



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LARA ANDRADE LUCENA LIMA

**DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO: O PAPEL DOS
MICRORGANISMOS NO PROCESSO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS
DEGRADADAS**

FORTALEZA

2019

LARA ANDRADE LUCENA LIMA

DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO: O PAPEL DOS
MICROORGANISMOS NO PROCESSO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS
DEGRADADAS

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Vânia Maria Maciel
Melo

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Lima, Lara Andrade Lucena.

Desertificação no semiárido brasileiro: o papel dos microrganismos no processo de recuperação de áreas degradadas / Lara Andrade Lucena Lima. – 2019.
53 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Vânia Maria Maciel Melo.

1. Microbioma. 2. Solo. 3. Degradação. 4. Pastagem. 5. Caatinga. I. Título.

CDD 570

LARA ANDRADE LUCENA LIMA

DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO: O PAPEL DOS
MICRORGANISMOS NO PROCESSO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS
DEGRADADAS

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Vânia Maria Maciel Melo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Vanessa Lúcia Rodrigues Nogueira
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araujo Pereira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Gratidão é saber que todas as pessoas que cruzaram nosso caminho são necessárias para a nossa evolução. Nada foi mais indispensável para minha evolução como pessoa e profissional que a professora **Dr^a. Vânia Maria Maciel Melo**. Professora, sou grata por tudo: elogios, incentivos e puxões de orelhas. Agradeço à senhora por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas mostrar a perspectiva e referência do caráter e afetividade do educador no processo de formação profissional. Obrigada pelo tanto que se dedicou a mim, não somente me ensinando, mas me feito aprender e ter acreditado em mim.

Agradeço à **Dr^a. Francisca Andréa da Silva Oliveira** pela paciência e por se importar, me guiar e me apoiar.

Agradeço aos meus amigos, **Lais Belmino, Natanael Costa, Raquel Costa, Ravelly Alves e Thabata Cavalcante**, sem eles parte da pessoa que sou hoje não existiria, assim como parte da minha consciência crítica, discursiva e afetiva.

Agradeço de todo coração a cada um dos integrantes da minha casa chamada Lembiotech, todos aqueles que passaram e fizeram parte necessária para este trabalho se realizar. Um agradecimento especial para **Dr^a. Mirella Leite Pereira, Andreza Freitas e Vanessa Ariane**. Vocês não sabem, mas contribuíram inestimavelmente para a minha formação como pessoa sentimental e expressiva.

Agradeço aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, independente do modo de expressão. Não é preciso ouvir para sentir e entender.

Agradeço à minha mãe que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, que me fez encarar a realidade na hora que era preciso e necessário.

Agradeço à minha irmã, **Lana Andrade**, pela parceria e paciência de parar e escutar, mesmo quando nem entendia do que se tratava.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

*“Somewhere, something incredible is
waiting to be known.”*

Carl Sagan.

RESUMO

A desertificação é caracterizada pela degradação de terras áridas, semiáridas e sub-úmidas secas, causada por fatores climáticos e atividades antrópicas. No Brasil, a desertificação afeta as regiões semiáridas e sub-úmidas do Nordeste, e no Ceará, o município de Irauçuba é a área mais afetada. Este estudo foi realizado com o objetivo de reunir informações sobre a influência da desertificação na estrutura e função da comunidade bacteriana no núcleo de desertificação de Irauçuba, visando contribuir para o desenvolvimento de soluções biotecnológicas para a recuperação de solos degradados. O estudo avaliou variáveis químicas e microbiológicas de solos coletados em áreas de recuperação natural, excluídas de pastagem desde o ano 2000, áreas de pastagens, em processo avançado de desertificação; e áreas de vegetação nativa da Caatinga. Foram analisados quatro indicadores de qualidade do solo (matéria orgânica (MO), umidade, pH e número de unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC/g)), além da atividade de isolados para solubilização do fosfato e produção de sideróforos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey. Os resultados para MO, UFC/g e umidade foram mais baixos nas áreas de desertificação, em comparação com aqueles das áreas nativas e de recuperação. O pH foi o único indicador que não mostrou diferenças significativas entre as áreas, embora os solos estejam respondendo de maneira diferente aos fatores ambientais. Das 69 espécies bacterianas analisadas, 8 foram selecionadas com base nas altas taxas de solubilização de fosfato e produção de sideróforos. O isolado mais promissor foi identificado molecularmente como *Enterobacter* sp., uma espécie de bactéria Gram-negativa, conhecida como promotora de crescimento de plantas (BPCV). Os isolados bacterianos obtidos no presente estudo são potenciais candidatos a serem utilizados como inoculantes para acelerar a recuperação de solos degradados em áreas de desertificação.

Palavras-chave: Microbioma; Solo; Degradação; Pastagem; Caatinga.

ABSTRACT

Desertification is characterized by the degradation of arid, semi-arid and dry sub-humid lands, caused by climatic factors and anthropic activities. In Brazil desertification affects the semiarid and sub-humid regions of the Northeast, and in Ceará the municipality of Irauçuba is the most affected area. This study was carried out to get information about the influence of the desertification on structure and function of the bacterial community in the Irauçuba desertification nucleus, aiming to contribute to the development of biotechnological solutions for the recovery degraded soils. This study evaluated chemical and microbiological variables of soils collected from natural recovery areas, excluded from grazing since the year 2000, pasture areas, in advanced desertification process, and in native vegetation areas of Caatinga. Four indicators of soil quality (organic matter (MO), moisture, pH and number of bacterial colony forming units (CFU/g)), besides phosphate solubilization activity and siderophore production were analyzed. Data were subjected to analysis of variance and the media compared by Tukey test. OM, CFU/g and moisture were considered lower in the desertification areas, compared to those native and in recovery areas. pH was the only indicator that did not show significant differences between areas, although soils are responding differently to environmental stresses. Among 69 bacterial species analyzed, 8 were selected based on the high rates of phosphate solubilization and siderophores production. The most promising isolate was identified molecularly as *Enterobacter* sp., a Gram-negative bacterial species, known as plant growth promoting bacteria (BPCV). Bacterial isolates obtained in the current study are potential candidates to be used as inoculants to accelerate the recovery of degraded soils in desertification areas.

Keywords: Microbiome; Soils, Degradation; Grazing; Caatinga.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Mapa das Áreas Suscetíveis à Desertificação e Núcleos de Desertificação..... 25**
- Figura 2 – Histórico anual de chuvas (2000-2018) para o município de Irauçuba. 26**
- Fonte: Elaborado pelo autor com dados fornecidos pela FUNCEME. 26**
- Figura 3 - Dados de precipitação mensal dos anos de 2017 (A) e 2018 (B), em que as coletas de solo foram realizadas..... 26**
- Figura 4 - Imagens de satélite da distância entre as áreas de pousio amostradas (A) e suas localizações na Fazenda Aroeira no Município de Irauçuba, (B e C). Imagem da área de pousio 3 e sua subdivisão em área de pastejo em desertificação e área de pousio em recuperação Natural (D). 28**
- Figura 5 – Percentual de bactérias solubilizadores de fosfato isoladas de solos das áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e áreas em processo de desertificação de Irauçuba, CE..... 38**
- Figura 6 – Índice de solubilização (IS) de fosfato dos isolados oriundos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação e áreas em processo de desertificação..... 39**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tecnologias empregadas no uso sustentável e recuperação de áreas suscetíveis ou degradadas do semiárido.	19
Tabela 2 – Teores de matéria orgânica de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e em processo de desertificação mensurados nos anos de 2017 e 2018 no núcleo de desertificação de Irauçuba-CE.	35
Tabela 3 – pH de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e em processo de desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.....	36
Tabela 4 – Umidade de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e áreas em desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.....	36
Tabela 5 – Contagens de bactérias viáveis por grama de solo (UFC/g) de amostras provenientes de áreas de vegetação natural da caatinga, em processo de recuperação e em processo de desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.....	37
Tabela 6 - Números de isolados bacterianos obtidos a partir de amostras de solos coletadas em 2017 e 2018 em áreas de vegetação nativa da caatinga (BNIRA), áreas em processo de recuperação natural (BEIRA) e áreas em processo de desertificação (BDIRA) em Irauçuba, CE.	37
Tabela 7 - Isolados mais promissores selecionados com base nos índices altos de solubilização de fosfato e de produção de sideróforos. BNIRA (Bactéria isolada de área nativa); BEIRA (Bactéria isolada de área de recuperação natural).....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcdS	1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase
ANOVA	Análise de variância
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BPCV	Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal
BSF	Bactérias Solubilizadoras de Fosfato
CAS	Cromazurol S
d	Diâmetro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
HDTMA	Quaternário de amônio brometo de hexadeciltrimetilamônio
ID	Identidade
IS	Índice de solubilização
MO	Matéria Orgânica
PCA	Agar de Contagem em Placa
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogênionico
RCF	Força Centrífuga Relativa
rDNA	Ácido Ribonucléico Ribossomal
TAE	Tris Acetato EDTA
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia por grama de solo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISAO BIBLIOGRAFICA	16
2.1.	Desertificação	16
2.2.	Desertificação e o solo	18
2.3.	Manejo de áreas degradadas pela desertificação	19
2.4.	Importância do conhecimento da microbiota do solo para o desenvolvimento de soluções ambientais	22
3	OBJETIVO GERAL	24
3.1.	Objetivos específicos	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1.	Caracterização da área de estudo.....	25
4.2.	Coleta de amostras	29
4.3.	Caracterização do solo	29
4.3.1.	Teor de matéria orgânica	29
4.3.2.	pH do solo	30
4.3.3.	Umidade no solo	30
4.3.4.	Contagem de viáveis e isolamento de bactérias.....	30
4.4.	Estudos da comunidade de bactérias promotoras de crescimento vegetal.....	31
4.4.1.	Ensaio de bactérias produtoras de sideróforos	31
4.4.2.	Ensaio de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio	32
4.5.	Seleção de isolados promissores.....	32

4.6.	Extração do DNA bacteriano e amplificação do gene ribossomal 16S	33
4.6.1.	Purificação e precipitação do DNA	33
4.6.2.	Análise das sequências e identificação molecular	34
4.7.	Análise de dados	34
5	RESULTADOS	35
5.1.	Teor de matéria orgânica	35
5.2.	pH do solo	35
5.3.	Umidade	36
5.4.	Contagem de bactérias viáveis	37
5.6.	Bactérias produtoras de sideróforos	38
5.7.	Bactérias solubilizadoras de fosfato	38
5.8.	Seleção de isolados para preparação de inoculantes	39
5.9.	Identificação molecular	40
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A desertificação caracteriza-se pela degradação das terras de zonas áridas, semiáridas e sub-úmidas secas. O processo de desertificação resulta de fatores característicos do próprio ambiente, das mudanças climáticas ou de atividades antrópicas como a exploração e destruição de recursos (destruição desordenada da cobertura vegetal, uso inadequado do solo, desmatamentos, queimadas, pastagem e sistemas de irrigação desequilibrados) conduzindo assim áreas predispostas à desertificação a se transformarem em desertos ou semelhantes (MATALLO JÚNIOR, 2001; LEAL et al., 2003; PIMENTEL, 2015)

No Brasil, a maior parte das Áreas Suscetíveis à Desertificação (ASD) se encontra nas regiões semiáridas e sub-úmidas do Nordeste (CGEE, 2016). O Estado do Ceará tem 100% do seu território susceptível à desertificação, destacando 3 núcleos de maior gravidade: Irauçuba, Inhamuns e Médio Jaguaribe.

Um dos maiores problemas enfrentados na desertificação é a perda de matéria orgânica, visto que influencia nos processos químicos, físicos e biológicos dos solos (Lehmann; Kleber, 2015). Tal perda ocasiona alteração na composição dos microrganismos prejudicando o ambiente, uma vez que, esses são essenciais na ciclagem e reposição de nutrientes por meio da decomposição da matéria orgânica (SOUTO, 2008; RASHID et al., 2016). Além disso, ainda podemos citar o papel chave dos microrganismos no desenvolvimento vegetal, como na supressão de doenças e promoção do crescimento (SMALLA, 2001; MARRA, 2012).

Os microrganismos são os primeiros seres a reagirem às mudanças químicas e físicas no ambiente. Eles são, muitas vezes, utilizados no monitoramento de mudanças na saúde e na viabilidade do meio ambiente, sendo empregados juntamente com os atributos físicos e químicos como indicadores do uso da terra e da qualidade do solo (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; ZORNOZA, 2015; UTOBO et al., 2015).

Muitas das iniciativas científicas e políticas envolvem o estudo do impacto da desertificação na qualidade de vida, na economia da população ou em atributos físicos, químicos e biológicos que interferem na estrutura e qualidade do solo (LOPES ET AL. 2011; FIGUEIREDO, 2013; ANDRADE, 2017; KHANAMANI, 2017; ZHANG, 2018; SANTOS, 2018).

Apesar da importância que os microrganismos possuem, a maioria dos trabalhos teve como objetivo principal a análise e determinação da efetividade do uso de plantas no

combate à desertificação, e nenhum deles, até o presente momento, abordou de forma direta as respostas e as funcionalidade da diversidade microbiana no processo de desertificação, mesmo sendo ela reconhecidamente fundamental para recuperação do solo e desenvolvimento da cobertura vegetal.

O conhecimento da microbiota, além de ajudar a entender como o processo de desertificação afeta o meio biológico do solo, é extremamente importante para o manejo de ambientes em processo de degradação, como no caso da desertificação (SINGH, 2015; EMADIAN, ONAY E DEMIREL, 2017; MOORMAN, 2018).

