasos com capacidade para 6,5 dm<sup>3</sup> de solo. Os tratamentos consistiram em cultivos solteiros e consorciados de três espécies de gramíneas e três espécies intercalares, com um arranjo fatorial 3x4, com um delineamento em blocos ao acaso, com 12 tratamentos e quatro repetições.

Cada parcela experimental consistiu em um vaso, sempre com duas plantas, que podiam ser da mesma espécie ou de espécies diferentes, de acordo com o tratamento. As gramíneas estudadas foram o sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) cv. IPA 467, o milho (*Zea mays* L.) cv. São José e o milheto (*Pennisetum glaucum* L.) cv. IPA Bulk 1 BF. As espécies intercalares foram as leguminosas feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L. DC) cv. comum e feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) cv. Miranda IPA 207, e o girassol (*Helianthus annuus* L.) cv. Embrapa 122, sendo esse último inserido no experimento para ser utilizado como espécie intercalar não fixadora de N.

Dentro de cada bloco, 8 vasos extras foram inseridos como tratamentos comparativos. Girassol, algodão (*Gossypium* sp. L.) cv. FMT 70 e mamona (*Ricinus communis* L.) cv. Nordeste, foram cultivados para utilização como espécies referência para melhor avaliação do sinal isotópico do N do solo disponível para as plantas. Além desses, foram cultivados vasos apenas com as leguminosas, contendo duas plantas de feijão-caupi ou duas plantas de feijão-de-porco, e vasos apenas com as gramíneas recebendo adubação nitrogenada, contendo duas plantas de milho, duas plantas de sorgo ou duas plantas de milheto. Dessa forma, cada bloco foi composto por 20 parcelas experimentais, totalizando 80 vasos no experimento (Tabela 1).

Tabela 1-Tratamentos utilizados no experimento com cultivos solteiros e consorciados de gramíneas e leguminosas e inserção de planta referência

Número	Tratamento
1	Milho + feijão-de-porco
2	Milho + feijão-caupi
3	Milho + milho
4	Milho + girassol
5	Milho + N
6	Sorgo + feijão-de-porco
7	Sorgo + feijão-caupi
8	Sorgo + sorgo
9	Sorgo + girassol
10	Sorgo + N
11	Milheto + feijão-de-porco
12	Milheto + feijão-caupi
13	Milheto + milheto
14	Milheto + girassol
15	Milheto + N
16	Feijão-de-porco+ feijão-de-porco
17	Feijão-caupi+feijão-caupi
18	Girassol + girassol
19	Algodão + algodão
20	Mamona + mamona

### 3.2 Coleta e caracterização do solo

O solo foi coletado na camada superficial (0-30 cm) de um Planossolo, no campus do IFPE localizado no município de Belo Jardim, Vale do Ipojuca, Agreste de Pernambuco (08° 20' 09" S e 36° 25' 26" O, 607 m de altitude). A região está inserida na área de abrangência do Polígono das Secas, mas apresenta um tempo de estiagem menor que a do Sertão, devido a sua proximidade do litoral. O solo foi destorroado, passado em peneira de 4 mm e colocado nos vasos com capacidade de 6,5 L, sendo para isso utilizada uma massa de solo de 8,0 kg.

Amostras foram coletadas para determinação de características físicas e químicas (Tabela 2). O solo foi destorroado, homogeneizado e passado em peneira com malha de abertura de 2mm. O pH foi determinado em água (1:2,5); os cátions trocáveis foram extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, sendo K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> determinados por espectrofotômetro de emissão de chama e Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> determinados por titulação; o P (Mehlich-1) foi determinado por colorimetria; H+Al (acidez potencial), extraído com acetado de cálcio a pH7,0. Foram calculadas a soma de bases (SB) e CTC efetiva (t), todas conforme EMBRAPA (2009). As proporções de areia, silte e argila foram determinadas de acordo com metodologia descrita pela EMBRAPA (1997).

**Tabela 2-** Características químicas e granulometria do Planossolo coletado no município de Belo Jardim, Agreste de Pernambuco

<b>Atributos</b>	<b>Valor</b>
pH (em água 1:2,5)	6,22
P (mgdm <sup>-3</sup> )	185,57
Ca (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	2,29
Mg (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,49
K (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,72
Na (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,00
SB (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	3,50
H+Al (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	2,80
Al (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	0,05
t (cmolc.dm <sup>-3</sup> )	3,55
Areia (g.kg <sup>-1</sup> )	705,00
Argila (g.kg <sup>-1</sup> )	94,60
Silte (g.kg <sup>-1</sup> )	200,40
Textura	Franco arenosa

### 3.3 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Agronomia (DEPA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada na cidade do Recife, Estado de Pernambuco, com coordenadas geográficas 8° 1' 0,4" Sul e 34° 56' 41" Oeste. O estudo foi realizado no período de 18/04/2017 a 07/06/2017 totalizando 50 dias de avaliação.

As sementes de milho, milheto, sorgo, feijão-caupi, girassol e mamona utilizadas no experimento foram obtidas no IPA-PE (Figura 1). As sementes de algodão foram obtidas no Departamento de Fitotecnia da UFRPE e as de feijão-de-porco compradas na BR SEEDS.



**Figura 1** - Sementes de milho (A), milheto (B), sorgo (C), feijão-de-porco (D), feijão-caupi (E), algodão (F), girassol (G) e mamona (H) utilizadas no experimento

Em cada vaso foram feitas duas covas, nas quais as sementes foram colocadas conforme o tratamento. Foram semeadas três sementes por cova, exceto no caso do algodão, que foram utilizadas cinco sementes. No caso das leguminosas, a semeadura foi realizada oito dias após a semeadura das gramíneas e das plantas referência, devido ao fato de que algumas gramíneas, principalmente o sorgo, têm seu desenvolvimento inicial lento (CALVO; FOLONI; BRANCALIÃO, 2010) e as leguminosas possuem germinação e crescimento mais rápido, podendo interferir no estabelecimento da mesma no vaso. A Figura 2 mostra o tamanho das plântulas de feijão-caupi quatro dias após a semeadura. As sementes de feijão-de-porco estavam no início da germinação (Figura 3).



**Figura 2-** Plantas de milho, milheto e sorgo em consórcio quatro dias após o plantio do feijão-caupi

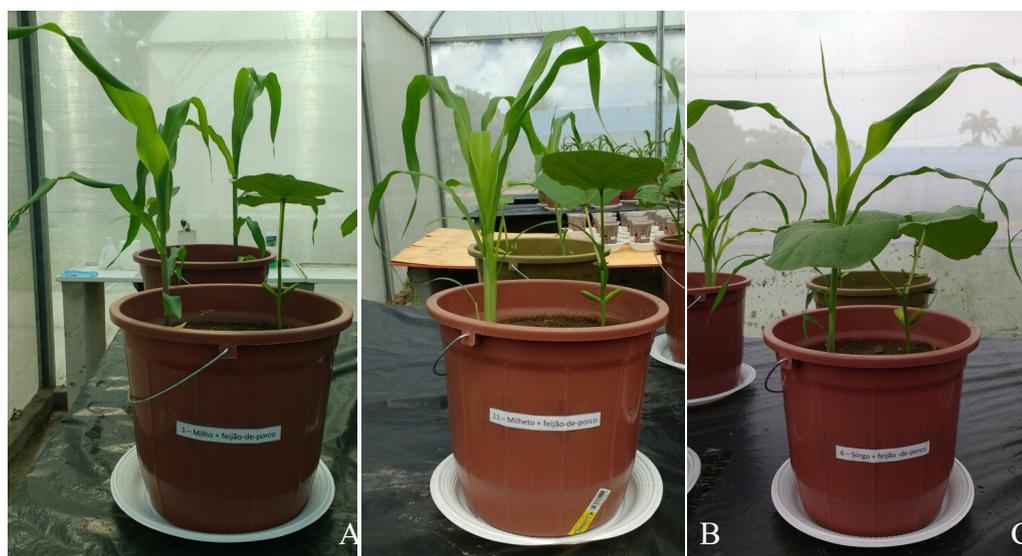


**Figura 3-** Cultivo solteiro de feijão-caupi e feijão-de-porco após quatrodias de plantio

O desbaste foi realizado 15 dias após o plantio (DAP), deixando-se duas plantas por vaso (Figura4), sendo duas da mesma espécie ou uma de cada espécie conforme o tratamento (consorciado ou solteiro), exceto para as leguminosas, nas quais o desbaste foi realizado aos dez DAP (Figura 5).

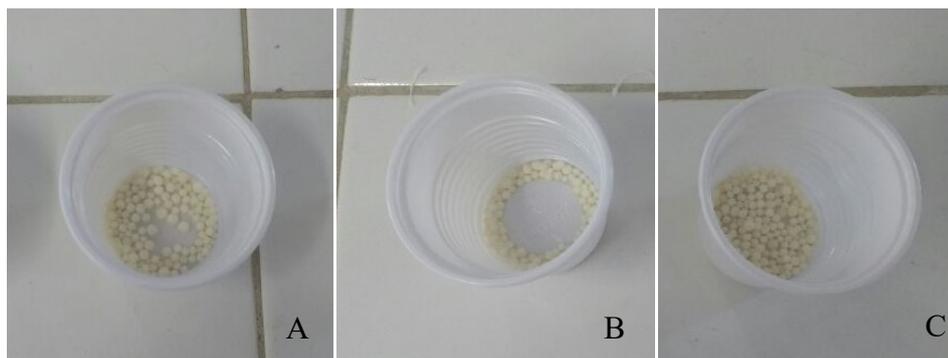


**Figura 4**-Indivíduos de milho, milheto e sorgo solteiros após desbaste em casa de vegetação

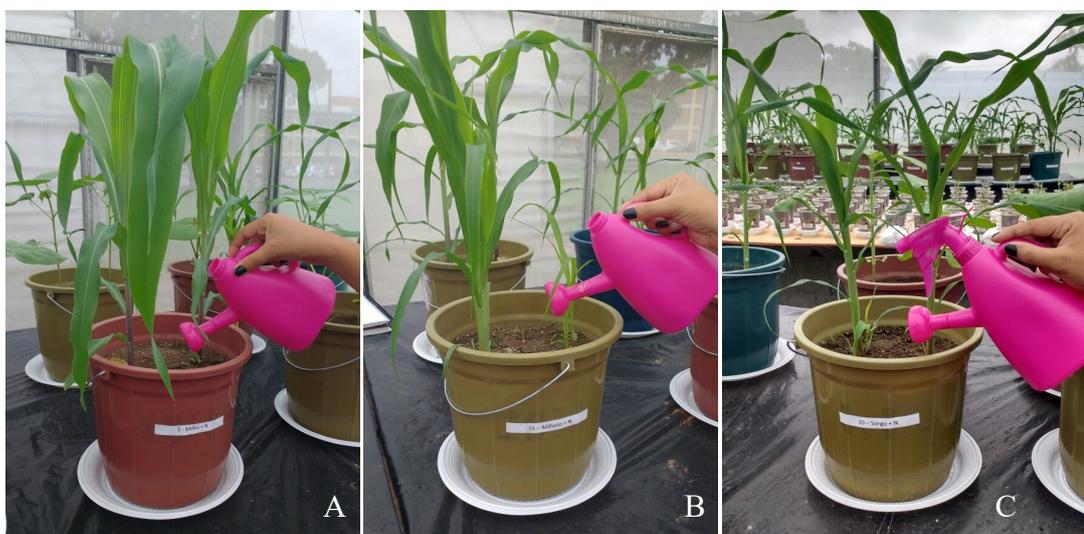


**Figura 5**-Indivíduos de milho (A), milheto (B) e sorgo (C) consorciados após desbaste em casa de vegetação

A adubação nitrogenada (Figura 6) foi aplicada aos 20 DAP, em quantidade equivalente à dose recomendada em campo para cada cultura, sendo o milho  $40 \text{ kg ha}^{-1}$ , milheto  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  e o sorgo  $60 \text{ kg ha}^{-1}$ , conforme Manual de Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (IPA, 2008). A fonte utilizada foi nitrato de amônio, contendo 35% de N. O fertilizante foi diluído em água para aplicação mais uniforme nos vasos (Figura 7).