Por conta das adaptações fisiológicas e genéticas, os microrganismos que habitam áreas desertificadas podem ser úteis em pesquisas aplicadas, possibilitando uma manutenção mais efetiva do solo e o seu posterior manejo (MARRA, 2012), como por exemplo, estimulação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). As BPCV são largamente exploradas para a utilização em culturas agrícolas pela sua capacidade de melhorar as condições do solo para o desenvolvimento vegetal (PERSELLO- CARTINEAUX et al., 2003; AHMED; HOLMSTRÖM, 2014), por esse motivo, elas podem vir a ser úteis para a melhor adaptação da vegetação em processo de recuperação ambiental.

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo reunir informações sobre a influência da desertificação no meio químico e biológico do solo do núcleo suscetível a desertificação no município de Irauçuba, Ceará, visando a seleção de bactérias nativas que possam ser utilizadas na recuperação de áreas degradadas.

2 REVISAO BIBLIOGRAFICA

2.1. Desertificação

O desequilíbrio ambiental compreende toda alteração, seja ela intencional ou não, provocada na natureza que reflete de forma negativa para os sistemas ecológicos. O uso intensivo e desmedido de todo e qualquer recurso natural, sobretudo o solo, é uma atividade que interfere e causa mudanças de ordem física, química e biológica no equilíbrio ecológico resultando, na maioria das vezes, em impactos irreversíveis (KOBAYAMA, 2001; LIMA et al. 2012). A desertificação é um conjunto das várias consequências de tal manejo inadequado.

A desertificação esteve pela primeira vez incluída no debate internacional em 1977 na cidade de Nairóbi, no Quênia. Essa reunião foi resultado de sucessivas ocorrências das secas nos anos de 1930, nos estados do meio oeste americano, 1949, nas colônias europeias no norte da África e as mais graves de todas, em 1968 e 1973, na região do Sahel na África (MATALLO JÚNIOR, 1999). Em conjunto, os prejuízos envolveram a degradação do solo, secas acentuadas, muitas mortes, grandes migrações e formações de campos de refugiados.

Depois daquele, outros eventos de discussão aconteceram, a exemplo, a Rio-92, que resultou no documento da Agenda 21, a qual tem um capítulo dedicado à luta contra a desertificação e a seca.

Porém, apenas alguns anos depois, a desertificação teve seu conceito finalmente definido na Convenção das Nações Unidas de Combate a Desertificação, como “ A degradação da terra nas zonas áridas, semiáridas e sub-úmidas secas, resultante de vários fatores, incluindo as variações climáticas e as atividades humanas” (UNITED NATIONS, 1994).

Matallo Júnior (2001) discorre sobre a ideia de “degradação da terra”, que se trata de um conjunto de fatores como: a degradação de solos, da vegetação e de recursos hídricos, a perda de biodiversidade e a redução da qualidade de vida da população.

Apesar da ampla discussão em torno das causas da desertificação, Harae (2002) e Meira, da Silva Marinho e Da Silva (2019) salientam que a desertificação é resultado da interação entre o homem e um ambiente adverso, onde fatores climáticos, edáficos e vegetacionais são fortemente instáveis e potencializam a degradação ocasionada pelas práticas inadequadas.

No geral, as zonas suscetíveis à desertificação ocupam cerca de $\frac{1}{3}$ de toda a superfície da Terra, somando assim uma considerável parcela naturalmente suscetível que

tende a crescer cada vez mais devido a previsão eminente das mudanças climáticas.

No Brasil as Áreas Suscetíveis à Desertificação (ASD) se encontram nas regiões semiáridas e sub-úmidas do Nordeste com índices de aridez variando, respectivamente, entre 0,21 e 0,50 e entre 0,51 e 0,65 (CGEE, 2016). A região semiárida compreende 11% do território nacional (Brasil, 2005) e nela são destacadas as áreas com sinais extremos de degradação no país, os chamados "Núcleos de Desertificação", composto por Gilbués (Piauí), Irauçuba (Ceará), Seridó (fronteira entre os Estados da Paraíba e do Rio Grande do Norte) e Cabrobó (Pernambuco) (BRASIL, 2002, p.42). Sobreposto a esse território encontra-se o domínio da Caatinga, classificado como savana semi-árida (COUTINHO, 2006), que caracteriza-se por uma flora composta por árvores e arbustos identificados pela rusticidade, tolerância e adaptação às condições climáticas de secas prolongadas, baixas precipitações, alta incidência de radiação e evapotranspiração (MELO FILHO; SOUZA, 2006 ; CGEE, 2016) .

Nesse contexto, muitas atividades antrópicas relacionadas a exploração e destruição de recursos podem estar ligadas a transformação de áreas predispostas a desertificação em desertos ou semelhantes. Entre eles destaca-se a destruição desordenada da cobertura vegetal, uso inadequado do solo, as queimadas, o sobrepastejo e os sistemas de irrigação desequilibrados (MATALLO JÚNIOR, 2001; LEAL et al., 2003; PIMENTEL, 2015).

Em 2016 o estado do Ceará teve 100% do seu território classificado como susceptível à desertificação, destacando 3 núcleos de maior gravidade: Irauçuba, no centro-norte; Inhamuns e Médio Jaguaribe (CGEE, 2016). Sendo o município de Irauçuba pertencente a um dos núcleos de desertificação mais graves do país (CGEE, 2016). Accioly (2000) e Sales; Oliveira (2015) associam essa suscetibilidade do município ao típico solo raso, altamente sensível a erosão, à intensa prática de sobrepastejo e à vegetação Caatinga hiper-xerófila que a região apresenta.

Entre as consequências que podem ser observadas nas áreas atingidas pela desertificação destacam-se: a perda da estrutura do solo (areias, argilas); a perda da matéria orgânica e dos nutrientes da camada superficial do solo; a diminuição de sua água útil; a perda da biodiversidade; o aumento de secas edáficas, da salinização, das taxas de erosão e assoreamento e, inclusive, agravamento dos problemas sociais (CCD, 1995; MATALLO JÚNIOR, 2001; CIRILO, 2008; PIMENTEL, 2015; SALES; OLIVEIRA, 2015; CGEE, 2016).

2.2. Desertificação e o solo

O semiárido Brasileiro é caracterizado pela elevada média anual de temperatura, em torno de 27 °C, submetido a precipitações pluviométricas irregulares com médias anuais 800 mm, concentradas de três a cinco meses. O potencial de evapotranspiração local é maior que as precipitações atingindo valores de 2.000 mm anuais, o que provoca o grande déficit hídrico conhecido da região (CGEE, 2016).

O clima é um fator de peso para a formação dos solos, sendo decisivo na velocidade e natureza do intemperismo das rochas. Com a temperatura constante, a baixa quantidade de água no solo e a forte erosão provocada pelo regime localizado de chuvas ocorre um baixo grau de intemperismo físico e químico, o que culmina na ocorrência de um solo raso, com localizados afloramentos rochosos (SANTOS, 2017).

Foi relatado que a quantidade de matéria orgânica é um importante indicador de qualidade da erosão e degradação do solo (HACISALIHOĞLU et al. 2017) principalmente em regiões climáticas áridas e semiáridas (RAIESI, 2017; IMAMOGLU; DENGIZ, 2019). Essa importância ocorre porque no solo a dinâmica da matéria orgânica, sua renovação e ciclagem é a principal maneira de libera energia e nutrientes para as plantas, sendo isso possível principalmente devido a atividade microbiana (SOUTO, 2008; LEHMANN & KLEBER, 2015).

Dessa forma um dos maiores problemas enfrentados na desertificação é a perda de matéria orgânica, que influencia nos processos químicos, físicos e biológicos dos solos, além do seu comportamento e fertilidade (LEHMANN; KLEBER, 2015). Devido à combustão seca em altas temperaturas e pouca presença de água no solo ocorre pouca incorporação de matéria orgânica (SANTOS, 2017) fazendo com que a quantidade incorporada ganhe ainda mais importância.

Como parte importante agregada da matéria orgânica do solo, a comunidade microbiana participa diretamente da reposição de nutrientes através da decomposição da matéria orgânica (SOUTO, 2008) e ciclagem de nutrientes (RASHID et al., 2016), além de terem um papel chave no desenvolvimento vegetal, como na supressão de doenças e promoção do crescimento. (SMALLA, 2001; MARRA, 2012).

Sendo a disponibilidade de água um dos fatores mais importantes sobre a atividade biológica do solo (MANZONI et al., 2012), os microrganismos são os primeiros seres a reagir às mudanças químicas e físicas no ambiente. Medidas diretas e indiretas da

biomassa microbiana, atividades enzimática do solo e respiração microbiana são comumente utilizadas, junto a atributos físicos e químicos, como indicadores do uso da terra e da qualidade do solo (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; ZORNOZA, 2015, UTOBO et al., 2015).

Waring; Hawkes (2015) afirmam que mesmo pequenas alterações na umidade do solo podem levar a grandes mudanças na estrutura das comunidades microbianas. Desse modo, não é de se descartar que as respostas bióticas a mudanças climáticas podem ser em grande parte determinadas pela capacidade de adaptação das comunidades microbianas (BOUSKILL, 2016a; BOUSKILL, 2016b). Por essa razão é possível combater os efeitos da desertificação na Caatinga com o manejo adequado da microbiota ou do meio.

2.3. Manejo de áreas degradadas pela desertificação

O manejo de áreas degradadas pela desertificação no Brasil se faz através das estratégias denominadas de “convivência com o Semiárido”, que respeitam as características naturais da região, aumentam a capacidade adaptativa da população, contribuem para a construção de um meio rural mais sustentável e criam alternativas de renda (CGEE, 2016).

Nessas estratégias a recuperação e o manejo do solo compreendem um conjunto de práticas, de caráter físico, químico e biológico, que, quando utilizadas corretamente, podem reduzir ou evitar o impacto de atividades humanas como pastoreio excessivo, superexploração de plantas e práticas de irrigação insustentáveis, que aumentam a vulnerabilidade das áreas afetadas evitando, conseqüentemente, a sua degradação (CHARRUA, 2014; CGGE, 2016).

A tabela a seguir lista algumas tecnologias empregadas no uso sustentável e recuperação de áreas suscetíveis ou degradadas do semiárido com o objetivo de melhorar propriedades físicas, químicas e biológicas do solo.

Tabela 1 - Tecnologias empregadas no uso sustentável e recuperação de áreas suscetíveis ou degradadas do semiárido.

Tipo de uso do solo	Prática	Objetivo
Sustentável	Adubação	Melhorar as propriedades químicas e biológicas dos solos.
	Barragem	Aumentar o armazenamento de água

		no perfil do solo ou Reter os sedimentos gerados pelo processo erosivo, reduzindo os danos em consequência do desmatamento e do uso do solo de forma inadequada.
	Captação <i>in situ</i>	Aumentar o armazenamento de água no perfil do solo por um período mais longo.
	Cordões	Reter o solo que pode ser carregado pela água das chuvas, diminuindo a velocidade da água, aumentando a infiltração e, conseqüentemente, diminuindo a erosão.
	Paliçadas	Quebrar a força da enxurrada e reter os sedimentos principalmente dentro da voçoroca (escavação no solo causada por erosão).
	Plantio direto	Manter a umidade e aumentar os teores de matéria orgânica do solo, minimizar os processos erosivos e promover a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo.
	Plantio em nível	Atuar como um obstáculo para reduzir a velocidade da água da enxurrada, aumentando a umidade e diminuindo a erosão do solo.
Recuperação	Isolamento da área / pousio	Recuperar naturalmente a área, restringindo o acesso de animais.
	Recuperação da mata ciliar	Formar uma floresta em área ciliar, num tempo relativamente curto, visando à proteção do solo e do curso

		d'água.
	Reflorestamento	Repovoar áreas que tiveram a vegetação removida naturalmente ou por ações humanas (queimadas, exploração de madeira, expansão de áreas agrícolas), favorecendo a recuperação da área.
	Transferência da serapilheira	Resgatar os microrganismos (fungos, bactérias e algas), além da meso e a macro fauna/flora do solo (sementes, minhocas) pela transposição de porções superficiais dos remanescentes de vegetação para as áreas a serem restauradas, enriquecendo sua biodiversidade.

Fonte: Elaborado pelo autor, dados do CGGE (2016).

A recuperação é o retorno de um ecossistema para uma condição não degradada, mas que pode vir a ser diferente do original (MONTANDON, CAMELLO e ALMEIDA, 2015). A metodologia adotada depende muito das características do próprio ambiente (CEARÁ, 2010).

A apesar de existirem práticas voltadas para a recuperação desses ambientes degradados, inclusive pela desertificação, não há nenhuma prática que, de fato, considera a utilização da microbiota, essa sendo indispensável à manutenção do solo.

O método de pousio, uma das práticas de recuperação, consiste em isolar uma área degradada, com cercas de arame e/ou com plantas espinhentas, para que animais, máquinas e pessoas não circulem pelo seu interior. Entre as práticas ele se destaca porque, diferente das demais, recupera naturalmente a área com os recursos e organismos ainda disponíveis no ambiente promovendo a regeneração do ambiente e incremento da biodiversidade sem adição de elementos não naturais ou exógenos. Apesar de vantajosa a técnica conduz um resultado lento e que necessita observações sobre a eficiência do processo no decorrer do tempo.