**Figura 6** – Nitrato de amônio equivalente à dose recomendada para as culturas de milho (A), milheto (B) e sorgo (C) utilizadas na adubação nitrogenada



**Figura 7**- Aplicação do fertilizante nitrogenado nas plantas de milho, milheto e sorgo: A, B e C, respectivamente

A umidade gravimétrica do solo foi mantida em torno de 70% da capacidade de campo por meio de irrigações controladas pela pesagem dos vasos e a temperatura na casa de vegetação variou entre 28° e 43°.

### 3.4 Coleta do experimento

A coleta das plantas foi realizada aos 50 DAP das gramíneas (42 DAP para as leguminosas), sendo a parte aérea cortada rente ao solo. Foram separadas as vagens das leguminosas e a inflorescência das plantas de milheto, que foram pesadas separadamente, não sendo incluídas na biomassa total. As raízes foram coletadas dos vasos e lavadas. Após isso, o material foi acondicionado em sacos de papel, identificado e levado à estufa de circulação forçada de ar (72 horas a 60°C) para secagem e determinação da biomassa.

Antes da coleta das raízes, foi coletado de cada vaso uma amostra de solo, em anel volumétrico ( $\cong 100 \text{ cm}^3$ ), para determinação da condutividade hidráulica do solo saturado

( $K_{sat}$ ), densidade do solo ( $D_s$ ), porosidade ( $P$ ) e resistência do solo à penetração de raízes (RP) (Figura 8).



**Figura 8** –Coleta dos solos nos vasos em anéis volumétricos

As raízes foram coletadas e lavadas, os nódulos foram destacados e o solo restante dos vasos foi tamisado em peneira com malhas de 2 mm para resgate dos nódulos caídos. Estes foram lavados, contados e acondicionados em potes com sílica gel para remoção da umidade (Figura9) e determinação da biomassa.



**Figura 9**- Remoção das raízes (A), peneiramento do solo para resgate de nódulos caídos (B), raiz de feijão-de-porco com nódulos (C), nódulos de feijão-de-porco (D) e armazenamento dos nódulos (E)

### 3.5 Estimativa da fixação biológica e da transferência de N

Todas as amostras de biomassa aérea (caule e folhas, de todas as espécies) foram processadas em moinho de facas e maceradas quando necessário. O material foi devidamente identificado, colocado em cápsulas e inserido em um espectrômetro de massa Thermo Quest-Finnigan Delta Plus (Finnigan-MAT; CA, USA), com interface com um Analisador Elementar (Carlo Erba model 1110; Milan, Italy), no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA-USP, Brasil), para obtenção das concentrações totais (%) e das razões isotópicas de N e C. As razões isotópicas foram determinadas em relação aos padrões internacionais reconhecidos. Materiais de referência (atropina, extrato de levedura e padrão de solo no. 502 – 308 LECO Corporation) foram incluídos em todas as corridas analíticas. As abundâncias naturais do  $^{15}\text{N}$  e do  $^{13}\text{C}$  foram expressas em unidades de  $\delta$  (‰), que representa o desvio, em relação aos padrões, das razões entre as massas de  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ , seguindo a equação (1):

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

Em que:  $R_{\text{amostra}}$  e  $R_{\text{padrão}}$  são as razões  $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  da amostra e do padrão, sendo o  $\text{N}_2$  atmosférico o padrão de N e o *Pe eDee Belemnite* o padrão de C.

Estimativas da FBN foram realizadas quando a diferença entre as médias dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das leguminosas ou gramíneas e as das referências (girassol, algodão e mamona) foram estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ). Então foi estimado o percentual de nitrogênio derivado do ar (%N<sub>dda</sub>), utilizando o método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  (SHEARER; KOHL, 1986) por meio da equação (2):

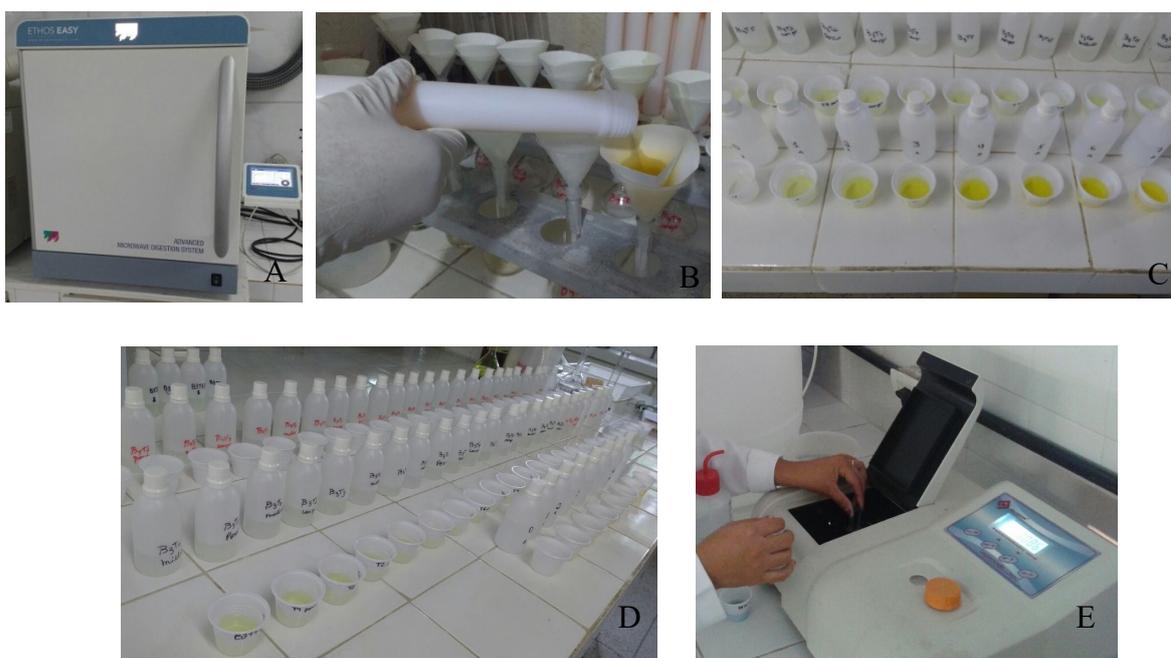
$$\%N_{\text{dda}} = [(\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - \delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}) / \delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - B] \times 100 \quad (2)$$

Em que  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}$  é o valor médio dos  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas referência de cada bloco,  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}$  é o valor médio de  $\delta^{15}\text{N}$  de cada leguminosa ou gramínea para cada parcela e B é o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  para plantas fixadoras cultivadas na ausência de N. Os valores de B utilizados foram: -1,00‰ para o feijão-de-porco (OJIEM et al., 2007); -1,61‰ para o feijão-caupi (UNKOVICH et al., 2008) e 0 ‰ para as gramíneas (MORAIS et al., 2012).

Foi assumido que ocorreu transferência de N fixado nas leguminosas para as gramíneas quando a diferença entre as médias de  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com as leguminosas e das médias de  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com o girassol foi estatisticamente significativa (PEOPLES et al., 2015).

### 3.6 Acúmulo de N e P nas plantas

A determinação das concentrações de fósforo nas plantas foi realizada por meio de digestão úmida em micro-ondas modelo ETHOS Easy da Milestone (Figura 10), seguindo o protocolo indicado pelo equipamento. O material vegetal moído foi pesado (2g) e digerido com 5mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) a 65% e 2mL de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). A leitura foi realizada utilizando o método da Espectrofotometria - amarelo de vanadato (EMBRAPA 2009).



**Figura 10-** Micro-ondas para digestão das amostras (A), Filtragem do material digerido (B), Preparo da curva de amarelo de vanadato (C), Preparo das amostras para leitura (D), Leitura das amostras(E)

Os conteúdos de N e P na parte aérea das plantas (gramíneas e leguminosas) foram estimados multiplicando os teores dos elementos pelas biomassas correspondentes. A quantidade de N fixado, na parte aérea das plantas, foi estimada multiplicando o valor de

percentual de N fixado pelo conteúdo de N de cada planta testada, em cada um dos tratamentos.

### 3.7 Parâmetros físico-hídricos

#### 3.7.1 Condutividade hidráulica do solo saturado (Ksat)

No ensaio de carga constante, com o uso do “permeâmetro” colocaram-se os anéis, que estavam previamente saturados (24 horas) e com o anel para adição da carga hidráulica acima do solo já fixado no mesmo (Figura 11). Encheu-se um recipiente com água e com o tempo de 10 min pré-estabelecido, foi pesado o volume de água que era percolada pelo solo, até que obtivesse peso constante, e então foi calculada a média dos dois últimos valores. O nível da carga hidráulica foi mantido constante e seu valor usado para os cálculos. A condutividade hidráulica por fim, foi calculada conforme a Lei de Darcy, expressa pela equação (4).

$$K_{sat} = \frac{V_a}{A_t} \times \frac{L}{L+h} \quad (4)$$

Onde:  $V_a$  é o volume de água (variável a ser medida);  $A$  é a área da seção transversal do anel;  $t$  é o tempo estabelecido para cada leitura;  $L$  é a altura do anel e  $h$  é a altura da carga hidráulica constante.