Muitas das técnicas voltadas à recuperação de áreas degradadas apresentam problemas quanto ao tempo de espera, mão de obra especializada ou recursos envolvidos (CGEE, 2016) e apesar da existência dessas técnicas há, por outro lado, o desconhecimento da população sobre a vulnerabilidade ambiental em consequência das técnicas rudimentares que são praticadas e que acaba agravando, de modo muito significativo, a sustentabilidade da capacidade produtiva dos recursos naturais.

Iniciativas científicas e políticas têm sido implementadas ao longo dos anos na tentativa de amenizar ou deter os efeitos da desertificação no Brasil (CGEE, 2016). Muitos desses estudos se debruçaram na tentativa de entender o impacto da desertificação na qualidade de vida e economia da população. Outros se detiveram em avaliar os atributos físicos, químicos e biológicos que interferem diretamente na estrutura e qualidade do solo, principalmente tratando de temas como a erosão, a perda de matéria orgânica, de carbono, de nitrogênio e da vegetação (LOPES ET AL. 2011; FIGUEIREDO, 2013; ANDRADE, 2017; KHANAMANI, 2017; ZHANG, 2018; SANTOS, 2018).

Apesar da importância que os microrganismos possuem, a maioria dos trabalhos tem foco na análise e determinação da efetividade do uso de plantas no combate a desertificação, nenhum deles abordou de forma direta as respostas e as funcionalidade da comunidade microbiana no processo de desertificação, mesmo sendo ela reconhecidamente fundamental para recuperação do solo e desenvolvimento da cobertura vegetal.

2.4. Importância do conhecimento da microbiota do solo para o desenvolvimento de soluções ambientais

A maioria dos microrganismos ocorre em condições ambientais consideradas moderadas, apesar disso alguns possuem características próprias, particularmente as bactérias, que permite a adaptação e crescimento em condições extremas. Bactérias xerotolerantes são habituadas a climas semiáridos e desérticos. Por conta de suas adaptações fisiológicas e genéticas podem ser úteis em pesquisas aplicadas no manejo do solo (MARRA, 2012).

Testes em áreas agrícolas já permitem conhecer o efeito dos microrganismos do solo como biofertilizantes para aumentar a produção (ALVARADO CARRILLO, DÍAZ FRANCO, PEÑA DEL RÍO, 2014; CAVALCANTI, 2016), como substitutos na fertilização inorgânica (KUAN, 2016; MARDAD, 2013), como agentes que conferem tolerância contra patógenos de solo (LIU, 2018), como biorremediadores de solos contaminados (KHAN, 2013; DE FRANÇA, 2015), como tolerantes a outros fatores abióticos (FENNER, 2017. SHRIVASTAVA, 2015; FARIAS et al. 2013). Essas bactérias são chamadas promotoras de

crescimento vegetal (BPCV) e são os microrganismos mais estudados (NADEEM et al. 2014), isso porque são benéficas às plantas. Dentre as atividades simbióticas com as plantas, as BPCV diminuem os efeitos de condições abióticas adversas para a planta ao produzirem hormônios que estimulam o crescimento das mesmas; facilitam a disponibilização de nutrientes; induzem uma ação protetora contra fitopatógenos, produzem sideróforos, enzimas, contribuem com a fixação de nitrogênio (FARIAS et al. 2013; CAVALCANTI, 2016; HUSEN, 2016; KUAN, 2016).

Esse estímulo ao crescimento vegetal se dá através de diferentes mecanismos como a solubilização de fosfato, produção de sideróforos e hormônios.

Sendo um grupo diverso de microrganismos do solo, as bactérias solubilizadoras de fosfato estão envolvidas na cadeia de solubilização de complexos de fósforo insolúveis que possibilitam a absorção do mesmo pelas plantas (TRIPURA et al., 2005). Essas bactérias utilizam mecanismos como a produção e liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular (MARRA et al., 2012), que solubilizam formas precipitadas de fósforo, como os fosfatos de ferro, alumínio e cálcio nos solos, atuando como fontes de prótons ou na quelatação do elemento complexado ao íon fosfato. Seus números variam de solo para solo, mas elas representam de 1 a 50% da população total de bactérias no solo (CHEN et al., 2006).

Como um dos elementos mais importantes, depois do nitrogênio, o fósforo tem função-chave no desenvolvimento das raízes, fortalecimento do caule, formação de flores e sementes, maturidade das culturas e qualidade da produção, fixação de nitrogênio em leguminosas e fortalecimento da planta contra doenças (PERSELLO-CARTINEAUX et al., 2003).

Sideróforos são compostos orgânicos de baixa massa molecular, cuja principal função é capturar o ferro férrico (Fe^{3+}) e torná-lo amplamente disponível para as células microbianas e vegetais. Esse sistema de captura de ferro age como um quelante natural e possui elevada afinidade ao Fe^{3+} , mas também é capaz de se ligar a outros metais de forma constante, como ocorre com o cromo (Cr), chumbo (Pb), alumínio (Al), cádmio (Cd), cobre (Cu) e zinco (Zn) (ANUPA;ASHA;SANJEEV, 2007).

Dessa forma podem ser utilizados para melhorar o crescimento vegetal, aumentar a disponibilidade do nutriente próximo a raiz ou inibir o crescimento de bactéria nocivas e patógenos nas raízes da planta (AHMED;HOLMSTRÖM, 2014), além de serem utilizados na biorremediação de solos contaminados e na manutenção do equilíbrio iônico dos solos (Gad,2004).

3 OBJETIVO GERAL

Analisar aspectos químicos e microbiológicos de solos da Caatinga de três paisagens distintas de um núcleo de desertificação compreendendo uma área de vegetação natural, uma área em processo de recuperação natural e uma área em processo de desertificação, visando avaliar a estrutura e função das comunidades bacterianas com o propósito de contribuir com soluções biotecnológicas para acelerar a recuperação de áreas em processo de desertificação.

3.1. Objetivos específicos

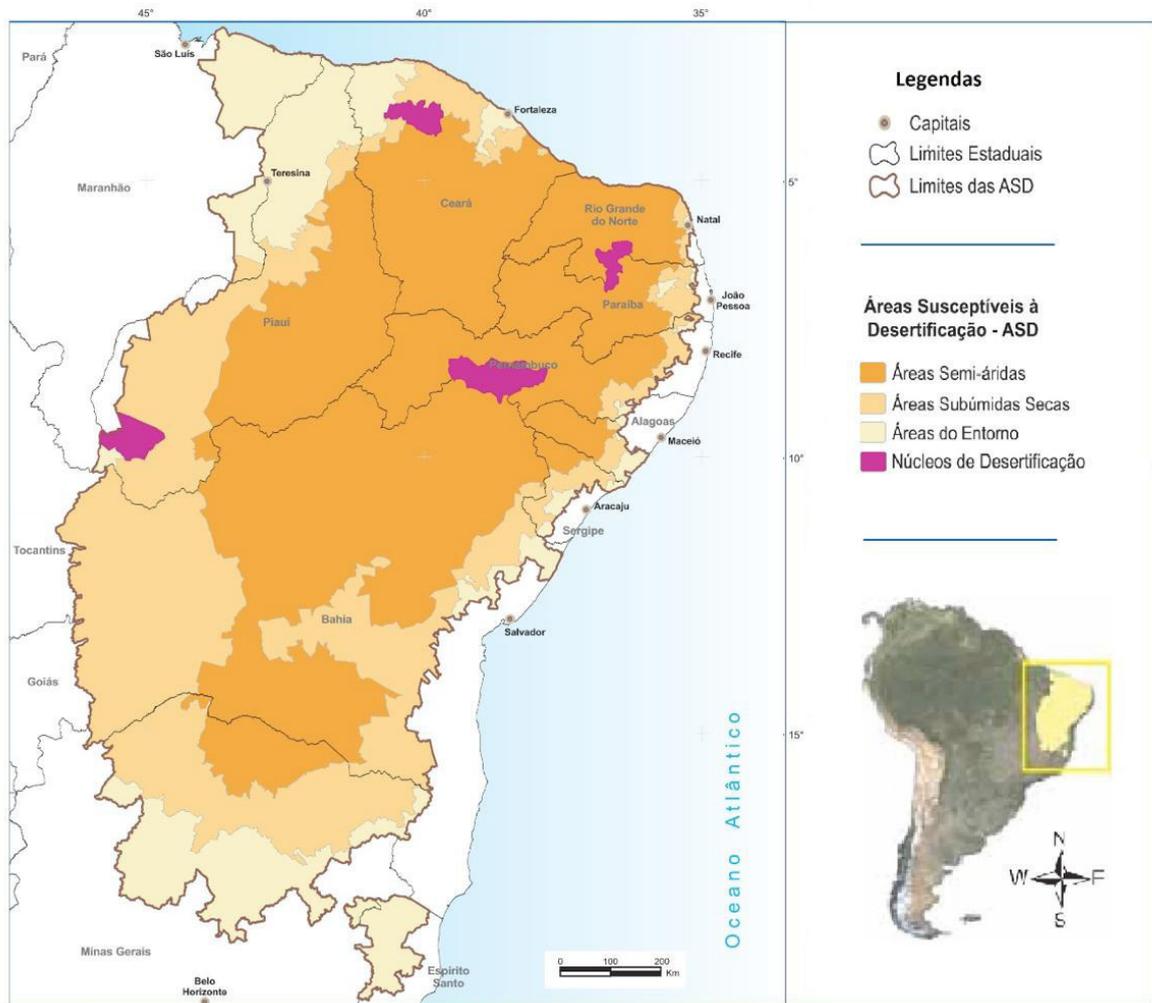
- Determinar o teor de matéria orgânica (MO), umidade e pH de solos de áreas nativas, em recuperação e em processo de desertificação;
- Isolar e realizar a contagem de bactérias viáveis de solos das áreas estudadas.
- Determinar o potencial de isolados oriundos das três áreas para solubilizar fosfato;
- Analisar o potencial de isolados para produzir sideróforos;
- Selecionar isolados promissores que possam ser utilizadas na recuperação de áreas desertificadas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área de estudo

O Município de Irauçuba (3.7476° S, 39.7827° O) fica localizado a 150 Km de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil, fazendo parte de um dos 4 núcleos de desertificação mais graves do país juntamente com Gilbués (PI), Seridó, fronteira entre os Estados da Paraíba e do Rio Grande do Norte, e Cabrobó (PE) (BRASIL, 2002, p.42; CGEE, 2016) (**Figura 1**) que pela classificação de Koppen é caracterizado como BSw'h' (Tropical quente semi-árido).

Figura 1 – Mapa das Áreas Suscetíveis à Desertificação e Núcleos de Desertificação.

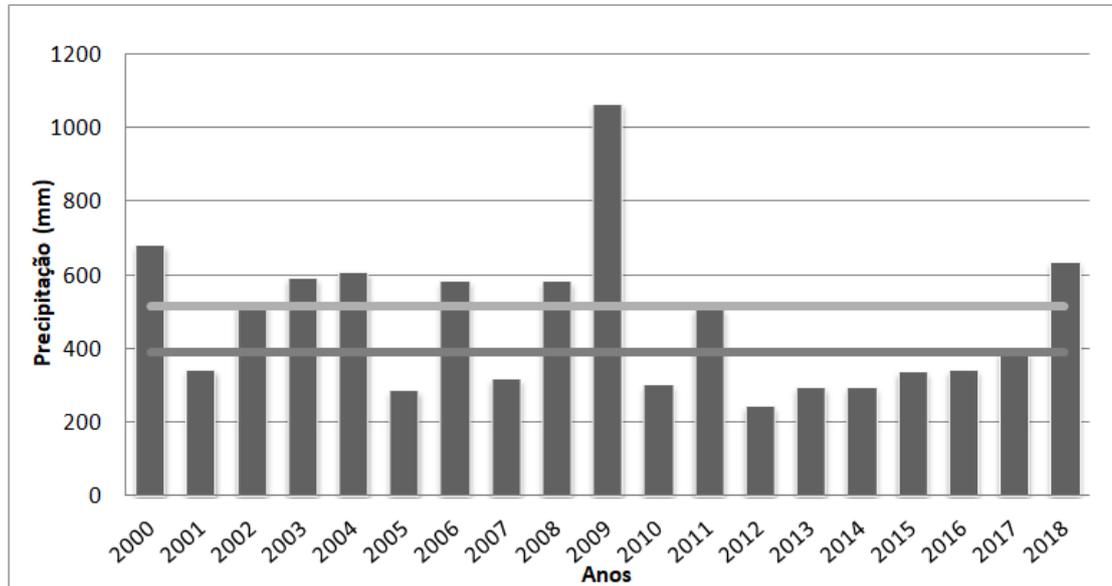


Fonte: CAETANO et al. 2017

Irauçuba possui uma média anual de temperaturas que varia entre 26 a 28 °C (IPECE, 2017) e uma precipitação anual média de cerca de 514,3 mm (Figura - 2) com chuvas concentradas nos meses de dezembro a julho (Figura 3 - A e B) segundo dados apresentados pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). Segundo a FUNCEME, o município de Irauçuba, no ano de 2018, juntamente como toda a

região do Estado do Ceará, apresentavam seu 7 ano consecutivo de seca.

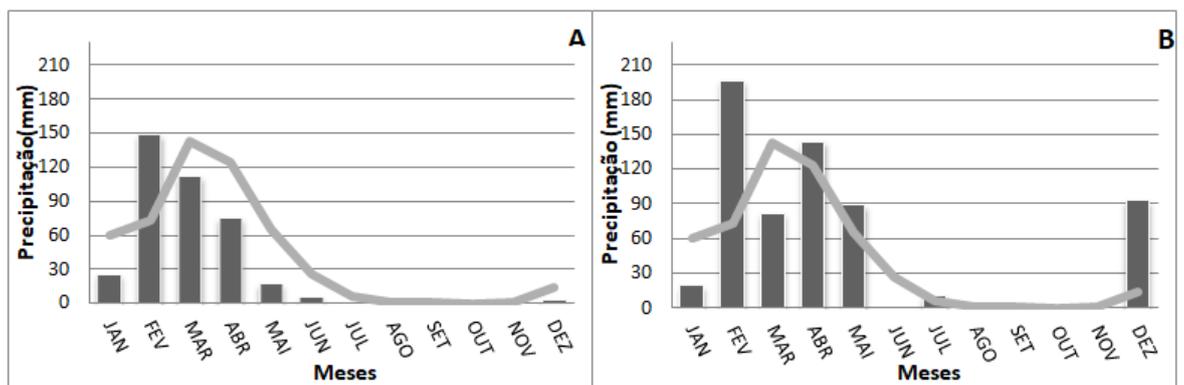
Figura 2 – Histórico anual de chuvas (2000-2018) para o município de Irauçuba.



Fonte: Elaborado pelo autor com dados fornecidos pela FUNCEME.

A linha escura indica a precipitação média ao longo do período analisado enquanto a linha mais clara indica a precipitação esperada para o período.

Figura 3 - Dados de precipitação mensal dos anos de 2017 (A) e 2018 (B), em que as coletas de solo foram realizadas.



Fonte: Elaborado pelo autor com dados fornecidos pela FUNCEME.

As linhas claras nos dois gráficos indicam as precipitações esperadas para cada período de acordo com o histórico anual de chuvas da região.

O histórico de seca em Irauçuba, assim como ocorre nos sertões nordestinos brasileiros, já é bastante conhecido. Como parte da região semiárida, os prolongados períodos de estiagem são condições naturais para a região, no entanto, provocam profundas modificações nas atividades socioeconômicas locais como a queda de produção

agropecuária, êxodo rural e o crescimento da miséria (BRANDÃO, 2003).

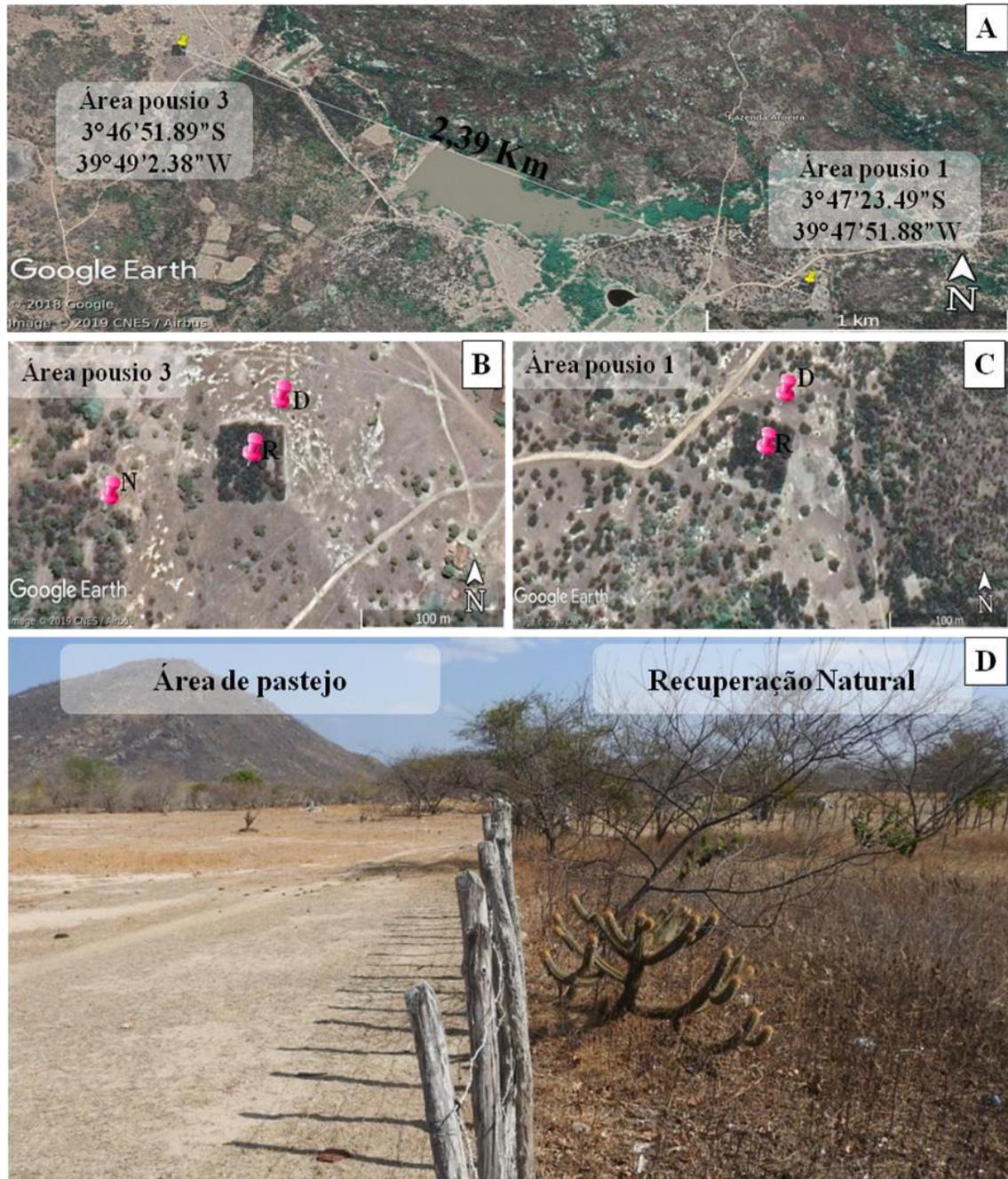
Inserido nesse contexto, o município de Irauçuba possui também uma associação histórica com ocorrência de áreas intensamente degradadas, em que o processo de desertificação já se encontra instalado (CAETANO et al. 2017).

A desertificação no município é produto das técnicas inadequadas de manejo de solo como o desmatamento, a queimada para fabricação de carvão e a prática de sobrepastejo na pecuária de bovinos e caprinos (OLIVEIRA e SALES , 2015).

Os solos avaliados nesse trabalho fazem parte de um sistema composto por cerca de 7 áreas-piloto construído no ano de 2000 (OLIVEIRA e SALES , 2015) em fazendas da região de Irauçuba. Neste estudo duas das sete áreas foram utilizadas, correspondentes as numerações 1 (3°47'23.49"S; 39°47'51.88"W) e 3 (3°46'51.89"S; 39°49'2.38"W) distantes entre si por aproximadamente 2,4 Km (Figura 4 - A).

Essas áreas-piloto consistem em sistemas de exclusões, áreas de 0,25 hectare, protegidas do uso por meio de cerca (sistema de pousio) e por áreas externas não cercadas, sejam elas áreas de intensa exploração de pecuária ou de predomínio da vegetação natural da caatinga (Figura 4 - B, C e D).

Figura 4 - Imagens de satélite da distância entre as áreas de pouso amostradas (A) e suas localizações na Fazenda Aroeira no Município de Irauçuba, (B e C). Imagem da área de pouso 3 e sua subdivisão em área de pastejo em desertificação e área de pouso em recuperação Natural (D).



Fonte: Elaborado pelos Autores

N: Área de amostragem de Caatinga nativa; R: Área de amostragem de Recuperação natural pelo sistema de pouso; D: Área de amostragem de solo em processo de desertificação por sobrepastejo

4.2. Coleta de amostras

Os solos utilizados neste experimento foram coletados em 16 de março de 2017 e 17 de maio de 2018 na Fazenda Aroeira, localizada no município de Irauçuba.

Nos períodos amostrados, os solos foram coletados em cinco locais distintos na fazenda Aroeira, sendo estas: a) uma área de mata que preserva características de Caatinga nativa; b) duas áreas de pastejo, representando uma Caatinga com grau de desertificação avançado e c) duas áreas-piloto de recuperação natural, cercadas há 18 anos.

Em cada uma das 5 áreas amostradas foram selecionados 3 pontos em diferentes regiões do terreno. Em cada um dos pontos a coleta foi realizada em triplicata em uma profundidade de 0-20 cm. Os solos coletados foram armazenados em sacos plásticos e levados ao Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembitech), localizado no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Uma vez em laboratório, as amostras foram peneiradas em malha de 2 mm para homogeneização, e armazenadas a temperatura ambiente.

A partir desses solos foram então realizados os experimentos de determinação do teor de matéria orgânica, umidade, pH, contagem de viáveis e o isolamento de bactérias. Os isolados de 2017 e 2018 foram avaliados quanto a capacidade de realizar solubilização de fosfato de cálcio. Alguns isolados de 2018 foram ainda avaliados quanto a produção de sideróforos.

4.3. Caracterização do solo

4.3.1. Teor de matéria orgânica

A determinação do teor de matéria orgânica foi realizada de acordo com o protocolo de perda de peso por ignição (SCHULTE; HOPKINS, 1996). As amostras foram levadas à estufa de secagem a 105 °C por 24 horas. Após esse período, as amostras foram mantidas em um dessecador até atingirem temperatura ambiente. Em seguida, os solos foram pesados (0,5 g cada) em cadinhos de cerâmica, previamente secos e pesados, e incinerados em mufla a 550 °C por 4 horas e pesados em balança analítica. Dos valores obtidos foram retirados os valores dos pesos dos cadinhos e o teor de matéria orgânica (mg/Kg) foi avaliado seguindo a fórmula:

$$\text{I) M.O. (mg/Kg)} = (\text{Ms} - \text{Mpi}) / \text{Ms} * 1000.$$

Ms – massa seca;

Mpi – massa pós-ignição.

4.3.2. pH do solo

O pH do solo de cada amostra foi aferido com auxílio de um pHmetro a partir da solução resultante da diluição de 25 g de solo para 225 ml de salina 0,9% (1:9 m/v) agitada a 150 rpm por 30 minutos (EMBRAPA, 1997).

4.3.3. Umidade no solo

Para esse procedimento foram pesados 1g de solo de cada uma das amostras em cadinhos de porcelana e levados à estufa de secagem a 105 °C por 24 horas. Decorrido esse tempo, cada um dos cadinhos foram colocados em um dessecador até atingirem temperatura ambiente e pesados. Cada um passou por pesagens com intervalos de 1 hora até que atingissem peso constante. Dos valores obtidos foram retirados os valores dos pesos dos cadinho e a umidade foi calculada com base na fórmula (EMBRAPA, 1997):

$$\text{II) Umidade} = 100 * (\text{Mi} - \text{Mf} / \text{Mi})$$

Mi – massa inicial

Mf – massa seca do solo

4.3.4. Contagem de viáveis e isolamento de bactérias

A estimativa de bactérias heterotróficas e mesófilas, foi feita através da técnica de contagem de viáveis em placa (*spread-plate*). Cada amostra de solo foi diluída em solução de NaCl 0,9% na proporção de 25 g de solo para 225 ml de salina e homogeneizadas em shaker a 150 rpm por 1 hora.

A partir dessa diluição inicial foram preparadas diluições decimais sucessivas até 10^{-6} que foram então submetidas à técnica de *spread plate* e plaqueadas, em duplicata, em meio PCA (*count plate agar*) diluído 10 vezes da concentração padrão, com o objetivo de simular a baixa disponibilidade de nutrientes da caatinga e diminuir a sobreposição de colônias promovida pelas bactérias de rápido crescimento.

As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 48 horas e após o período de incubação foram analisadas selecionando a diluição contendo entre 30 e 300 colônias. O

número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi calculado a partir da média entre as duplicatas e do valor de suas respectivas diluições expressando o resultado em UFC/g de solo.

As placas submetidas à contagem de viáveis foram analisadas, por áreas, buscando selecionar o maior número possível de morfotipos. As bactérias foram armazenadas em freezer – 80 °C e – 20 °C em meio PCA diluído, com adição de glicerol (1:5).

Foram atribuídas nomenclaturas genéricas para as coleções, sendo elas: BNIRA (Bactéria isolada de área nativa); BEIRA (Bactéria isolada de área de recuperação natural); BDIRA (Bactéria isolada de área em desertificação).

4.4. Estudos da comunidade de bactérias promotoras de crescimento vegetal

4.4.1. Ensaio de bactérias produtoras de sideróforos

O ensaio para a detecção da produção de sideróforos foi realizado com base no protocolo de Sperotto (2014) e Schwyn e Neilands (1987). O meio teste foi composto por um meio de cultura base (ágar KingB diluído) adicionado do corante Cromazurol S (CAS) em volume equivalente a 200ml/L de meio ou 20% do volume do meio de cultura base. Todas as vidrarias utilizadas neste ensaio foram lavadas com uma solução HCl 6 mM para eliminar quaisquer traços de ferro.

Para a composição do meio de cultura base, ágar KingB diluído, foram utilizados: 3 g de glicerol; 4 g de peptona; 0,23 g de K_2HPO_4 ; 0,3 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 15 g de ágar para um volume de 1L de água Milli-Q. O pH foi então ajustado para 6,8 e o meio autoclavado por 121 °C por 15 minutos.

Para a preparação de 200ml do corante CAS foram utilizadas 4 soluções: 15 mL de uma solução de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1mM + HCl 10 mM; 75 mL de uma solução de azul de cromazurol (CAS) 2 mM; 60 mL de uma solução 10 mM de HDTMA e, aproximadamente, 50 mL de uma solução tampão PIPES com pH ajustado para 5,6.