Figura 11-Permeâmetros de carga constante usados nos ensaio de Ksat

### 3.7.2 Porosidade Total do Solo (P) e Distribuição de Tamanho de Poros (DTP)

Os anéis foram dispostos na mesa de tensão após saturação das amostras por 24 horas (Figura 12). A partir disso, foi possível determinar a porosidade total (P; em  $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ), calculada mediante emprego da equação (5):

$$P = \frac{V_{\text{poros}}}{V_t} = \frac{V_{\text{sat}}}{V_{\text{anel}}} \quad (5)$$

Em que:  $V_{\text{poros}}$  é o volume de poros, assumido aqui como sendo igual ao  $V_{\text{sat}}$ ;  $V_{\text{sat}}$  é o volume de água para saturar os poros do solo, obtido pela diferença entre o peso do conjunto anel-solo saturado e anel-solo seco à 105 °C (expresso em  $\text{m}^3$ );  $V_t$  é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), obtido a partir da relação:  $V_t = \pi r^2 h$ , em  $\text{m}^3$ .



**Figura 12** – Amostras dos solos na mesa de tensão, usada para equilíbrio à 1,6 e 10 kPa

Na distribuição de tamanho de poros foi usada a classificação de Prevedello (1996), onde macroporos são poros com raio  $> 150 \mu\text{m}$ ; mesoporos aqueles com raio entre 150 e 25  $\mu\text{m}$ ; microporos aqueles com raio  $< 25 \mu\text{m}$ .

Seguindo esta classificação e usando a equação de capilaridade ( $\text{raio}_{\text{poro}} = 2 \sigma \cos \alpha / g Da \Psi$ ), a macroporosidade foi obtida após equilíbrio do conjunto anel-amostra na tensão de 1 kPa, conforme equação (6):

$$\text{Macro} = \frac{V_{\text{macro}}}{V_t} = \frac{(\text{Peso solo saturado} - \text{Peso solo equilibrado à 1kPa})/Da}{V_{\text{anel}}} \quad (6)$$

Em que: Macro = macroporosidade, expressa em  $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ;  $V_{\text{macro}}$  é o volume de macroporos, obtido pela diferença de peso entre o solo saturado e o solo equilibrado na tensão de 1 kPa, convertendo peso em volume, pela divisão pela densidade da água (Da);  $V_t$ , é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), expresso em  $\text{m}^3$ .

Depois de equilibrada a tensão de 1 kPa, a mesoporosidade foi obtida na sequência, após aplicação e equilíbrio de tensão correspondente a 6 kPa, e calculada seguindo a equação (7):

$$\text{Meso} = \frac{V_{\text{meso}}}{V_t} = \frac{(\text{Peso solo equilibrado à 1kPa} - \text{Peso solo equilibrado à 6kPa}) / \text{Da}}{V_{\text{anel}}} \quad (7)$$

Em que: Meso = mesoporosidade, expressa em  $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ;  $V_{\text{meso}}$  é o volume de mesoporos, obtido pela diferença entre o solo equilibrado à 1 kPa e a 6 kPa, convertendo peso em volume, pela divisão pela densidade da água (Da);  $V_t$ , é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), expresso em  $\text{m}^3$ .

A microporosidade foi obtida após subtração do peso do conjunto anel-solo equilibrados a 6 kPa e seco em estufa, conforme equação (8):

$$\text{Micro} = \frac{V_{\text{micro}}}{V_t} = \frac{(\text{Peso solo equilibrado à 6kPa} - \text{Peso solo seco em estufa}) / \text{Da}}{V_{\text{anel}}} \quad (8)$$

Em que: Micro = microporosidade, expressa em  $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ;  $V_{\text{micro}}$  é o volume de microporos, obtido pela diferença entre o solo equilibrado à 6 kPa e o peso do conjunto anel-solo seco em estufa a 105 °C por 24 horas, convertendo peso em volume, pela divisão pela densidade da água (Da);  $V_t$ , é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), em  $\text{m}^3$ .

### 3.7.3 Resistência do solo à penetração de raízes (RP)

Após obtenção de equilíbrio das amostras na tensão de 10kPa (capacidade de campo

para solos arenosos), as amostras foram pesadas e levadas ao penetrômetro de bancada para realização dos ensaios da RP (Figura 13).



**Figura 13:** Penetrômetro eletrônico de bancada

O penetrômetro eletrônico de bancada tem acoplado à sua célula de carga uma agulha que simula a penetração das raízes no solo. A agulha apresenta base na forma de cone com 4 mm de espessura e foi inserida na amostra com uma velocidade de  $0,03 \text{ mm s}^{-1}$ . O aparelho é acoplado a um computador para a aquisição dos dados, obtendo-se os resultados em MPa.

### 3.7.4 Umidade Volumétrica na Capacidade de Campo ( $\theta$ )

A umidade volumétrica na capacidade de campo das amostras foi obtida com o equilíbrio das amostras de solo na mesa de tensão a 10 kPa, conforme equação (9):

$$\theta_{cc} = \frac{V_{\text{água à 100 cca}}}{V_t} = \frac{(\text{Peso conjunto à 10kPa} - \text{Peso conjunto à 105}^\circ\text{C})}{V_{\text{anel}}} \quad (9)$$

Em que:  $V_{\text{água à 100 cca}}$  = é o volume de água nos poros do solo equilibrado na tensão de 100 cca, expresso em  $\text{m}^3$ ;  $V_t$ , é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), em  $\text{m}^3$ .

### 3.7.5 Densidade do solo (Ds)

A densidade do solo foi obtida por meio do método do anel volumétrico, conforme sugerem Grossman e Reinsch (2002), obtida conforme equação (10).

$$D_s = \frac{M_s}{V_t} \quad (10)$$

Em que:  $D_s$  é a densidade do solo ( $\text{kg m}^{-3}$ );  $M_s$  é a massa de sólidos, obtida pela quantidade de amostra contida no anel volumétrico e seca a  $105^\circ\text{C}$  (kg);  $V_t$ , é o volume do solo, assumido aqui como sendo igual ao volume do anel volumétrico ( $V_{\text{anel}}$ ), em  $\text{m}^3$ .

### 3.8 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando o F foi significativo, foram realizadas comparações de médias utilizando o programa computacional Sisvar (Ferreira, 2011). Para as comparações das biomassas, concentrações e acúmulos de N e P nas gramíneas foi considerado um experimento fatorial  $3 \times 4$  (12 tratamentos: 3 espécies de gramíneas e 4 situações de espécies consorciadas) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as comparações das biomassas, concentrações e acúmulos de N e P, nodulação, %N<sub>dda</sub> e N fixado nas leguminosas, as comparações foram feitas considerando um experimento fatorial  $2 \times 4$  (8 tratamentos: 2 espécies de leguminosas e 4 situações de espécies consorciadas) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de número de nódulos foram transformados em  $(x + 1)^{1/2}$ .

Para detectar a fixação biológica e a transferência de N, as médias  $\delta^{15}\text{N}$  foram comparadas utilizando o teste T. Para a FBN, os sinais isotópicos de cada espécie de gramínea e de cada espécie de leguminosa, em cada tratamento, foram comparados com a média dos sinais isotópicos das plantas referência (girassol, algodão e mamona) cultivadas para esta finalidade. Para estimar a possível transferência de N fixado nas leguminosas para as gramíneas, as médias  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com as leguminosas foram comparadas com as médias de  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com o girassol.

Para as comparações dos parâmetros físicos do solo, foi considerado um experimento fatorial  $3 * 4$  (12 tratamentos: 3 espécies de gramíneas e 4 situações de espécies intercalares) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Produtividade de biomassa de diferentes gramíneas nos cultivos solteiros e consorciados

Aos 50 DAP, as gramíneas apresentaram biomassa variando entre 23,91 e 41,76g/planta (Tabela 3). Só foi observada diferença entre as espécies nos cultivos consorciados com o girassol, no qual o sorgo produziu menos biomassa aérea que o milho. O monocultivo das três gramíneas produziu quantidades de matéria seca (MS) estatisticamente equivalentes aos seus consórcios com feijão-de-porco e feijão-caupi (Tabela 3), assim os consórcios não aumentaram a produtividade de MS em relação aos cultivos isolados das gramíneas. A maior produtividade do milho e do sorgo foi em consórcio com o feijão-caupi, com 41,76 e 31,21 g/planta respectivamente, porém não houve diferença estatística entre os tratamentos, inclusive em cultivo solteiro, que teve em ambos os casos a menor média (28,05 e 23,91g/planta). Para o milho, a maior produção foi em consórcio com o girassol, diferindo do cultivo solteiro, com 39,20 e 22,50 g/planta, respectivamente.

O crescimento inicial de gramíneas de cobertura geralmente é expressivo, o que as torna uma ótima opção para produção de palhada em sistemas de plantio direto (SPD) em relação às leguminosas (CAZETTA; FORNASIERI FILHO; GIROTTO, 2005). Entretanto, apesar de ser uma gramínea tropical de via fotossintética C4, o sorgo apresenta crescimento inicial bastante lento com baixa produção de material vegetal em relação ao milho e milho, conforme Tabela 03. Os valores de biomassa das gramíneas podem ainda ter sido afetados devido a competições intraespecíficas nos sistemas de monocultivo ou interespecíficas nos consórcios com as leguminosas nos vasos, conforme constatado por Calvo, Fologi e Brancalhão (2010), o que explica a maior produtividade do milho em consórcio com o girassol, que apresenta sistema radicular e biomassa aérea consideravelmente menor em relação à gramínea, apresentando assim valor de biomassa no consórcio (milho x girassol) significativamente superior em relação ao monocultivo (milho x milho).

Na fase de colheita do experimento, por provável influência da temperatura, houve aceleração da passagem da fase vegetativa para a reprodutiva nas plantas de milho, conforme constatado por Coimbra e Nakagawa (2006), o que pode ter estagnado a produção da gramínea devido à fase de enchimento de grãos, observado também por Calvo, Fologi e

Brancalião (2010). O girassol também estava em fase reprodutiva e as demais gramíneas ainda em fase vegetativa.

**Tabela 3** - Biomassa, concentrações e acúmulos de N e P em gramíneas em cultivo consorciado com diferentes espécies C3 ou em cultivo solteiro (com e sem adubação nitrogenada) em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Espécie de gramínea	Cultivo consorciado			Cultivo solteiro
	Feijão-de-porco	Feijão-caupi	Girassol	Sem N
<b>Biomassa (g/planta)</b>				
Milho	36,62aA	41,76aA	34,56abA	28,05aA
Sorgo	25,44aA	31,21aA	25,21bA	23,91aA
Milheto	33,12aAB	32,74aAB	39,20aA	22,50aB
<b>N total (%)</b>				
Milho	0,47aA	0,56aA	0,53abA	0,51aA
Sorgo	0,64aA	0,59aA	0,57aA	0,59aA
Milheto	0,40bA	0,50aA	0,42bA	0,38bA
<b>N acumulado (mg/planta)</b>				
Milho	174,18aAB	235,01aA	181,37aAB	144,83aB
Sorgo	164,22aA	178,17aA	145,02aA	137,64aA
Milheto	134,84aAB	144,28bAB	165,93aA	86,27aB
<b>P total (%)</b>				
Milho	0,22aA	0,21bA	0,22aA	0,25aA
Sorgo	0,28aA	0,16bA	0,22aA	0,22aA
Milheto	0,32aAB	0,41aA	0,29aAB	0,24aB
<b>P acumulado (mg/planta)</b>				
Milho	82,22abA	90,29aA	74,54abA	74,77aA
Sorgo	71,89bA	44,56bA	54,13bA	54,46aA
Milheto	108,24aA	122,28aA	108,45aA	54,11aB

\*Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha, letras minúsculas comparam as médias na mesma coluna pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

As concentrações de N total nas gramíneas variaram entre 0,38 e 0,64%, não apresentando diferença entre os cultivos solteiros ou os consórcios com leguminosas ou com girassol (Tabela 3). A concentração de N no milheto sempre foi menor que a das demais espécies, com exceção do cultivo em consórcio com feijão-caupi. O sorgo foi a espécie que apresentou maior concentração de nitrogênio na parte aérea, em todos os tratamentos, porém, como seus valores de biomassa não foram os maiores, essas concentrações não refletiram em maiores quantidades de N acumulado na planta.