O corante foi esterilizado em uma membrana de filtração 0,2 μ m e adicionado ao meio KingB estéril que estava a uma temperatura próxima de 50 °C. A mistura foi então vertida em placas de Petri e protegida da luz.

As culturas puras de cada um dos isolados analisados foram inoculados em caldo TGE 10x diluído, crescidos por 24 horas. Uma alíquota de 20 μ L de cada bactéria foi retirada

e inoculada nas placas com o meio ágar CAS.

A detecção de produtores de sideróforos foi percebida através de um halo com coloração rosa a laranja em torno da colônia depois de 5 dias de incubação. Como controle positivo foi usada *Escherichia coli* e como controle negativo foi usado um isolado da própria coleção da caatinga. Os isolados tiveram o diâmetro do halo em placa e da colônia bacteriana medidos para a seleção dos isolados mais promissores nessa atividade.

4.4.2. Ensaio de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio

O ensaio utilizado para evidenciar o potencial de solubilizar fosfato pelos isolados foi baseado no método de Sylvester-Bradley et al. (1982). Para a realização do ensaio, foi preparado o meio GL (10 g de glicose, 2 g de extrato de levedura e 15 g de ágar para cada litro). Após esterilização deste meio, foram adicionados 50 mL de uma solução estéril de K_2HPO_4 100 g/L e 100 mL de $CaCl_2$ 100 g/L (pH 6,8), levando a formação de um precipitado esbranquiçado ($Ca_3(PO_4)_2$) (SPEROTTO, 2014).

Os isolados foram previamente cultivados em meio PCA 10 vezes diluído, transferidas com agulha de inoculação para a placa de teste (com meio GL adicionado das soluções de K_2HPO_4 e $CaCl_2$) e incubadas por 5 dias à 37°C.

A avaliação de bactérias positivas para o teste foi percebida a partir da formação de um halo de solubilização translúcido ao redor da colônia.

Por fim, foi calculado o Índice de Solubilização (IS) de cada cepa, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{III) IS} = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$$

Com base nesses índices, as bactérias foram classificadas como estirpes com baixa ($IS < 2$), média ($2 \leq IS < 4$) e alta solubilização ($IS > 4$) (HARA; OLIVEIRA, 2004; CHAGAS JUNIOR et al., 2010).

4.5. Seleção de isolados promissores

Após o ensaio de produtores de sideróforos e solubilizadores de fosfato, os isolados que mostraram melhores desempenhos foram selecionados.

4.6. Extração do DNA bacteriano e amplificação do gene ribossomal 16S

Entre os isolados selecionados como mais promissores a bactéria BEIRA 29 foi encaminhada para a identificação molecular. Para a extração de DNA, foi utilizado o protocolo de termólise adaptado de (SA et al, 2013). O microrganismo cultivado em, PCA diluído 10x, e teve um arrastado de células foi transferido para 400 µL de água ultra pura estéril em um *eppendorfs* de 1,5 mL. O tubo foi homogeneizado com o auxílio de *vortex*, incubado em banho seco a 99°C durante 10 minutos, levado ao *freezer* – 80°C durante 5 minutos e, em seguida, centrifugados a 12 000 RPM por 5 minutos a 4°C. No final, aproximadamente 300 µL do sobrenadante foram repassados para um *eppendorfs novo* e a qualidade do DNA foi medida através da leitura por Nanodrop e ajustada para 10 ng/µL.

Para a amplificação do gene 16S do RNAr foram utilizados os primers 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3') e 1525R (5'- AAGGAGGTGATCCAGCC – 3') já estabelecidos por (WAWRIK et al, 2005). A amplificação foi realizada em termociclador (*Thermo Scientific*) nos seguintes parâmetros: 95 °C por 2 min, seguido de 30 ciclos de 95 °C por 1 min, 55 °C por 1 min, 72 °C por 1 min 30 seg. O volume final para cada reação foi de 25 µL, sendo utilizados a seguinte concentração para cada reagente: 0.5 µM de cada iniciador, 1X de tampão GoTaq (Promega, EUA), 3.0 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 0.2 mM de cada dNTP, 1U de polimerase, 30 ng de DNA e água para PCR suficiente para completar os 25 µL.

O resultado da amplificação e o tamanho da sequência de interesse foi verificado em gel de agarose 1% (m/v), corado por SYBR™ safe e corrido em tampão TAE 0,5 X (200 mM de Tris base, 100 mM de ácido acético glacial, 5 mM de EDTA e pH 8,0). A amplificação pode ser confirmada pela presença das bandas na região aproximada de 1500 pb com o auxílio do marcador de 1kb, após a exposição do gel a um fotodocumentador ultravioleta.

4.6.1. Purificação e precipitação do DNA

O produto de PCR foi diluído para a concentração de 0,3 M com o auxílio de uma solução 3 M de acetato de potássio (pH 5,5) e adicionando 2 vezes o volume total da solução de etanol 100%. Em seguida, o tubo foi homogeneizado por inversão, refrigerado no *freezer* – 80 °C por 30 minutos e centrifugada a 14.000 RCF a 4°C por 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado, o *pellet* resultante foi lavado com etanol 70%

gelado e foi novamente centrifugado a 14.000 RCF a 4°C por 5 minutos. Após isso, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi secado em thermomix a 36°C por 30 minutos. O produto de PCR purificado foi ressuspensionado em 30 µL água ultrapura estéril, quantificado em Nanodrop e suas relações de 260/230 nm e 260/280 nm avaliando, além de sua concentração final superior a 50 ng/µL.

4.6.2. Análise das sequências e identificação molecular

O sequenciamento do DNA foi realizado pela empresa MacroGen (www.macrogen.com), através do método de SANGER, empregando os iniciadores 518F e 800R. O tratamento e edição da sequência se deu por meio do software Geneious R10 (www.geneious.com). Após tratada, a sequência contig obtida de cada amostra foi usada para a identificação molecular por meio da ferramenta de busca e alinhamento local BLAST utilizando o banco de dados do NCBI (ALTSCHUL, 1990). A espécie que obteve a maior identidade, cobertura e o maior número de hits com a sequência contig do isolado foram considerados similares.

4.7. Análise de dados

Para avaliação e comparação das médias obtidas dos dados dos solos e dos isolados das diferentes áreas foi feita uma análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey. Todas as análises e gráficos foram feitos com auxílio do programa GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, California, USA).

5 RESULTADOS

5.1. Teor de matéria orgânica

Os teores de matéria orgânica (MO) dos solos das três áreas estão mostrados na Tabela 2. Os teores de MO dos solos das áreas de recuperação após 17 e 18 anos de pousio atingiram valores iguais ao da área de vegetação nativa.

Tabela 2 – Teores de matéria orgânica de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e em processo de desertificação mensurados nos anos de 2017 e 2018 no núcleo de desertificação de Irauçuba-CE.

Amostragem de solos	Matéria orgânica (g.kg ⁻¹)	
	2017	2018
Vegetação natural	34,62 ± 8,2 ^{ac}	22,04 ± 6,1 ^{ab}
Recuperação natural	27,87 ± 10,6 ^a	29,18 ± 8,7 ^a
Desertificação	15,44 ± 8,4 ^b	16,61 ± 4,2 ^b

A tabela apresenta uma média dos valores obtidos nas amostras dos três tipos de solos analisados.

As diferentes letras em cada coluna correspondem a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com a ANOVA e após o teste de Tukey.

5.2. pH do solo

Os solos das três áreas no ano de 2017 apresentaram pH neutro e no ano seguinte todos se apresentaram ácidos, sendo as diferenças significativas (**Tabela 3**).

Tabela 3 – pH de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e em processo de desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.

Amostragem de solos	pH	
	2017	2018
Vegetação natural	7,2 ± 0,08 ^a	5,1 ± 0,45 ^b
Recuperação (pousio)	7,3 ± 0,25 ^a	5,3 ± 0,07 ^b
Desertificação	7,2 ± 0,30 ^a	5,3 ± 0,08 ^b

A tabela apresenta uma média dos valores obtidos nas amostras dos três tipos de solos analisados.

As diferentes letras em cada coluna correspondem a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com a ANOVA e após o teste de Tukey.

5.3. Umidade

A umidade dos solos também foi significativamente mais baixa em 2018, exceto na área de recuperação natural onde não se observou variação significativa de um ano para outro (Tabela 4).

Tabela 4 – Umidade de solos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e áreas em desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.

Amostragem de solos	Umidade (%)	
	2017	2018
Vegetação natural	8,2 ± 1,9 ^a	5,0 ± 0,7 ^b
Recuperação (pousio)	4,6 ± 1,7 ^b	3,0 ± 0,9 ^b
Desertificação	3,4 ± 1,0 ^b	0,9 ± 0,2 ^c

A tabela apresenta uma média dos valores obtidos nas amostras dos três tipos de solos analisados.

As diferentes letras em cada coluna correspondem a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com a ANOVA e após o teste de Tukey.

5.4. Contagem de bactérias viáveis

As contagens de bactérias viáveis por grama de solo foram semelhantes para as áreas de vegetação nativa e em processo de recuperação natural. As amostras de solos das áreas em processo de desertificação apresentaram números de viáveis significativamente mais baixos nos dois anos (Tabela 5).

Tabela 5 – Contagens de bactérias viáveis por grama de solo (UFC/g) de amostras provenientes de áreas de vegetação natural da caatinga, em processo de recuperação e em processo de desertificação, nos anos de 2017 e 2018 em Irauçuba-CE.

Amostragem de solos	UFC/g	
	2017	2018
Vegetação natural	$5,0 \times 10^5 \pm 3,2^a$	$6,4 \times 10^5 \pm 1,7^a$
Recuperação (pousio)	$5,5 \times 10^5 \pm 2,9^a$	$3,9 \times 10^5 \pm 2,6^{ab}$
Desertificação	$2,0 \times 10^5 \pm 2,7^b$	$1,6 \times 10^5 \pm 0,92^b$

A tabela apresenta uma média dos valores obtidos nas amostras dos três tipos de solos analisados.

As diferentes letras em cada coluna correspondem a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com a ANOVA e após o teste de Tukey.

5.5. Isolamento de bactérias

O número de isolados bacterianos obtidos em cada área por ano está mostrado na tabela 6. No total foram selecionados 310 isolados com base em características das colônias.

Tabela 6 - Números de isolados bacterianos obtidos a partir de amostras de solos coletadas em 2017 e 2018 em áreas de vegetação nativa da caatinga (BNIRA), áreas em processo de recuperação natural (BEIRA) e áreas em processo de desertificação (BDIRA) em Irauçuba, CE.

Ano	No. de isolados	Origem	No. de isolados
2017	185	BNIRA	58
		BEIRA	77
		BDIRA	50
2018	125	BNIRA	29
		BEIRA	40
		BDIRA	56

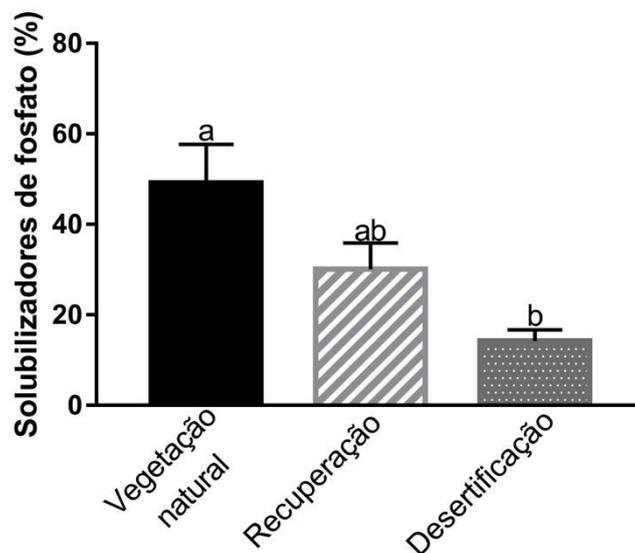
5.6. Bactérias produtoras de sideróforos

Para a pesquisa de produtores de sideróforos foram analisados 69 isolados coletados em 2018, sendo 22 de BNIRA (nativa), 20 de BEIRA (recuperação) e 27 de BDIRA (deserto). Foram obtidos 12 isolados produtores dentre os isolados de BNIRA, 11 de BEIRA e 14 de BDIRA.

5.7. Bactérias solubilizadoras de fosfato

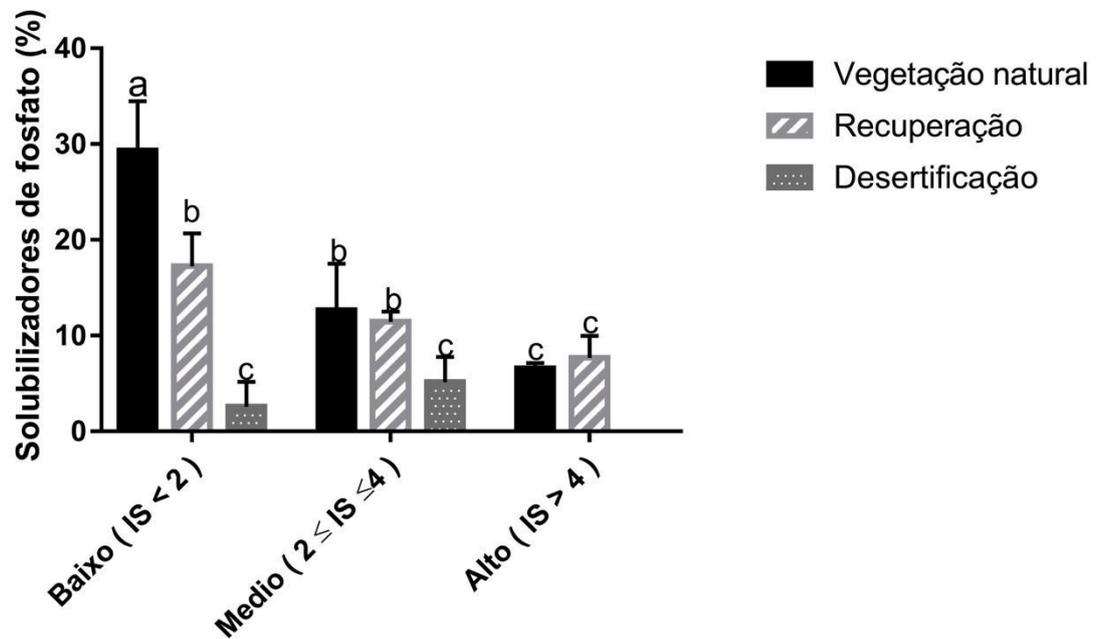
Todos os 310 isolados obtidos nas coletas de 2017 e 2018 foram avaliados e os resultados estão mostrados na **Figura 5**. A área de vegetação natural apresentou o maior percentual de solubilizadores de fosfato e a área em processo de desertificação o menor percentual.

Figura 5 – Percentual de bactérias solubilizadoras de fosfato isoladas de solos das áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação natural e áreas em processo de desertificação de Irauçuba, CE.



Os isolados produtores de sideróforos foram classificados de acordo com o índice de solubilização (Figura 6). A maioria das bactérias solubilizadoras de fosfato isoladas das áreas nativa e de recuperação natural apresentou índice de solubilização baixo ($IS < 2$), enquanto que os isolados oriundos da área em desertificação e recuperação apresentaram, respectivamente, reduções nos três índices e a tendência a seu restabelecimento.

Figura 6 – Índice de solubilização (IS) de fosfato dos isolados oriundos de áreas de vegetação natural da caatinga, áreas em processo de recuperação e áreas em processo de desertificação.



5.8. Seleção de isolados para preparação de inoculantes

Dentre 69 isolados analisados quanto à produção de sideróforos, 18 também são solubilizadores de fosfato, compreendendo 10 isolados oriundos da área nativa (BNIRA), 5 das áreas em recuperação natural (BEIRA) e 3 das áreas em desertificação (BDIRA). Destes 18 isolados, 8 se destacaram por seus altos índices de produção de sideróforos e solubilização de fosfato (Tabela 7).

Tabela 7 - Isolados mais promissores selecionados com base nos índices altos de solubilização de fosfato e de produção de sideróforos. BNIRA (Bactéria isolada de área nativa); BEIRA (Bactéria isolada de área de recuperação natural).

Isolado	Índice de sideróforo (dHalo/dColônia)*	Índice de solubilização (dHalo/dColônia)
BNIRA 25	6,82	2
BNIRA 28	5,5	1,3
BNIRA 32	10,8	1,5
BEIRA 2	3	2,66
BEIRA 3	3	2
BEIRA 12	4,5	4,5
BEIRA 21	3	2
BEIRA 29	4	4

*dHalo – diâmetro do halo formado na placa; dColônia – diâmetro da colônia crescida na placa

5.9. Identificação molecular

Pelo conjunto de suas características fenotípicas o isolado BEIRA 29 foi selecionado para identificação molecular. A análise de similaridade com sequências do gene rRNA 16S depositadas no GenBank mostrou 99,8% de identidade com a espécie *Enterobacter cloacae* SBP-8 (GenBank: KJ950709.2)

6 DISCUSSÃO

Estima-se que 33% dos solos do mundo estão em estados de moderada à alta degradação, em consequência das mudanças climáticas e atividades antrópicas. A degradação dos solos compromete a biodiversidade, assim como os estoques de água e carbono do planeta (MENDES et al., 2018).

Nesse estudo foram analisados solos do núcleo de desertificação do município de Irauçuba, Ceará. As análises confirmaram o avançado estado de degradação dos solos de áreas de pastagens, caracterizadas pela baixa umidade, baixo conteúdo de matéria orgânica (MO) e perda de diversidade bacteriana, traduzida pela redução significativa do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g).

A matéria orgânica é um dos principais indicadores de qualidade do solo devido a sua associação com a decomposição e ciclagem dos nutrientes. A redução da MO dos solos das áreas de pastagens pode ser explicada pela redução ou ausência de cobertura vegetal, às condições edáficas e a maior suscetibilidade que o solo exposto a erosão eólica e hídrica possui (ALBALADEJO, 1998; MARTINS et al., 2019; ZANG et al., 2011).

Os solos das áreas em pousio de Irauçuba, cercadas desde o ano 2000 para recuperação natural, apresentaram características de umidade, pH, MO e UFC/g similares aos solos da área de vegetação nativa, ressaltando os benefícios da recuperação natural. Apesar da franca evolução da qualidade do solo, as áreas de pousio ainda apresentam acentuada redução da diversidade vegetal, com dominância de herbáceas e da Fabacea *Mimosa tenuiflora*, popularmente conhecida como jurema preta (OLIVEIRA FILHO et al., 2019). Jurema preta é uma árvore pioneira, decídua, heliófila com cerca de 5-7 m de altura. É colonizadora de áreas em estado de degradação e tem grande potencial como regeneradora de solos erodidos, indicadora de sucessão secundária progressiva ou de recuperação, quando é praticamente única espécie lenhosa presente (MAIA, 2004; ARAÚLO FILHO E CARVALHO, 1996).

Apesar da matéria orgânica ser utilizada como indicador de qualidade do solo, individualmente não traduz todos os aspectos que devem ser levados em conta para uma determinação acurada da qualidade do solo (STENBERG, 1999). Além da MO, Zornoza et al. (2015) sugerem avaliar a umidade, o pH e parâmetros microbianos como a densidade microbiana. Essas variáveis sofrem influência direta da cobertura vegetal o que acaba mostrando a importância da preservação da cobertura vegetal nativa para qualidade do solo e funcionamento do ecossistema.

Os indicadores de qualidade do solo avaliados no presente estudo convergiram

para a constatação do severo prejuízo da desertificação e ratificaram as vantagens da recuperação natural oferecida pela técnica de pousio.

A redução da umidade nos solos em desertificação e a recuperação intermediária da umidade nos solos em pousio são atribuídos principalmente a porosidade dos solos (BIENES et al., 2016; OLIVEIRA e SALES, 2015) e a capacidade de retenção de água (GERIS et al., 2015). No entanto, a cobertura vegetal morta (GICHERU et al., 2004; JIMÉNEZ et al., 2017), os canais radiculares (WU et al., 2017) e a interconexão do sistema de poros (BIENES et al., 2016) produzidos pela vegetação espaçada e serapilheira em formação no solo de pousio, podem ter contribuído para os melhores resultados da umidade nesses solos, já que se trata de uma região de aridez (GERIS et al., 2015).

Ressalte-se que a umidade mais alta dos solos de 2017, ano menos chuvoso do que 2018, pode ser atribuída à precipitação de 8 mm ocorrida no dia da coleta (FUNCEME).

A baixa contagem de bactérias nos solos das áreas de pastagens pode ser atribuída aos efeitos negativos da aridez ambiental e dos seus efeitos indiretos como a diminuição da disponibilidade hídrica, aumento da exposição a radiação solar, temperaturas elevadas e pouca cobertura vegetal comuns em solos áridos (NEILSON et al., 2017). Apesar dos solos estudados não serem caracterizados como áridos, os solos semiáridos tem índices de aridez considerados elevados, o que não descarta a forte influência desses fatores também nessas regiões, principalmente quando se fala de solos expostos como os solos em desertificação. Martins et al. (2019) também encontraram diferenças na atividade microbiana de solos em pousio e em desertificação.

O pH não foi um bom indicador da qualidade dos solos. Esse indicador é caracterizado por poder sofrer variações como a acidificação provocada pela perda de bases ou incremento de H^+ , ocasionados respectivamente pela pluviosidade e densidade de vegetação, ou por poder ser guiado gradualmente à neutralidade por adubação (PREZOTTI; GUARÇONI, 2013). Dessa maneira a diminuição do regime de chuvas em 2017 pode ter conduzido os solos ao estado básico, uma vez que nos solos em desertificação a perda de bases presente na região (OLIVEIRA e SALES, 2015) pode ter diminuído. Nos solos da área de vegetação natural, mais protegido da perda de bases, pode ter seu pH neutro ocasionado pelo incremento da adubação fornecido pelas folhas e galhos secos, além dos restos vegetais e animais presentes na serapilheira (DE ANDRADE et al., 2009). No ano de 2018, quando o regime de chuvas foi mais intenso, a perda de bases pode ter levado a acidificação do solo desertificado, enquanto o crescimento e incremento da cobertura vegetal nos solos de

recuperação e natural podem ter levado ao mesmo destino.

Mesmo que as análises realizadas não sejam suficientes para discutir os efeitos da desertificação sobre a riqueza e diversidade de bactérias (composição da comunidade microbiana), é possível especular que bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) são diretamente afetadas pela desertificação, uma vez que tem seu nicho alterado. O grau da interferência da desertificação sobre as comunidades microbianas não é bem conhecido, embora alterações de atividades enzimáticas já tenham sido reportadas (LI et al., 2014; LI et al., 2018).

Dados desse estudo sugerem alterações da comunidade de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF). O número de BSF foi significativamente mais baixo nos solos em desertificação do que nos solos em pousio e na área de vegetação nativa. Mudanças na porcentagem de BSF foram utilizadas para diferenciar tipos de solos florestais, com diferentes concentrações de P (BERGKEMPER et al., 2016). Modificações na estrutura da comunidade de microrganismos do solo podem ser refletidas na disponibilidade de nutrientes e na rizosfera das plantas, uma vez que a rizosfera e o microbioma do solo são diretamente associados (MOMMER, KIRKEGAARD; VAN RUIJVEN, 2016).

Levando-se em conta que em parte do semiárido nordestino, frente aos fosfatos de alumínio e ferro, os fosfatos de cálcio não são os predominantes, (SALCEDO, 2006) e algumas bactérias que solubilizam o fosfato de Ca^{+2} também podem solubilizar outros tipos de fosfatos (YADAV et al, 2017), essa alteração na comunidade solubilizadora pode ter um impacto mais grave e diferente de solo para solo.

No caso das similaridades encontradas para as atividades de produção de sideróforos entre as áreas, hipotetiza-se que o pH pode ter influenciado essa atividade, principalmente a solubilização do ferro, cuja solubilidade ocorre entre a faixa pH 7,4 - 8,5 (LINDSAY, 1984) valores não comumente encontrados nas áreas estudadas (OLIVEIRA E SALES, 2015; OLIVEIRA FILHO et al., 2019), cujo pHs variaram entre 5,0 e 7,0. A similaridade nos pHs de solos de áreas distintas e seu valor sempre abaixo da solubilidade de Fe^{+3} favorecem de maneira semelhante a comunidade de bactérias produtoras de sideróforos, uma vez que estas respondem a baixa disponibilidade do metal (ALI; VIDHALI, 2013).

Estudos que acessam a diversidade microbiana de solos já mostraram a versatilidade do uso e aplicabilidade de microrganismos nativos (NELSON, 2004; ALI; VIDHALE, 2013; SHARIFI; RYU, 2018).

Segundo a hipótese do distúrbio intermediário proposta por Connell (1987), as

comunidades com níveis intermediários de perturbação tendem a ser mais diversificadas. Isso ocorre porque não são expostas a níveis extremos de estresse que selecionam constantemente determinados grupos devido suas características adaptáveis, nem possuem uma comunidade já estabelecida e organizada funcionalmente.

Os resultados obtidos para os solos submetidos ao sistema de pousio apresentam valores intermediários ou mais próximos do natural, mostrando a recuperação da área ao longo dos 18 anos, e seu potencial gerador de recursos genéticos.

Com esse objetivo claro de promover uma alternativa de tratamento para as áreas degradadas, ou mesmo melhorar a qualidade dos solos de áreas em recuperação, 69 isolados das três áreas foram avaliados quanto a produção de sideróforos e solubilização de fosfato. Oito isolados positivos para ambas as atividades foram selecionados devido suas promissoras atividades de sideróforos e solubilização de fosfato, características de um bom inoculante, sendo, em sua maioria, provenientes das áreas de pousio, área com a perturbação ambiental intermediária.

BNIRA 25, BNIRA 28, BNIRA 32, BEIRA 2, BEIRA 3 e BEIRA 21 são relevantes principalmente devido a grande produção de moléculas de sideróforos, com valores de diâmetro de produção que ficam entre 3 e 10 vezes o diâmetro da bactéria. BEIRA 12 e BEIRA 29 foram isolados positivos para ambas as atividades, sendo selecionados como mais promissores entre os isolados devido suas altas capacidades para solubilizar fosfato e grande capacidade de produção de sideróforo.

Os isolados de alta eficiência para ambas as atividades apresentaram índices de solubilização de fosfato comparativamente superiores a de isolados provenientes do semiárido da Índia (SARATHAMBAL et al., 2015), do México (MACEDO-RAYGOZA et al., 2019) e dos estados brasileiros do Amazonas (JUNIOR, DE OLIVEIRA; DE OLIVEIRA, 2010; CHAGAS JUNIOR et al., 2010), de Minas Gerais (ANDRADE et al., 2014) e do Mato Grosso (VITORINO et al., 2012).