Para o milho, o tratamento com feijão-caupi apresentou 235,01 mg/planta de nitrogênio acumulado, diferindo do tratamento em monocultivo com 144,83 mg/planta, que pode ser devido a competição entre as duas plantas de milho no mesmo vaso de cultivo solteiro, já que a gramínea apresenta volume radicular superior ao do feijão-de-porco.

Os teores de P total nas plantas variaram de 0,16 a 0,41%, sendo este maior valor no tratamento de consórcio entre o milheto e o feijão-caupi, diferente estatisticamente de seu cultivo solteiro que teve 0,24% de P. As quantidades de fósforo acumulado nas plantas

chegaram a quase 123 mg/planta, no tratamento milho e feijão-caupi e 108,24 mg/planta com o feijão-de-porco, ambos diferente estatisticamente de seu cultivo solteiro com 54,11 mg/planta. Os cultivos solteiros apresentaram menor valor de P acumulado em relação a seus consórcios, exceto no consórcio sorgo com feijão-caupi, que teve menor acúmulo de fósforo em relação ao monocultivo do sorgo, com 44,56 e 54,46 mg/planta.

#### **4.2 Nodulação (número e biomassa de nódulos por planta) e produtividade de biomassa aérea das leguminosas em consórcio com as gramíneas**

A presença de populações rizobianas compatíveis no solo foi demonstrada pela nodulação natural das leguminosas (Tabela 4). A nodulação natural (não induzida por estirpes de rizóbio inoculadas) é esperada em leguminosas cultivadas em solos do Semiárido de Pernambuco (FREITAS et al., 2012). Diversas estirpes de rizóbios nativos podem se associar às raízes dessas leguminosas e o número, a biomassa e o tamanho dos nódulos são indicadores usuais de nodulação (FERREIRA; CASTRO, 1995).

Constatou-se que a espécie de gramínea não altera a nodulação, demonstrada pelas semelhanças no número de nódulos, biomassa seca e tamanho médio de nódulos da leguminosa quando cultivada junto com milho, sorgo ou milho. Em média as plantas apresentaram de 56 a 129 nódulos, com uma biomassa seca de nódulos 0,84 e 0,45 g/planta e tamanho médio de nódulos de 7,81 e 8,63 mg para o feijão-de-porco e caupi, respectivamente.

O feijão-de-porco apresentou maior produção de biomassa de nódulos em relação ao feijão-caupi, principalmente as plantas em consórcio com o sorgo e em cultivo solteiro (Tabela 4). Entretanto, como essa leguminosa apresentou maior número de nódulos, o tamanho médio dos nódulos do feijão-de-porco não diferiu do tamanho dos nódulos do feijão-caupi.

As plantas de feijão-caupi estavam em fase reprodutiva, algumas com vagens já formadas em processo de enchimento de grãos no momento da colheita do experimento. Para espécies de crescimento determinado, tais como a soja, a nodulação se intensifica até o florescimento, havendo manutenção na nodulação até formação das vagens, quando se inicia a senescência dos nódulos (HUNGRIA et al., 1994). Para as espécies de crescimento indeterminado, como o feijão comum e o feijão-caupi, pode ocorrer um prolongamento na nodulação após a formação das vagens, conforme constatado por Xavier et al. (2007). Estes mesmos autores observaram que a nodulação aumentou durante o ciclo fenológico da planta, com duas cultivares de feijão-caupi apresentando maior número de nódulos aos 30 e 50 dias

após emergência, que correspondem aos estádios de início do florescimento e formação das vagens, havendo aumento significativo na massa e tamanho de nódulos durante ciclo fenológico das cultivares, indicando que uma vez formados, os nódulos aumentam sua massa e conseqüentemente a eficiência na FBN.

**Tabela 4** - Nodulação das diferentes espécies de leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Leguminosa	Cultivo consorciado			Cultivo solteiro
	Milho	Sorgo	Milheto	
	<b>Número de nódulos</b>			
Feijão-de-porco	100aA	122aA	122aA	129aA
Feijão-caupi	50aA	56aA	56aA	60aA
	<b>Biomassa de nódulos (g)</b>			
Feijão-de-porco	0,64aA	0,99aA	0,67aA	1,06aA
Feijão-caupi	0,32aA	0,53bA	0,44aA	0,52bA
	<b>Tamanho médio de nódulos (mg)</b>			
Feijão-de-porco	6,53aA	9,13aA	4,99aA	10,59aA
Feijão-caupi	7,11aA	9,39aA	8,25aA	9,80aA

Letras maiúsculas comparam as médias na mesma linha e as minúsculas comparam as médias na mesma coluna pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

A produção de biomassa aérea do feijão-de-porco variou entre 15,04 e 20,13g/planta, não havendo diferença estatística entre os tratamentos consorciados com gramíneas ou solteiro. Os teores de N nas plantas foram altos, variando entre 3,04 a 3,61% para o feijão-de-porco que corresponde a 454,25 e 705,70 mg/planta de N acumulado (Tabela 5)

Para o feijão-caupi o consórcio com o sorgo foi o que apresentou maior valor de biomassa com 20,90 g/planta, diferindo do consórcio com o milho que teve 10,06 g/planta. Embora o teor de N do feijão-caupi em consórcio com o sorgo (2,88%) tenha sido menor que nos demais tratamentos, ainda corresponde a maior quantidade de N acumulado, com 593,06mg/planta. O tratamento em consórcio com o milho apresentou a maior concentração de N total (3,55%), porém a menor quantidade de N acumulado (344,15mg/planta).

Em relação ao teor de P nas plantas o feijão-de-porco teve valores entre 0,16 e 0,32% de P total e 25,58 e 51,28 g/planta de P acumulado, não diferindo entre os tratamentos. Para o feijão-caupi, podemos sugerir uma relação entre o P na planta e sua nodulação. O P acumulado foi 24,96 mg/planta no consórcio com o milho e teve a menor média de tamanho de nódulos com 7,11mg, estatisticamente diferente do cultivo solteiro com 60,38 mg/planta de P acumulado e o tamanho médio de nódulos de 9,80mg (Tabela 5). Pesquisas revelam que os níveis adequados de P presentes no solo, seja de forma natural ou por meio de fertilização,

contribuem para o aumento da nodulação e para a fixação biológica de nitrogênio. Silva et al. (2010) constataram que a nodulação do feijão-caupi ocorre adequadamente em doses de aproximadamente 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Igualmente, Okeleye e Okelana (1997) demonstraram aumento significativo na nodulação do feijão-caupi em doses crescentes de P.

**Tabela 5-** Biomassa, concentrações e acúmulos de N e P em leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Leguminosa	Cultivo consorciado			Cultivo solteiro
	Milho	Sorgo	Milheto	
	<b>Biomassa (g/planta)</b>			
Feijão-de-porco	15,12aA	16,75aA	15,04aA	20,13aA
Feijão-caupi	10,06aB	20,90aA	16,95aAB	16,22aAB
	<b>N total (%)</b>			
Feijão-de-porco	3,61aA	3,25aA	3,04aA	3,50aA
Feijão-caupi	3,55aA	2,88aA	3,25aA	3,21aA
	<b>N acumulado (mg/planta)</b>			
Feijão-de-porco	550,26aA	546,46aA	454,25aA	705,70aA
Feijão-caupi	344,15aA	593,06aA	513,54aA	508,49aA
	<b>P total (%)</b>			
Feijão-de-porco	0,20aA	0,32aA	0,16aA	0,23bA
Feijão-caupi	0,29aA	0,21aA	0,24aA	0,38aA
	<b>P acumulado (mg/planta)</b>			
Feijão-de-porco	29,25aA	51,28aA	25,58aA	44,22aA
Feijão-caupi	24,96aB	47,73aAB	38,63aAB	60,38aA

Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha (gramíneas) letras minúsculas comparam as médias na mesma coluna (leguminosas) pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4.3 Sinais isotópicos e contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das diferentes espécies

As gramíneas, como esperado, apresentaram-se enriquecidas em <sup>13</sup>C, com sinal isotópico variando entre -11,87 e -12,82 ‰, valores característicos de plantas de sistema fotossintético C4, enquanto que o sinal das leguminosas e das plantas referência (girassol, algodão e mamona) de sistema C3, foram sempre maiores que -27,08 ‰ (Tabela 6). Como é amplamente conhecido, as diferenças nos sistemas fotossintéticos causam diferenças na composição isotópica de C nos tecidos das plantas. Nas plantas C3, a enzima Rubisco, por apresentar uma menor afinidade pelo CO<sub>2</sub>, discrimina o isótopo pesado de carbono em relação ao isótopo leve muito mais do que a PEP carboxilase, envolvida no processo fotossintético das C4. Assim, as plantas de ciclo C3 acumulam menos <sup>13</sup>C (MARTINELLI et al., 2009). No

caso do presente estudo, esses resultados são importantes apenas para assegurar a identidade das amostras vegetais.

Os sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das espécies referência foram altos, sem diferença estatística entre as espécies e com média global para as três espécies (girassol, algodão e mamona) de 9,09‰ (Tabela 6). Entre as gramíneas cultivadas sem a presença de leguminosas, os sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  foram igualmente altos, sem diferença estatística dos valores encontrados nas espécies referência. Por outro lado, o feijão-caupi e o feijão-de-porco sempre apresentaram valores isotópicos significativamente menores (Tabela 6) que o das espécies referência, mostrando que as leguminosas obtiveram nitrogênio da atmosfera, enquanto que as gramíneas não. Assim, foi estimado o percentual de nitrogênio derivado do ar (%N<sub>dda</sub>) apenas nas leguminosas, utilizando o método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  (SHEARER; KOHL, 1986).

**Tabela 6-** Sinais isotópicos de plantas C3 e C4 cultivadas em diferentes sistemas de consórcio em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Espécies	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	
	Espécie		Espécie	
	C4	C3	C4	C3
<b>Espécies referência</b>	-	<b>9,09</b>	-	<b>-29,76</b>
Girassol + girassol	-	8,22	-	-29,98
Algodão + algodão	-	9,62	-	-29,30
Mamona + mamona	-	9,43	-	-29,99
<b>Sistema de cultivo</b>				
Milho + feijão-de-porco	8,97	0,45*	-11,87	-27,13
Milho + feijão-caupi	9,49	0,10*	-12,52	-29,28
Milho + milho	9,83	-	-11,96	-
Milho + girassol	9,44	10,62	-12,16	-30,69
Sorgo + feijão-de-porco	8,62	2,47*	-12,42	-27,89
Sorgo + feijão-caupi	8,87	0,85*	-12,49	-27,25
Sorgo + sorgo	9,13	-	-12,48	-
Sorgo + girassol	8,61	10,26	-12,35	-30,53
Milheto + feijão-de-porco	8,36	0,45*	-12,48	-28,02
Milheto + feijão-caupi	8,40	0,38*	-12,27	-29,42
Milheto + milheto	8,50	-	-12,76	-
Milheto + girassol	8,39	9,94	-12,82	-30,38
Feijão-de-porco + feijão-de-porco	-	1,75*	-	-27,08
Feijão-caupi + feijão-caupi	-	1,85*	-	-28,98

\*Médias estatisticamente diferentes da média das espécies referência (teste T, a 5% de probabilidade)

Existe uma literatura extensa sobre casos de associação entre gramíneas e bactérias endofíticas e posterior fixação biológica de nitrogênio. Ferreira Neto et al. (2017) observaram que o sorgo derivou 79% do nitrogênio da atmosfera e o milho teve valor no mesmo intervalo

que as espécies de leguminosas utilizadas no experimento (37 a 54%). Carvalho et al. (2017) encontraram fixação biológica em cana-de-açúcar, capim guiné, milho e sorgo. Santos et al.(2017), avaliando a contribuição de um inoculante misto contendo estirpes de *Burkholderia* spp. e *Herbaspirillum* ssp. para o crescimento de três genótipos de sorgo e encontraram valores de 31,4%, 22,7% e 19,4% de N fixado.Sendo assim, a não ocorrência de fixação das gramíneas no presente estudo pode ser em decorrência de ausência de bactérias endofíticas compatíveis presentes no solo (já que não houve inoculação), tempo de condução do experimento curto (50 dias), entre outros motivos.

As leguminosas fixaram altas proporções de nitrogênio atmosférico (Tabela 7), sendo maiores que 67% em todas as leguminosas, chegando a quase 87%, mas, não houve diferença entre os tratamentos. Para o feijão-de-porco a proporção de nitrogênio derivado da atmosfera (%Ndda) ficou entre 67,33% e 86,58%, mostrando que em cultivo consorciado ou solteiro a leguminosa tem considerável capacidade de fixação, que corresponde a uma média de 461,35 mg/planta de nitrogênio obtido por meio da FBN. O mesmo ocorreu com o feijão-caupi, que teve valores entre 69,68 e 84,95% e quantidade de N fixado em média 365,73 mg/planta.

**Tabela 7-** Nitrogênio derivado da atmosfera (%) e N fixado (mg/planta) das diferentes espécies de leguminosas em cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Leguminosa	Cultivo consorciado			Cultivo solteiro
	Milho	Sorgo	Milheto	
	<b>%Ndda</b>			
Feijão-de-porco	86,58aA	67,33aA	86,56aA	74,45aA
Feijão-caupi	84,95aA	78,55aA	82,65aA	69,68aA
	<b>N fixado (mg/planta)</b>			
Feijão-de-porco	474,86aA	449,51aA	391,29aA	529,73aA
Feijão-caupi	291,43aA	410,76aA	414,84aA	345,91aA

Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha (gramíneas), e letras minúsculas comparam as médias na mesma coluna (leguminosas) pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Os valores encontrados foram semelhantes aos de Brito et al. (2010), que avaliando a contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão comum e feijão-caupi observaram que o tratamento que recebeu a menor dose de N (2 mg kg<sup>-1</sup>) exibiu a maior média (207,53 mg/planta) de quantidade de N proveniente da FBN, correspondendo a 81,49% do N da planta. Outros pesquisadores encontraram valores inferiores, como Paulino et al. (2009), onde observaram que entre 45% e 80% de N presente nas leguminosas estudadas, feijão guandu, crotalária e gliricídia, foi

proveniente da FBN. Já Adjei-Nsiah et al. (2008) obtiveram valores de %N<sub>dda</sub> entre 46 e 79%. Freitas et al (2012), em experimento com objetivo de estimar a FBN e produtividade de variedades locais de feijão-caupi em associação com duas estirpes de inoculantes recomendadas e com rizóbios nativos, constataram que a %N<sub>dda</sub> variou entre 47 e 79%. Por outro lado, diferentemente dos resultados encontrados no presente trabalho, Ferreira Neto et al. (2017) encontraram 46% de nitrogênio derivado da atmosfera em feijão-caupi, e não encontraram fixação biológica em feijão-de-porco em solo da região do Submédio São Francisco.

As quantidades de N fixadas pelas leguminosas dependem de vários fatores como: espécie da leguminosa, condições do solo, natureza da bactéria, disponibilidade do nutriente no solo, densidade de plantio, etc. Shipanski, Drinkwater e Russelle (2010), constatam que o N proveniente da FBN na soja variou entre 36 e 82% e o pool de N do solo foi correlacionado inversamente com a %N fixado, sugerindo que a FBN aumentou à medida que as quantidades de N do solo diminuem, assim como Shipanski e Drinkwater (2012) em estudo com ervilha e trevo vermelho sugerem que as respostas de fixação de N das leguminosas são influenciadas pela disponibilidade de N do solo. Makoi, Chimphango e Dakora (2009) mostram o efeito da densidade de plantio de cinco genótipos de feijão-caupiem que os cultivos densos tiveram crescimento reduzido da planta, menor N-fixado e diminuição do rendimento de grãos por planta.

Alcantara et al. (2014), em avaliação da eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi, observaram uma variação de 49 a 65 % de N derivado da fixação biológica. Thilakarathna et al. (2016) constataram que todas as cultivares de trevo vermelho apresentaram alta fixação de nitrogênio durante os dois anos de produção com mais de 92% do N proveniente da FBN.

#### **4.4 Transferência de N fixado das leguminosas para as gramíneas.**

Os sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com as leguminosas não diferiram estatisticamente das médias de  $\delta^{15}\text{N}$  das gramíneas em consócio com o girassol (Tabela 6). Então podemos dizer que não houve transferência do nitrogênio das leguminosas para as gramíneas associadas. Como o experimento foi conduzido num curto espaço de tempo (50 dias desde o plantio das gramíneas até a colheita das plantas), esse período pode não ter sido suficiente para que houvesse a transferência do N fixado. Além de que, não houve corte das leguminosas para que houvesse liberação dos nutrientes no solo, conforme estudo de Paulino

et al. (2009), em que gliricídia (podada frequentemente, quando atingia altura média de 2,15m), crotalária (cortes aos 74 e 128 dias após semeadura) e feijão-guandu (um corte aos 81 dias após semeadura) foram cortadas e o material podado distribuído sob a copa das frutíferas em estudo, como conclusão a crotalária e a gliricídia transferem para a gravioleira de 22,5 a 40% do N da fixação biológica.

O uso de leguminosas de cobertura, além de melhorar as propriedades físicas e diminuir incidência de vegetação espontânea na área, ainda aumenta o conteúdo de nutrientes no solo devido ao corte dessas leguminosas e liberação dos nutrientes. Conforme Salmi, Salmi e Abboud (2006), em estudo para avaliação de dinâmica e liberação de nutrientes de seis genótipos de feijão-guandu cultivados em aléias (não foi realizada adubação nitrogenada nem inoculação) onde as plantas por ocasião do florescimento foram podadas e a fitomassa depositada em cobertura nas aléias, aos 56 dias aproximadamente 60% do N e 65% do P e do K contidos na biomassa remanescente, haviam sido liberados no solo.

Sakai et al. (2011) avaliaram a transferência de nitrogênio de adubos verdes (aveia preta, feijão-caupi e tremoço-branco) para alface em cultivos consorciados, sem adubação nitrogenada e sem inoculação, plantados 60 dias antes e no transplante das mudas de alface. O adubo verde foi cortado periodicamente aos 20 cm e o material depositado sobre o solo e as plantas de alface colhidas aos 49 dias após transplante. Os autores observaram que no tempo 0 o adubo verde acumulou menor quantidade de N em relação ao tempo 60 e como o material foi cortado e depositado no solo foram liberadas maiores quantidades de N para a alface. Ocorreu transferência nos dois tempos de semeadura, que foi de 18, 17 e 7% de tremoço-branco, feijão-caupi e aveia preta, respectivamente.

Portanto, o tempo de condução do experimento e/ou a ausência de corte do material vegetal no presente trabalho pode ter influenciado a transferência do N fixado das leguminosas para as gramíneas associadas.

#### **4.5 Ensaio físico-hídricos**

O solo coletado de cada vaso nos anéis volumétricos no momento da colheita do experimento, apresentaram RP variando de 0,90 a 1,36 MPa (Tabela 8). Valores de 1 MPa (EHLERS et al., 1983), 2 MPa (NESMITH, 1987), 3,5 MPa (MEROTTO JR; MUNDSTOCK, 1999) e 5 MPa (CANARACHE, 1990), são indicados como sendo o limite crítico de resistência à penetração de raízes. Entretanto, muitos pesquisadores utilizam o valor de 2 MPa

como o limite crítico, conforme Taylor et al. (1966). Sendo assim, o solo de estudo está entre o limite ideal para o desenvolvimento radicular das plantas.

A umidade do solo na capacidade de campo (100cca) variou entre 13,51 a 18,33%, não diferindo entre os tratamentos para milho, milho e sorgo, o mesmo ocorreu com a densidade do solo que variou entre 1,5 e 1,6 gcm<sup>-3</sup>.

A condutividade hidráulica do solo saturado (Ksat) foi sempre menor nos cultivos solteiros das gramíneas, mostrando que os consórcios com as leguminosas são benéficos para o movimento da água, aumentando conseqüentemente, a translocação de nutrientes entre as camadas do solo. Para o milho, o consórcio com o feijão-de-porco foi o que apresentou maior valor de Ksat com 687,58 mmh<sup>-1</sup>, já para o sorgo e milho foi o consórcio com o feijão-caupi com 600,88 e 492,49 mmh<sup>-1</sup> de condutividade hidráulica.