Uma das características de um inoculante microbiano destinado a interagir diretamente com a planta ou sua rizosfera é sua capacidade de interagir benéficamente com a planta hospedeira (SHARIFI; RYU, 2018). O isolado BEIRA 29 foi identificado como pertencente ao gênero *Enterobacter*, bactéria Gram-negativa pertencente à família de Enterobacteriaceae (ADELOU et al., 2016), amplamente encontradas em todos os ambientes naturais (LIU et al., 2016).

Espécies de *Enterobacter* são relatadas agronomicamente junto a gêneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Caulobacter*, *Serratia*, *Arthrobacte*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Hyphomycrobium* que fazem parte do grupo das Rizobactérias Produtoras de Crescimento Vegetal (RPCV) (GRAY; SMITH, 2017). RPVC incrementam o crescimento de plantas através de vários mecanismos como produção de hormônios vegetais como auxinas, sendo boas solubilizadoras de fosfato e produtoras de sideróforos (GRAY; SMITH, 2017).

BEIRA 29 foi mais similar a estirpe *Enterobacter cloacae* SRP-8, que é uma RPVC conhecida por produzir 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminase (AcdS), solubilizar fosfato, produzir sideróforo e IAA (ácido indolacético). Essa estirpe também produz genes que codificam diferentes funções necessárias para a colonização da planta, incluindo mobilidade, quimiotaxia, aderência e sistema de secreção (SINGH, NALWAYA e JHA, 2017). Trabalhos também associam essa estirpe à tolerância a salinidade de plantas (SINGH et al, 2017).

Existem relatos de utilização de *Enterobacter* spp. para milho (*Zea mays*) (HINTON; BACON, 1995); trigo (*Triticum aestivum*) (SINGH, JHA e JHA, 2017); banana (*Musa ssp.*) (MACEDO-RAYGOZA et al., 2019), batata (*Solanum tuberosum*) (VERMA, AGRAWAL, SHAHI, 2018) e tomate (*Lycopersicum esculentum*) (ABDELJALIL et al, 2016). Estudos também reportam atividade contra fungos fitopatogênicos (DAVIN-REGLI, 2018; ABDELJALIL et al, 2016). Esses exemplos ressaltam o potencial de BEIRA 29, uma estirpe de *Enterobacter*, como um possível inoculante para aplicação em áreas em processo de desertificação do semiárido nordestino.

Entendendo a perspectiva promissora e importância desse resultado no contexto atual, onde a metagenômica, inquestionavelmente poderosa, é um método efetivo para fornecer informações detalhadas de uma amostra com base em fragmentos de genoma, a microbiologia clássica pode mostrar uma parte diferente desse mundo microbiano.

Os métodos clássicos de cultivo ajudam a encontrar, cultivar e identificar espécies bacterianas que podem ser usadas para ajudar a anotar ou re-anotar dados metagenômicos, que são dependentes de genomas de referência quando destinadas a atribuir função a espécies (TEELING; GLÖCKNER, 2012).

Além disso, a microbiologia clássica possibilita identificar e cultivar microrganismos para exploração aplicada, descobrindo como funcionam individualmente e a

maneira mais efetiva e viável de aplica-los para a solução de problemas enraizados, como no caso da desertificação. Dessa forma, fugindo de metodologias recombinantes associadas à metagenômica, que conhecidamente tem a sequencia da função de interesse inserida na célula perdida ao longo do tempo devido à instabilidade dos plasmídios utilizados (ENSLEY, 1986; SAN; MACLEAN, 2017).

7 CONCLUSÃO

Os dados desse estudo confirmaram os efeitos negativos da desertificação sobre o conteúdo de matéria orgânica e umidade do solo, assim como os benefícios da técnica de recuperação natural de solos de pastagens, mantidos excluídos por longos períodos, sobre as mesmas variáveis.

De forma inédita nosso estudo destaca alguns efeitos negativos e positivos respectivamente, da desertificação e pousio, sobre a densidade de bactérias e estrutura da comunidade de bactérias solubilizadoras de fosfato, que juntamente com as bactérias produtoras de sideróforos, atuam como promotoras do crescimento vegetal (BPCV)

Além disso, a seleção de bactérias produtoras de sideróforos e solubilizadoras de fosfato levou à 8 novos isolados promissores. A identificação molecular de um desses isolados identificado como *Enterobacter* sp., ressalta o patrimônio genético armazenado nesses solos e destaca o potencial para se descobrir novas estirpes de BPCV que poderão entrar na composição de produtos aplicados à recuperação de solo de áreas de desertificação.

REFERÊNCIAS

- ABDELJALIL, N. O. B. et al. Biocontrol of Rhizoctonia root rot in tomato and enhancement of plant growth using rhizobacteria naturally associated to tomato. **J Plant Pathol Microbiol**, v. 7, n. 356, p. 2, 2016.
- ACCIOLY, L.J.O. Degradação do solo e desertificação no Nordeste do Brasil. **Embrapa Solos-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)**, v.25, n.1, p.23-25, 2000.
- ADEOLU, M. et al. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5575-5599, 2016.
- AHMED, E.; HOLMSTRÖM, S. J. M.. Siderophores in environmental research: roles and applications. **Microbial Biotechnology**, v. 7, n.3, p.196-208, 27 fev. 2014.
- ALBALADEJO, J. et al. Degradação e desertificação do solo induzidas pela remoção de vegetação em ambiente semiárido. **Uso e manejo do solo**, v. 14, n. 1, p. 1-5, 1998. ALI, Syed Sajeed;
- VIDHALE, N. N. Bacterial siderophore and their application: a review. **Int J Curr Microbiol App Sci**, v. 2, n. 12, p. 303-312, 2013.
- ALVARADO CARRILLO, Manuel; DÍAZ FRANCO, Arturo; PEÑA DEL RÍO, María de los Ángeles. Productividad de tomate mediante micorriza arbuscular en agricultura protegida. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 5, n. 3, p. 513-518, 2014.
- ALTSCHUL, S. F. GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **J. Mol. Biol.**, v. 215, p. 403 - 410, 1990.
- ANDRADE, Edardna Suzana. MONITORAMENTO DO SOLO EM ÁREAS DEGRADADAS EM PROCESSO DE RECUPERAÇÃO NO MUNICÍPIO DE SÃO JOÃO DO CARIRI. SEMIÁRIDO PARAIBANO, 2017.
- ANDRADE, L. F., DE SOUZA, G. L. O. D., NIETSCHKE, S., XAVIER, A. A., COSTA, M. R., CARDOSO, A. M. S., ... PEREIRA, D. F. G. S. Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to promote plant growth. **Journal of Microbiology**, v.52, n.1, p. 27-34, 2014.
- ANUPA, N.; ASHA, J. A.; SANJEEV, S. K. Production and Characterization of Siderophores and its Application in Arsenic Removal from Contaminated Soil. **Water Air & Soil Pollution**, v.180, p.199-212, 2007.
- ARAÚJO, Ademir Sérgio Ferreira de; MONTEIRO, Regina Teresa Rosim. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**. Uberlandia, p. 66-75. jul. 2007.
- ARAÚJO FILHO, J. A.; CARVALHO, F. C. Desenvolvimento sustentado da Caatinga. In: ALVAREZ V. H.; FONTES, L. E. F. FONTES, M. P. (Eds.). O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa, MG: SBCS, UFV, DPS. 1996, p. 125-133.
- BERGKEMPER, F., SCHÖLER, A., ENGEL, M., LANG, F., KRÜGER, J., SCHLOTTER,

- M.,; SCHULZ, S. Phosphorus depletion in forest soils shapes bacterial communities towards phosphorus recycling systems. **Environmental microbiology**, v.18, n.6, p. 1988-2000, 2016.
- BIENES, R. et al. Eleven years after shrub revegetation in semiarid eroded soils. Influence in soil properties. **Geoderma**, v. 273, p. 106-114, 2016.
- BOUSKILL, Nicholas J. et al. Belowground Response to Drought in a Tropical Forest Soil. II. Change in Microbial Function Impacts Carbon Composition. **Frontiers In Microbiology**, v. 7, p.323-338, 15 mar. 2016b. Frontiers Media SA.
- BOUSKILL, Nicholas J. et al. Belowground Response to Drought in a Tropical Forest Soil. I. Changes in Microbial Functional Potential and Metabolism. **Frontiers In Microbiology**, v. 7, p.525-540, 20 abr. 2016a. Frontiers Media SA.
- BRANDÃO, Ricardo de Lima et al. **Zoneamento Geoambiental da Região de Irauçuba, CE**, 2003.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Recursos hídricos. Avaliação das águas do Brasil. Brasília, DF, p.86, 2002.
- BRASIL . **Nova Delimitação do Semi-Árido Brasileiro**. Brasília: MI, 2005. 35p (Cartilha de delimitação do semiárido).http://www.mi.gov.br/c/document_library/get_file?uuid=0aa2b9b5-aa4d-4b55-a6e1-82faf0762763&groupId=24915 (Acesso em: 15/10/2016).
- CAVALCANTI, Maria Idaline Pessoa et al. Seleção de bactérias promotoras de crescimento em milho cultivado no semiárido obtidas por diferentes estratégias de isolamento. 2016.
- CCD. Convenção das Nações Unidas de Combate à Desertificação. Tradução: Delegação de Portugal. Lisboa (PT): Instituto de Promoção Ambiental, p.55, 1995.
- CEARÁ. Secretaria dos Recursos Hídricos. Recuperação de áreas degradadas no semiárido do Ceará. Fortaleza: SRH, 2010. 30 p.
- CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS (CGEE). **Desertificação, degradação da terra e secas no Brasil**. Brasília, DF, p.252 , 2016.
- CHAGAS JUNIOR, Aloisio Freitas et al. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 359-366, 2010.
- CHARRUA, H. C. C. Desertificação e reversibilidade dos problemas de desertificação.2014. 143 f. Dissertação (Mestrado em Arquitetura Paisagística) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014.
- CHEN YP, REKHA PD, ARUN AB, SHEN FT, LAI WA, YOUNG CC. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol.* V.34, p.33-41, 2006.
- CIRILO, J. A. Políticas públicas de recursos hídricos para o semi-árido. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p.61-82, 2008.
- COLEMAN, D.C.; OADES, J.M.; Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems. Honolulu : **University of Hawaii Press**, p.249, 1989.
- COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta botanica brasílica**, v. 20 n. 1, p. 13-23, 2006.
- CONNELL, Joseph H. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. **Science**, v. 199, n. 4335, p. 1302-1310, 1978.
- DAVIN-REGLI, Anne et al. Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile

bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 392, 2015.

DE ANDRADE, Rênio Leite et al. Deposição de serapilheira em área de caatinga na rppn "fazenda tamanduá", Santa Terezinha-PB. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 223-230, 2008.

DE FRANÇA, Ítalo Waldimiro Lima et al. Production of a biosurfactant by *Bacillus subtilis* ICA56 aiming bioremediation of impacted soils. **Catalysis Today**, v. 255, p. 10-15, 2015.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ), **Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. – 2. ed. rev. atual, Rio de Janeiro p.212, 1997.

EMADIAN, S. Mehdi; ONAY, Turgut T.; DEMIREL, Burak. Biodegradation of bioplastics in natural environments. **Waste management**, v. 59, p. 526-536, 2017.

ENSLEY, Burt D. Stability of recombinant plasmids in industrial microorganisms. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 263-277, 1986.

FARIAS, D. F., SOUZA, T. M., VIANA, M. P., SOARES, B. M., CUNHA, A. P., VASCONCELOS, I. M.; CARVALHO, A. F. U. Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from Brazilian semiarid region. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

FENNER, Eduardo Lang. Biocontrole da ferrugem asiática e da podridão vermelha da raiz, em soja, utilizando diferentes tratamentos biológicos nas sementes, 2017.

FIGUEIREDO, Vânia Santos. Perspectivas de recuperação para áreas em processo de desertificação no semiárido da Paraíba – Brasil. Scripta Nova. Revista Electrónica de Geografía y Ciencias Sociales. En línea. Barcelona: Universidad de Barcelona, 10 de octubre de 2013, vol. XVII, nº 453. . ISSN: 1138-9788.

FUNCEME. Calendário de chuvas no estado do ceará. Disponível em: <<http://www.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/media/anual>>. Acesso em: 15 abr 2019.

FUNCEME. Zoneamento ecológico-econômico das áreas susceptíveis a desertificacao do estado do ceara nucleo i-iracuba/centro-norte. Fortaleza, 2015.

GADD, G. M. Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation. *Geoderma*, Amsterdam, v. 122, n. 2/4, p. 109-119, Feb. 2004.

GERIS, Josie et al. The relative role of soil type and tree cover on water storage and transmission in northern headwater catchments. **Hydrological Processes**, v. 29, n. 7, p. 1844-1860, 2015.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil biology and biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

HACISALIHOGU, S., MISIR, M., MISIR, N., YÜCESAN, Z., OKTAN, E., GÜMÜŞ, S.,; KEZIK, U. (2017). The Effects of Land Use Change on Soil Loss and Carbon Stock Amounts. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26, 1-13.

HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. **Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas**. *Acta Amazônica*, v. 34, n. 3, p. 343-357, 2004.

HARE, F. K. (org.). Desertificação: Causas e Consequências. Tradução de Henrique de Barros

e Ário Lobo de Azevedo. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992.

HIDER, Robert C. Siderophore mediated absorption of iron. In: **Siderophores from Microorganisms and Plants**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1984. p. 25-87.