**Tabela 8** - Resistência a Penetração de raízes (RP), Umidade na capacidade de campo ( $\Theta_{cc}$ ), Condutividade hidráulica do solo saturado (Ksat) e Densidade do solo (DS) nos tratamentos de cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Espécie de gramínea	Cultivo consorciado			Gramínea da mesma espécie
	Feijão-de-porco	Feijão-caupi	Girassol	
<b>RP (MPa)</b>				
Milho	0,92aA	0,95aA	1,10aA	1,32aA
Sorgo	0,90aA	1,25aA	1,08aA	1,36aA
Milheto	1,06aA	1,06aA	1,17aA	1,18aA
<b><math>\Theta_{cc}</math> (%)</b>				
Milho	13,51aA	15,45aA	15,25aA	16,55aA
Sorgo	16,14aA	14,90aA	15,84aA	16,81aA
Milheto	15,73aA	16,16aA	16,93aA	18,33aA
<b>Ksat (mmh<sup>-1</sup>)</b>				
Milho	687,58aA	643,83aA	637,54abA	391,84aA
Sorgo	457,95aAB	600,88aAB	746,75aA	283,91aB
Milheto	489,27aA	492,49aA	308,30bA	138,06aA
<b>DS (gcm<sup>-3</sup>)</b>				
Milho	1,52aA	1,50aA	1,55aA	1,54aA
Sorgo	1,54aA	1,55aA	1,56aA	1,57aA
Milheto	1,55aA	1,57aA	1,60aA	1,60aA

Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha (gramíneas) letras minúsculas comparam as médias na mesma coluna (leguminosas) pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para o milho e sorgo não houve diferença entre os tratamentos consorciados ou solteiros, já o milheto teve sua porosidade total menor quando cultivado em monocultivo em relação ao consórcio com o feijão-caupi, sendo de 35,47 e 45,03% a sua porosidade total

(Tabela 9). Conseqüentemente, a percentagem de macroporos foi maior no consórcio com caupi (8,46%) do que em cultivo solteiro (5,42%). Esses valores já são esperados nos cultivos consorciados, devido aos benefícios que a adubação verde traz para as propriedades físicas do solo, por exemplo, Lanzasova et al. (2010) verificaram que o uso das culturas de feijão de porco e de mucuna cinza foram eficientes em manter as condições físicas do solo (densidade, porosidade, resistência à penetração e taxa de infiltração de água) adequadas ao desenvolvimento vegetal.

**Tabela 9**-Porosidade Total e Distribuição de Tamanho de Poros do solo nos tratamentos de cultivo consorciado com diferentes espécies C4 ou em cultivo solteiro em um Planossolo do Agreste de Pernambuco

Espécie de gramínea	Cultivo consorciado			Gramínea da mesma espécie
	Feijão-de-porco	Feijão-caupi	Girassol	
<b>P(%)</b>				
Milho	43,21aA	44,01aA	43,95aA	39,06aA
Sorgo	43,88aA	42,52aA	43,33aA	39,89aA
Milheto	43,54aAB	45,03aA	38,97aAB	35,47aB
<b>Macroporos (%)</b>				
Milho	7,50aA	7,39aA	8,78aA	7,51abA
Sorgo	7,77aA	9,52aA	7,46aA	8,50aA
Milheto	8,64aA	8,46aA	7,55aAB	5,42bB
<b>Mesoporos (%)</b>				
Milho	17,25aA	16,44aAB	16,75aAB	12,27aB
Sorgo	16,30aAB	15,08aAB	16,82aA	12,11aB
Milheto	16,86aA	16,20aAB	12,02bBC	9,14aC
<b>Microporos (%)</b>				
Milho	20,69aA	20,84aA	19,93aA	20,82aA
Sorgo	19,87aA	20,82aA	20,56aA	20,92aA
Milheto	21,32aA	20,45aA	20,80aA	22,13aA

Letras maiúsculas comparam médias na mesma linha (gramíneas) letras minúsculas comparam as médias na mesma coluna (leguminosas) pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

A macroporosidade e porosidade total do solo podem ter influenciado na nodulação natural e na biomassa de nódulos nas plantas de feijão-de-porco e feijão-caupi. Podemos observar um aumento na nodulação (Tabela 4) em decorrência do aumento dos poros do solo (Tabela 9), sugerindo que pode haver uma relação entre eles e indicando também a necessidade de um estudo com variações desses parâmetros físicos para confirmar ou descartar sua influência na nodulação das plantas.

## 5 CONCLUSÕES

Os consórcios com as leguminosas não aumentaram a produtividade de biomassa das gramíneas em relação aos cultivos solteiros. Podem ter havido competições intraespecíficas nos cultivos solteiros ou interespecíficas nos consórcios com as leguminosas nos vasos.

O Planossolo estudado apresenta populações rizobianas compatíveis com o feijão-caupi e o feijão-de-porco. A competição com milho, sorgo ou milheto não altera a nodulação das leguminosas. As leguminosas fixaram altas proporções de nitrogênio atmosférico (entre 67% e 87%), mostrando que em cultivo consorciado ou solteiro possuem considerável capacidade de FBN.

As gramíneas não obtiveram nitrogênio da atmosfera, que pode ser em decorrência de ausência de bactérias endofíticas compatíveis presentes no solo (já que não houve inoculação), tempo de condução do experimento curto (50 dias), entre outros motivos.

Não houve transferência do nitrogênio fixado nas leguminosas para as gramíneas associadas.

Após o cultivo, o solo apresentou RP dentro do limite ideal para o desenvolvimento radicular das plantas. A condutividade hidráulica do solo saturado foi sempre menor nos cultivos solteiros das gramíneas, mostrando que os consórcios com as leguminosas são benéficos para o movimento da água. A percentagem de macroporos foi maior no consórcio com caupi (8,46%) do que em cultivo solteiro (5,42%), o que já é esperado nos cultivos consorciados, devido aos benefícios que a adubação verde traz para as propriedades físicas do solo. A macroporosidade e porosidade total do solo podem ter influenciado a nodulação natural e a biomassa de nódulos nas plantas de feijão-de-porco e feijão-caupi, indicando a necessidade de um estudo com variações desses parâmetros físicos para confirmar ou descartar sua influência na nodulação das plantas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADJEI-NSIAH, S.; KUYPER, T.W.; LEEUWIS, C.; ABEKOE, M. K.; COBBINAH, J.; SAKYI-DAWSON, O.; GILLE, K. E. Farmers' agronomic and social evaluation of productivity, yield and N-2- fixation in different cowpea varieties and their subsequent residual N effects on a succeeding maize crop. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 80, p. 199-209, 2008.

ALCANTARA, R.M.C.M.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G.; ROCHA, M.M.; CARVALHO, J.S. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 45, p. 1-9, 2014.

ALVES, G. C.; VIDEIRA, S.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 387, p. 307-321, 2015.

ANANDA, N.; VADLANIA, P. V.; PRASAD, V. Evaluation of drought and heat stressed grain sorghum (*Sorghum bicolor*) for ethanol production. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.33, p. 779-782, 2011.

ANDRADE NETO, R. C.; MIRANDA, N. O.; DUDA, G. P.; GÓES, G. B.; LIMA, A. S. Crescimento e produtividade do sorgo forrageiro BR 601 sob adubação verde. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.14, n.2, p.124–130, 2010.

BALDANI, J. I.; TEIXEIRA, K. R. S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F. L.; HEMERLY, A. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; NOGUEIRA, E. M.; ARAÚJO, J. L. S.; BALDOTTO, L. E. B.; SOARES, L. H. B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V. L. D.; CARVALHO, T. L. G.; ALVES, B. J. R.; JAMES, E. K.; JANTALIA, C. P.; FERREIRA, P. C. G.; VIDAL, M. S.; BODDEY, R. M. Fixação biológica de nitrogênio em plantas da família da *Poaceae* (antiga *Gramineae*). In: RIBEIRO, M. R.; NASCIMENTO, C. W.; RIBEIRO FILHO, M. R. & CANTALICE, J. R. B., eds. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009, v. 6, p.203-271.

BENEDUZI, A.; MOREIRA, F.; COSTA, P. B.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; FAVRETO, R.; BALDANI, J. I.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 63, p 94–104, 2013.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição Mineral das Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, Viçosa, 2006, 432 p.

BERGAMIN, A. C.; VITORINO, A. C. T.; FRANCHINI, J. C.; SOUZA, C. M. A.; SOUZA, F. R. compactação em um Latossolo Vermelho distroférico e suas relações com o crescimento radicular do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 681-691, 2010.

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

BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE A.S.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique for the quantification of the contribution of  $\text{N}_2$  fixation to grasses and cereals. **Australian Journal of Plant Physiology**, Oxford, v.28, p.889-895, 2001.

BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. M. Endophytic nitrogen fixation in sugar cane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 139–149, 2003.

BOLSON, D.C.; PEREIRA, D. H.; PINA, D. S.; BANCI, D. N.; MOMBACH, M. A.; SILVA, A. F.; PEDREIRA, B. C.; URIVES, T. C. R. V. Composição química da silagem de diferentes cultivares de Sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória –ES. Anais..., Vitória: 2014.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**.3ª ed. Bookman, Porto Alegre, 2013. 716p.

BRITO, M. de M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. D. da. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p.206-215, 2010

CABRAL, C. E. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; BONELLI, E. A.; SILVA, T. J. A. da; CABRAL, C. H. A.; SCARAMUZZA, W. L. M. P. Compactação do solo e macronutrientes primários na *Brachiaria brizantha* cv. piatã e *Panicum maximum* cv. mombaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, p.362-367, 2012.

CALHEIROS, A. S.; LIRA JUNIOR, M. A; SOARES, D. M.; FIGUEIREDO, M. V. B. Symbiotic capability of calopo rhizobia from an agrisoil with different crops in Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, p. 869-876, 2013.

CALVO, C. L.; FOLONI, J. S. S.; BRANCALIÃO, S. R. Produtividade de fitomassa e relação c/n de monocultivos e consórcios de guandu-anão, milho e sorgo em três épocas de corte. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.1, p.77-86, 2010

CANARACHE, A. Penetr – a generalized semi-empirical model estimating soil resistance to penetration. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 16, p. 51-70, 1990

CARDOSO, I. C. M.; KLAUBERG FILHO, O.; MARIOTTO, J. R.; MIQUELLUTI, D. J.; VICENTE, D.; NEVES, A. N. Ocorrência de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* em arroz irrigado no estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.9, n.2, p. 178-186, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARRETA, C. R. D. M.; PAULA, A. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010, cap. 6, p. 153-195.

CARLSSON, G.; HUSS-DANELLE, K. Does nitrogen transfer between plants confound  $^{15}\text{N}$ -based quantifications of  $\text{N}_2$  fixation? **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 374, p. 345-358, 2014.

CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J. O. ; SOUZAM F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010, Cap 7, p. 215,249

CARVALHO, H. W. L. de; LEAL, M de L. da S.; CARDOSO, M. J.; SANTOS, M. X dos; TABOSA, J. N.; SANTOS, D. M. dos; LIRA, M. A. Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho em diferentes condições ambientais do nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, n.2, p.75-82, 2002.

CARVALHO, H. W. L de; CARDOSO, M. J.; OLIVEIRA, I. R de; PACHECO, C. A. P.; TABOSA, J. N.; LIRA, M. A.; FEITOSA, L. F.; MELO, K. E. de O. Adaptabilidade e estabilidade de milho no nordeste brasileiro. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 13, n. 1, p. 15-29, 2011.

CARVALHO, N.L.; ZABOT, V. NITROGÊNIO: NUTRIENTE OU POLUENTE? **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v.6, n. 6, p. 960-974, 2012.

CARVALHO, E. X. de; MENEZES, R. S. C.; FREITAS, A. D. S. de; SAMPAIO, E. V. de S. B.; SIMÕES NETO, D. E.; TABOSA, J. N. The  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to assess the potential of biological nitrogen fixation (BNF) in some important  $\text{C}_4$  grasses. **Australian Journal of Crop Science**, Oxford, v. 11, n. 12, p. 1559, 1564, 2017

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

CAZETTA, D. A.; FORNASIERI FILHO, D.; GIROTTO, F. Composição, produção de matéria seca e cobertura do solo em cultivo exclusivo e consorciado de milho e crotalária. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.27, p.575-580, 2005

CHAPIN III, F.S.; MATSON, P.A.; VITOUSEK, P. **Principles of terrestrial ecosystem ecology**. Springer Science & Business Media, Alemanha, 2011. 529 p.

CHÁVEZ, L. F.; ESCOBAR, L. F.; ANGHINONI, I.; CARVALHO, P. C. de F.; MEURER, E. J. Diversidade metabólica e atividade microbiana no solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob intensidades de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 10, p. 1254-1261, 2011.

CHIODEROLI, C. A.; MELLO, L. M. M. de; GRIGOLLI, P. J.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, J. O. R. S. CESARIN, A. L. Atributos físicos do solo e produtividade de soja em sistema de consórcio Milho e braquiária. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.1, p.37-43, 2012.

- COIMBRA, R. de A.; NAKAGAWA, J. Época de semeadura e regimes de corte na produção de Fitomassa e grãos de milho forrageiro. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.5, n.1, p.89-100, 2006
- CORDEIRO, L. Fixação de nitrogênio em leguminosas ocorrentes no cerrado. In: Klein, A. L. (Org.) **Eugene Warming e o Cerrado brasileiro: um século depois**. UNESP, São Paulo, p. 131-145, 2002.
- CUNHA, T. J. F.; GIONGO, V.; SALVIANO, A. M.; MARQUES, F. A.; CANELLAS, L. P. Humified fraction of organic matter due to plant mixture cultivation. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 578 – 586, 2016.
- DEXTER, A. R. Soil physical quality. Part I. Theory, effects of soil texture, density, and organic matter, and effects on root growth. **Geoderma**, Amsterdam, v. 120, p. 201-214, 2004.
- EHLERS, W. W.; KÖPKE, F. HESSE, F. & BÖHM, W. Penetration resistance and growth root of oats in tilled and untilled loess soil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 3, p. 261-275, 1983
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 1997, 212p.
- EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Fábio César da Silva, 2.ed. rev. ampl. Brasília, 2009, 627 p.
- FARIAS, L. do N.; BONFIM-SILVA, E. ; PIETRO-SOUZA, W.; VILARINHO, M. K. C; SILVA, T. J. A da; GUIMARÃES, S. L. Características morfológicas e produtivas de feijão guandu anão cultivado em solo compactado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.5, p.497–503, 2013.
- FERNANDES, C. S. Sorgo - Fertilidade do solo e nutrição de plantas. In: CURSO DE EXTENSÃO SOBRE A CULTURA DO SORGO, 1980, Vitória de Santo Antão, PE. **Curso de Extensão sobre a Cultura do Sorgo**. Brasília: EMBRAPA DID, 1981. p.7-13. (IPA. Documentos, 1).
- FERNANDES, G.; BRAGA, T. G.; FISHER, J.; PARRELLA, R. A. C.; RESENDE, M. M. de; CARDOSO, V. L. Evaluation of potential ethanol production and nutrients for four varieties of sweet sorghum during maturation. **Renewable Energy**, Oxford, v. 71, p. 518-524, 2014.
- FERREIRA, E. M.; CASTRO, I. V. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, p. 177-1183, 1995.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

- FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; PARTELLI, F. L.; DIDONET, A. G. Produtividade do feijoeiro comum influenciada por plantas de cobertura e sistemas de manejo do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 7, p. 695- 701, 2011.
- FERREIRA NETO, R. A.; FREITAS, A. D. S. de F.; GIONGO, V.; CAMARGO, P. B.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. de S. B. Nitrogen fixation of Poaceae and Leguminosae in a green manure experiment in the Brazilian semiarid region. **Australian Journal of Crop Science**, Oxford, v.11, n. 11, p. 1474-1480, 2017.
- FRANCO, A. A. Simbiose leguminosas-Rhizobium e o ciclo de nitrogênio. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: associações biológicas entre espécies florestais e microorganismos para aumento da produtividade econômica do reflorestamento, VII, 1982, Curitiba. Anais...Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 1982, P. 19-32.
- FREITAS, A. D. S.; SILVA, A. F.; SAMPAIO, E. V. S. B. Yield and biological nitrogen fixation of cowpea varieties in the semi-arid region of Brazil. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 45, p. 109-114, 2012.
- FREITAS, A. D. S de; SAMPAIO, E. V. de S. B.; RAMOS, A. P de S.; BARBOSA, M. R. de V.; LYRA, R. P.; ARAÚJO, E. L. Nitrogen isotopic patterns in tropical forests along a rainfall gradient in Northeast Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 391, p. 109-122, 2015.
- GIONGO, V.; MENDES, A. M. S.; CUNHA, T. J. F.; GALVÃO, S. R. S. Decomposição e liberação de nutrientes de coquetéis vegetais para utilização no Semiárido brasileiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p. 611-618, 2011.
- GIONGO, V.; SALVIANO, A. M.; SANTANA, M. da S.; COSTA, N. D.; YURI, J. E. Soil management systems for sustainable melon cropping in the submedian of the São Francisco Valley. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 537-547, 2016.
- GROSSMAN, R. B.; REINSCH, T. G. Bulk density and linear extensibility. In: DANE, J. H.; TOPP. G. C. (Ed.). Methods of soil analysis. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 4, p. 201-225, 2002.
- GUEDES, B. R.; DAMACENO, Y. R. P.; PINTO, A. A.; SANTOS, S. L. L. dos; CAMARA, F; T. da. Produtividade de massa verde de milho transgênico em função da adubação em regime de sequeiro no Cariri-CE. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta floresta, v.15, n.1, 2017
- GUIGOU, M.; LAREO, C.; PÉREZ, L. V.; LLUBERAS, M. E.; VÁZQUEZ, D.; FERRARI, M. D. Bioethanol production from sweet sorghum: Evaluation of post-harvest treatment son sugar extraction and fermentation. **Biomass and bioenergy**, Oxford, v. 35, p. 3058-3062, 2011.
- GORLITSKY, L. E.; SADEGHPOUR, A.; HASHEMI, M.; ETEMADI, F.; HERBERT, S. J. Biomass vs. quality tradeoffs for switchgrass in response to fall harvesting period. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam. v. 63, p 311–315, 2015.

HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-spi, 1994. p. 9-90.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUA, E. M .S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasiliense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

KLEIN, V.A.; LIBARDI, P.L. Densidade e distribuição do diâmetro dos poros de um Latossolo Vermelho sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.857-867, 2002.

KOPI, A. J.; DOUGLAS, J. T. A rapid in expensive and quantitative procedure for assessing soil structure with respect to cropping. **Soil Use and Management**, Koboken, v.7, p.52-56, 1991.

JARDIM, C. A.; PEREIRA, S. A. P.; PEREIRA, J. G. B.; FRANCO, C. F.; MINGOTTE, F. L. C. Adubação nitrogenada na produção de sorgo sacarino brs 506 para alimentação animal. **Revista Ciência & Tecnologia: Fatec**, Jaboticabal, v. 7, 2015.

LANZANOVA, M. E.; ELTZ, F. L. F. NICOLOSO, R. da S.; AMADO, T. J. C.; REINERT, D. J.; ROCHA, M. R. da. Atributos físicos de um argissolo em sistemas de culturas de longa duração sob semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1333-1342, 2010.

LÁZARO, R. de L.; COSTA, A. C. T da; SILVA, K. de F. da; SARTO, M. V. M.; DUARTE JÚNIOR, J. B. Produtividade de milho cultivado em sucessão à adubação verde. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia. v. 43, n. 1, p. 10-17, 2013.

LEDGARD, S.F.; FRENEY, J. R.; SIMPSON J.R. Variations in natural enrichment of <sup>15</sup>N in the profiles of some Australian Pasture Soils. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Oxford, v. 22, p. 155–164, 1984.

LI, L.; CHAN, K. Y.; NIU, Y.; OATES, A; DEXTER, A.R; HUANGET, G. Soil physical qualities in an OxicPaleustalf under different tillage and stubble management practices and application of S theory. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 113, n. 2, p. 82-88, 2011.

LIMA, C. B.; SILVA. P. C.; COSTA, R. A.; MARTINS, Y. A. M.; LANA, R. M. Q. Aplicação de diferentes doses de uréia polimerizada sob o desenvolvimento vegetativo de plantas de sorgo sacarino. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.9, n.17; p.224-232, 2013.

LIMA, M. A.; GOMES, L. D.; STEELE-KING, C. G.; SIMISTER, R.; BERNADINELLI, O. D.; CARVALHO, M. A.; REZENDE, C. A.; LABATE, C. A.; AZEVEDO, E. R de; MCQUEEN-MASON, S. J.; POLIKARPOV, I. Evaluating the composition and processing potential of novel sources of Brazilian biomass for sustainable biorenewables production. **Biotechnology for Biofuels**, Londres, v.7, p. 10-29, 2014.

LIRA, M. de A. Considerações sobre o potencial do sorgo em Pernambuco. In: CURSO DE EXTENSÃO SOBRE A CULTURA DO SORGO, 1980, Vitória de Santo Antão, PE. Curso de Extensão sobre a Cultura do Sorgo. Brasília: EMBRAPA-DID, 1981. p.87-88. (IPA. Documentos, 1).

LOPES, N.F.; LIMA, M.G.S. **Fisiologia da Produção**. Viçosa: Editora UFV, 2015. 492p.

LOUARN, G.; PEREIRA-LOPÈS, E.; FUSTEC, J.; MARY, B.; VOISIN, A. S.; CARVALHO, P. C de F.; GASTAL, F. The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grass-legume mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 389, n. 1-2, p. 289-305, 2015.

LYRA, M. C. C. P.; FREITAS, A. D. S.; SILVA, T. A., SANTOS, C. E. R. S. Phenotypic and molecular characteristics of rhizobia isolated from nodules of peanut (*Arachis hypogaea* L.) grown in Brazilian Spodosols. **African Journal of Biotechnology**, Nairóbi, v.12, p. 2147-2156, 2013.

MAKOI, J. H. J. R.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D.; Effect of legume plant density and mixed culture on symbiotic N<sub>2</sub> fixation in five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in South Africa. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 48, p. 57-67, 2009.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres, 2006. 631p.

MARIN, F.; NASSIF, D. S. P. Mudanças climáticas e a cana-de-açúcar no Brasil: Fisiologia, conjuntura e cenário futuro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande. v.17, n.2, p.232-239, 2013.

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

MASSAD, M. D.; OLIVEIRA, F. L de; FÁVERO, C.; DUTRA, T. R.; QUARESMA, M. A. L. Desempenho de milho verde em sucessão a adubação verde com crotalária, submetido a doses crescentes de esterco bovino, na caatinga mineira. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 26, n. 3, p. 322-332, 2014.

MELO, F. B.; CORÁ, J. E.; CARDOSO, M. J. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 27-31, 2011.

MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Soybean response to starter nitrogen and *bradyrhizobium* inoculation on a Cerrado oxisol under no-tillage and conventional tillage systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 81-87, 2003.

MEROTTO JR., A; MUNDSTOCK, C. M. Wheat root growth as affected by soil strength. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, p.135-143, 1999

MOHAMMADI, K.; KHALESRO, K.; SOHRABI, Y.; HEIDARI, G. A Review: Beneficial effects of the mycorrhizal fungi for plant growth. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences**, v. 1, p. 310-319, 2011.

- MONTAÑEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by  $^{15}\text{N}$  isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 45, p. 253–263, 2009.
- MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 349, n. 1-2, p. 1-12, 2012.
- MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª Ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- NESMITH, D.S. Soil compaction in double cropped wheat and soybean on Ultissol. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 51, p. 183-186, 1987
- OJEM, J. O.; VANLAUWE, B.; de RIDDER, N.; GILLER, K. E. Niche-based assessment of contributions of legumes to the nitrogen economy of Western Kenya smallholder farms. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 292, n. 1-2, p. 119-135, 2007.
- OKELEYE, K. A.; OKELANA, M. A. Effect of phosphorus fertilizer on nodulation, growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Dehli, v. 67, p. 10-12, 1997.
- PARTELLI, F. L. et al. Biologic dinitrogen fixation and nutrient cycling in cover crops and their effect on organic Conilon coffee. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 995-1006, 2011.
- PATERNIANI, E.; MIRANDA FILHO, J. B. Melhoramento de populações. In: PATERNIANI, E. VIÉGAS, G.P (Orgs). **Melhoramento e produção de milho**. 2. Ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 217-264, 1987.
- PAULINO, G. M.; ALVES, B. J. R.; BARROSO, D. G.; URQUIAGA, S.; ESPINDOLA, J. A. A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1598-1607, 2009.
- PEDRINHO, E. A. N.; GALDIANO JUNIOR, R. F.; CAMPANHARO, J. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E.G. de M. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.
- PEDROSO, G. M.; HUTMACHER, R. B.; PUTNAM, D.; SIX, J.; VAN KESSEL, C.; LINQUIST, B. A. Biomass yield and nitrogen use of potential C4 and C3 dedicated energy crops in a Mediterranean climate. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 161, p. 149–157, 2014.

- PEOPLES, M. B; CHALK, P. M; UNKOVICH, M. J; BODDEY, R. M. Can differences in  $^{15}\text{N}$  natural abundance be used to quantify the transfer of nitrogen from legumes to neighbouring non-legume plant species? **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 87, p. 97-109, 2015.
- PEREIRA, A. P. de A.; SILVA, M. C de B.; OLIVEIRA, J. R. de S.; RAMOS, A. P. de S.; FREIRE, M. B. G. S.; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Influência da salinidade sobre o crescimento e a produção de ácido indol acético de *burkholderia* spp. endofíticas de cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 28, p. 112-121, 2012.
- PORTELA, M. G.T.; ARAÚJO, R. L.; BARBOSA, R. P.; ROCHA, D. R da. Características agrônômicas do milho submetidos a fontes e parcelamento de nitrogênio em cobertura. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, São Paulo, v. 10, n.3, p. 248-258, 2016
- PREVEDELLO, C. L. **Física do solo com problemas resolvidos**. Curitiba, Salesward-Discovery, 1996, 446 p.
- RAMOS, C. P. da S.; MENEZES, T. G. C.; AGRELLI, A.; ALVES, I. A. B dos S.; LUZ, J. C. da; SILVA, C. T. G. da; PINHEIRO, I. O.; JÁCOME JÚNIOR, A. T. Cianobactérias e microcistina em águas de rio destinadas ao abastecimento de centro industrial de Caruaru, PE, Brasil. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência e Tecnologia**. Manguinhos, v.4, n. 1, p. 27-35, 2016.
- RECOMENDAÇÕES de adubação para o Estado de Pernambuco. 2.ed. Recife: IPA, 2008. 198p.
- REIS, V. M. Como fazer uma agricultura verde usando o mais antigo processo de obtenção de nitrogênio em plantas. **Acta Scientiae & Technicae**, Porto Alegre, v. 1, n. 1, 2013.
- RIBEIRO, D. Processo de Haber-Bosch. **Revista de Ciência Elementar**, Botafogo, v. 1, n. 1, 2013.
- RICHART, A.; TAVARES FILHO, J.; BRITO, O. R.; LLANILLO, R. F.; FERREIRA, R. Compactação do solo: causa e efeito. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p.321-344, 2005.
- ROESCH, L. F. R.; PASSAGLIA, L. M. P.; BENTO, F. M.; TRIPLETT, E. W. CAMARGO, F. A. O. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p.1367-1380, 2007
- SAKAI, R. H.; AMBROSANO, E. J.; NEGRINI, A. C. A.; TRIVELIN, P. C. O.; SCHAMMASS, E. A.; MELO, P. C. T de. N transfer from green manures to lettuce in an intercropping cultivation system. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 679-686, 2011
- SALMI, G. P.; SALMI, A. P.; ABBOUD, A. C. de S. Dinâmica de decomposição e liberação de nutrientes de genótipos de guandu sob cultivo em aléias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.4, p.673-678, 2006.

SANTOS, R. D. dos, PEREIRA, L. G. R.; NEVES, A. L. A.; RODRIGUES, J. A. S.; COSTA, C. T. F.; OLIVEIRA, G. F. de. Agronomic characteristics of forage sorghum cultivars for silage production in the lower middle San Francisco Valley. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 1, p. 13-19, 2013.

SANTOS, M. A.; BATISTA, P. S. C.; LOPES, M. F.; SILVA, M. G. de M.; BERTO, A. L. F. Desempenho agrônômico de milho consorciado com feijão-de-corda em diferentes populações e arranjos de plantas no semiárido mineiro. **Revista Agroambiente On-line**, Boa Vista, v. 10, n. 3, p. 201-208, 2016

SANTOS, C. L. R dos; ALVES, G. C.; MACEDO, A. V. de M.; GIORI, F. G.; PEREIRA, W.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Contribution of a mixed inoculant containing strains of *Burkholderia* spp. and *Herbaspirillum* ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 113, p. 96–106, 2017.

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

SHIPANSKI, M. E.; DRINKWATER, L. E.; RUSELLE, M. P. Understanding the variability in soybean nitrogen fixation across agroecosystems. **Plant and Soil**, Dordrech, v. 329, p. 379-397, 2010.

SHIPANSKI, M. E.; DRINKWATER, L. R. Nitrogen fixation in annual and perennial legume-grass mixtures across a fertility gradient. **Plant and Soil**, Dordrech, v. 357, p. 147–159, 2012

SILVA, E. F. L.; ARAÚJO, A. S. F. de; SANTOS, V. B. dos; NUNES, L. A. P. L.; CARNEIRO, R. F. V. Fixação biológica do N<sub>2</sub> em feijão-caupi sob diferentes doses e fontes de fósforo solúvel. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 394-402, 2010

SILVA, F. C.; SILVA, M. M.; LIBADI, P. L. Aplicação de nitrogênio no cultivo de milho, sob sistema plantio direto: efeitos na qualidade física do solo e características agrônômicas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3513-3528, 2013.

SMITH, S.E.; READ D.J. 2008. **Mycorrhizal symbiosis**. Califórnia: Academic Press. 605p.

SPRENT, J. I., **Legume nodulation: a global perspective**. Wiley-Blackwell, Chichester, 2009. v.46, 568 pag.

TAYLOR, H.M.; ROBERTSON, G.M. ;PARKER, J.J. Soil strength root penetration relations for medium to coarse textured soil materials. **Soil Science**, Filadelfia, v. 102, p.18-22, 1966

THILAKARATHNA, M. S.; PAPADOPOULOS, Y. A.; GRIMMETT, A. V. R. M.; FILLMORE, S. A. E.; CROUSE, M.; PRITHIVIRAJ, B. Nitrogen fixation and transfer of red clover genotypes under legume–grass forage based production systems. Nutrient Cycling in Agroecosystems, **Dordrecht**, v. 106, p. 233-247, 2016

TORRES, J. J. R.; PEREIRA, M. G.; CUNHA, M. A.; VIEIRA, D. M. da S.; RODRIGUES, E. S. Produtividade do milho cultivado em sucessão a crotalária, milheto e braquiária no cerrado mineiro. **Revista Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiania, v. 10, n.18, p. 2482, 2014.

UNKOVICH, M. J.; HERRIDGE D. F.; PEOPLES, M. B.; CADISCH G.; BODDEY R. M.; GILLER K. E. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. **ACIAR**, Canberra Australia, 2008.

URQUIAGA; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. Protocolo para Avaliar a contribuição da FBN em Canaviais Comerciais. **Embrapa Agrobiologia**, 2007.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P; MORAIS, R. F. DE; BATISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA E SÁ, J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Evidence from Field nitrogen balance and <sup>15</sup>N natural abundance data for the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, p.5-21, 2012.

VASILAKOGLU, I.; DHIMA, K.; KARAGIANNIDIS, N.; GATSIS, T. Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 120, p. 38-46, 2011

VIDALL, T. F; CAPELO NETO, J. Dinâmica de nitrogênio e fósforo em reservatório na região semiárida utilizando balanço de massa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.4, p.402–407, 2014.

VIDEIRA, S. S.; OLIVEIRA, D. M. de; MORAIS, R. F. de; BORGES, W. F.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two xavie Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 356, p. 51-66, 2012.

XAVIER, T. F.; AUAÚJO, A. S. F. de, SANTOS, V. B. dos, CAMPOS, F. L. Ontogenia da nodulação em duas cultivares de feijão-caupi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n. 2, p. 561-564, 2007

ZOTARELLI, L., ZATORRE, N. P., BODDEY, R. M., URQUIAGA, S., JANTALIA, C. P., FRANCHINI, J. C., ALVES, B. J. R., Influence of no-tillage and frequency of a green manure legume in crop rotations for balancing N outputs and preserving soil organic C stocks. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 132, p.185-195. 2012.