HINTON, Dorothy M.; BACON, Charles W. Enterobacter cloacae is an endophytic symbiont of corn. **Mycopathologia**, v. 129, n. 2, p. 117-125, 1995 HUNGRIA, Mariangela et al. Inoculation with selected strains of Azospirillum brasilense and A. lipoferum improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

HUSEN, Edi. Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro. **Indonesian Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 1, p. 27-31, 2016.

İMAMOĞLU, Ali; DENGİZ, Orhan. Avaliação do índice de qualidade do solo para avaliar a influência do processo de degradação e desertificação do solo no ecossistema terrestre subárido. **Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali**, p. 1-12, 2019.

IPECE Instituto de Pesquisa e Estratégica Econômica do Ceará, 2017. **Perfil municipal de Irauçuba**. Disponível em: http://www.ipece.ce.gov.br/perfil_basico_municipal/2017/Iraucuba.pdf. Acesso em: 18 abr 2019.

JUNIOR, Aloisio Freitas Chagas; DE OLIVEIRA, Luiz Antonio; DE OLIVEIRA, Arlem Nascimento. Caracterização fenotípica de rizóbio nativos isolados de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão caupi. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 161-169, 2010.

KHAN, Sumia et al. Plant–bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. **Chemosphere**, v. 90, n. 4, p. 1317-1332, 2013.

KHANAMANI, Ali et al. Avaliação da desertificação usando índices de solo. **Jornal Árabe de Geociências**, v. 10, n. 13, p. 287, 2017.

KOBIYAMA, Masato; MINELLA, Jean Paolo Gomes; FABRIS, Ricardo. Áreas degradadas e sua recuperação. **Informe agropecuário**, v. 22, n. 210, p. 10-17, 2001.

KUAN, Khing Boon et al. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. **PLoS one**, v. 11, n. 3, p. e0152478, 2016.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Ecologia e conservação da caatinga. **Ed. Universitária da UFPE**, Recife, p.822, 2003.

LEHMANN, Johannes; KLEBER, Markus. The contentious nature of soil organic matter. **Nature**, v. 528, n. 7580, p. 60-68, 2015.

LIMA, G.M., DIAS, L. F., VALE, R.M.C. Mapeamento geomorfológico como subsídio ao estudo da desertificação no norte da Bahia. *Revista Geonorte*, 2, 588–598., 2012

LINDSAY, W. L. (1984). Soil and plant relationships associated with iron deficiency with emphasis on nutrient interactions. **Journal of Plant Nutrition**, 7(1-5), 489–500. doi:10.1080/01904168409363215

LIU, Ke et al. Mixtures of plant-growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple plant diseases and plant-growth promotion in the presence of pathogens. **Plant disease**, v. 102, n. 1, p. 67-72, 2018.

LIU, S. Y. et al. Identification and characterization of a new Enterobacter onion bulb decay caused by Lelliottia amnigena in China. **App Micro Open Access**, v. 2, p. 114, 2016.

LOPES, L. S. O.; SANTOS, R. W. P.; MIGUEL FILHO, M. A. Núcleos de desertificação de

Gilbués (PI): Causas e intervenções. *Revista Geografia (Londrina)*, v. 20, n. 2, p. 053-066, 2011.

MA, H.; ZHAO, H. United Nations: Convention to combat desertification in those countries experiencing serious drought and/or desertification, particularly in Africa. **Int. Legal Mater**, v. 33, p. 1328-1382, 1994.

MAIA, G. N. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades. São Paulo: D&Z, 2004. 413 p.

MACEDO-RAYGOZA, Gloria M. et al. *Enterobacter cloacae*, an endophyte that establishes a nutrient-transfer symbiosis with banana plants and protects against the black Sigatoka pathogen. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 804, 2019.

MANZONI, S.; SCHIMEL, J.P.; PORPORATO, A. Responses of soil microbial communities to water stress: results from a meta-analysis. **Ecology**. V.93, 2012, 930–938. doi: 10.1890/11-0026.1

MARDAD, Illham; SERRANO DELGADO, Aurelio; SOUKRI, Abdelaziz. Solubilization of inorganic phosphate and production of organic acids by bacteria isolated from a Moroccan mineral phosphate deposit. **African Journal of Microbiology Research**, 7, 626-635., 2013.

MARRA, L. M. Solubilização de fosfatos por bactérias e sua contribuição no crescimento de leguminosas e gramíneas. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, P.141, 2012.

MARTINS, Adriana Ferreira et al. Physical, Chemical, and Microbiological Properties of Soil under Different Plant Covers in the Seridó Desertification Region in the Brazilian Semiarid. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 43, 2019.

MATALLO JÚNIOR. H. A desertificação no mundo e no Brasil. In: SCHENKEL, C. S.; MATALLO JR. H. (Org.). Desertificação. Brasília: UNESCO, 1999.

MATALLO JÚNIOR, H. **Indicadores de desertificação: histórico e perspectiva**. Brasília: Unesco, 2001.

MEIRA, Suedio Alves; DA SILVA MARINHO, Anderson; DA SILVA, Edson Vicente. FATOR SOLO EM NÚCLEOS DE DESERTIFICAÇÃO NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL. **Revista da Casa da Geografia de Sobral (RCGS)**, v. 21, n. 2, p. 227-240, 2019.

MELO FILHO, J. F.; SOUZA, A. L. V. O. O manejo e a conservação do solo no Semiárido baiano: desafios para a sustentabilidade. *Bahia Agrícola*, v. 7, n. 3. 2006. p. 50-60.

MENDES, B. V. Recuperação de áreas degradadas pela “técnica do inóculo”. Mossoro-RN: Fundação Guimarães Duque, Série “b” n. 2199, p.12, 2002.

MENEZES, I. ; BUENO, F. O uso dos microorganismos como bioindicadores para avaliar a qualidade dos solos agrícolas. **Jornal Dia de Campo: Informação que produz**. São Paulo, 2010, p. 1-1. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21209&secao=Colunas e Artigos>>. Acesso em: 25 maio 2018.

MOMMER, Liesje; KIRKEGAARD, John; VAN RUIJVEN, Jasper. Interações raiz-raiz: em direção a uma estrutura da rizosfera. **Trends in Plant Science** , v. 21, n. 3, p. 209-217, 2016.

MONTADON, T. S.; CAMELLO, T. C. F.; ALMEIDA, J. R. Indicadores de sustentabilidade para monitoramento de projetos de recuperação de áreas degradadas. *Revista SUSTINERE*, v. 3, n.1, p. 43-52, 2015.

- MOORMAN, Thomas B. Pesticide Degradation by Soil Microorganisms: Environmental, Ecological, and Management Effects. In: **Soil Biology**. CRC Press, 2018. p. 121-153.
- NADEEM S.M., AHMAD M., ZAHIR A., JAVAID A. Y ASHRAF M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol.* V.32. n.2 ,p. 429-448, 2014.
- NELSON, L. M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants. **Crop Management**, v. 3, n. 1, p. 0-0, 2004
- NOVAIS, R. S.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H., BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. Fertilidade do Solo. Viçosa: SBCS, cap. 8, pag. 471-537, 2007.
- OLIVEIRA, José Gerardo Beserra; SALES, Marta Celina Linhares. Monitoramento da desertificação em Irauçuba. **Imprensa Universitária**, 2015.
- OLIVEIRA FILHO, José de Souza et al. Assessing the effects of 17 years of grazing exclusion in degraded semi-arid soils: Evaluation of soil fertility, nutrients pools and stoichiometry. **Journal Of Arid Environments**, [s.l.], v. 166, p.1-10, jul. 2019. Elsevier BV.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant–rhizobacteria interactions. **Plant, Cell; Environment**, v. 26, n. 2, p. 189-199, 2003.
- PIMENTEL, C. Feridas no Semiárido. Os dramas da Desertificação. **Revista Pública**, n. 71, p. 22-28, 2013.
- PREZOTTI, Luiz Carlos; GUARÇONI, A. M. **Guia de interpretações de análise de solo e foliar**. 2013.
- RAIESI, Fayez. A minimum data set and soil quality index to quantify the effect of land use conversion on soil quality and degradation in native rangelands of upland arid and semiarid regions. **Ecological Indicators**, v. 75, p. 307-320, 2017.
- RASHID, M. I., MUJAWAR, L. H., SHAHZAD, T., ALMEELBI, T., Ismail, I. M.,; Oves, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological Research**, v. 183, p. 26-41, 2016.
- RICHARDSON, Alan E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Functional Plant Biology**, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2001.
- SÁ, M. C. A. GOUVEIA, I. V.; KREWER, C. C.; VESCHI, J. L. A.; MATTOS-GUARALDI, A. L.; COSTA, M. M. Distribution of PLD and FagA, B, C and D genes in *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats with caseus lymphadenitis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 2, p. 265 – 268, 2013.
- SALCEDO, Ignacio Hernán. Biogeoquímica do fósforo em solos da região Semi-árida do NE do Brasil. **Revista Geografia**, v. 23, n. 3, p. 159-184, 2006.
- SAN, A. M; MACLEAN, R. C. Fitness Costs of Plasmids: a Limit to Plasmid Transmission. **Microbiology spectrum**, v. 5, n. 5, 2017.
- SANTOS, Edinalva Alves Vital dos. **Desenvolvimento de métodos de nucleação com mix de plantas xerófilas para recuperação de áreas em processo de desertificação**. Trabalho de Conclusão de Curso. 2018.
- SANTOS, M. C. (Pernambuco). Conselho Regional de Engenharia e Agronomia -pe (Org.). **Cadernos do semiárido: Solos do semiárido do Brasil**. 10. ed. Pernambuco: Mário

Oliveira Antonio, p. 60, 2017.

SARATHAMBAL, C. et al. Characterization and crop production efficiency of diazotrophic isolates from the rhizosphere of semi-arid tropical grasses of India. **Applied Soil Ecology**, v. 87, p. 1-10, 2015.

SCHULTE, E. E.; HOPKINS, B. G. **Estimation of Organic Matter by Weight Loss-on-Ignition**. In: Magdoff, F.R., et al., Eds., Soil Organic Matter: Analysis and Interpretation, SSSA Special Publication Number 46, Madison, p. 21-31, 1996.

SCHWYN, B. AND NEILANDS, J. B.. **Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores**, Analytical Biochem. n.160, p.47-56,1987.

SHARIFI, Rouhallah; RYU, Choong-Min. Revisiting bacterial volatile-mediated plant growth promotion: lessons from the past and objectives for the future. **Annals of botany**, v. 122, n. 3, p. 349-358, 2018.

SHRIVASTAVA, Pooja; KUMAR, Rajesh. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi journal of biological sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SINGH, Jay Shankar. Microbes: the chief ecological engineers in reinstating equilibrium in degraded ecosystems. **Agriculture, ecosystems; environment**, v. 203, p. 80-82, 2015.

SINGH, Rajnish Prakash; NALWAYA, Shrayansh; JHA, Prabhat Nath. The draft genome sequence of the plant growth promoting rhizospheric bacterium *Enterobacter cloacae* SBP-8. **Genomics data**, v. 12, p. 81-83, 2017.

SINGH, Rajnish Prakash et al. Quantitative proteomics analysis reveals the tolerance of wheat to salt stress in response to *Enterobacter cloacae* SBP-8. **PloS one**, v. 12, n. 9, p. e0183513, 2017.

SINGH, Rajnish Prakash; JHA, Prameela; JHA, Prabhat Nath. Bio-inoculation of plant growth-promoting rhizobacterium *Enterobacter cloacae* ZNP-3 increased resistance against salt and temperature stresses in wheat plant (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 3, p. 783-798, 2017

SMALLA, K.; WIELAND, G.; BUCHNER, A.; ZOCK, A.; PARZY, J.; ET AL. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. **Applied Environmental Microbiology**. v. 67, p. 4742-51, 2001.

SOUSA, FrancÉlio Pereira de. **Degradação de solos por atividades agropastoris em áreas sob processo de desertificação: o caso de irauçuba, ceará**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

SOUTO, P.C. et al. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semi-árido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 151-160, 2008.

SPEROTTO, Raul Antonio (Org.). **Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia agroalimentar e de saúde humana**. Lajeado: Univates, p.329, 2014.

Disponível em: https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/74/pdf_74.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2018.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. *Acta Agriculturae Scandinavia*, Estocolmo, v. 49, p. 1-24, 1999.

SYLVESTER-BRADLEY R., ASAKAWA N., LA TORRACA S., MAGALHÃES F.M.M.,

OLIVEIRA L., PEREIRA R.M.: **Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia.** *Acta Amazon*, n.12, p.15–22, 1982.

SHARMA, Anket et al. Potential of endophytic bacteria in heavy metal and pesticide detoxification. In: **Plant Microbiome: Stress Response.** Springer, Singapore, p. 307-336, 2018.

TEELING, H.; GLÖCKNER, F. O.. Current opportunities and challenges in microbial metagenome analysis—a bioinformatic perspective. **Briefings in bioinformatics**, v. 13, n. 6, p. 728-742, 2012.

TRIPURA CB, SASHIDHAR B, PODILE AR (2005). Transgenic mineral phosphate solubilizing bacteria for improved agricultural productivity. In *Microbial Diversity Current Perspectives and Potential Applications* ed. Satyanarayana, T. and Johri, B.N. New Delhi, India: I. K. International Pvt. Ltd. p. 375-392

UTOBO, E. B.; TEWARI, L. Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status. **Applied ecology and environmental research**, v. 13, n. 1, p. 147-169, 2015.

VERMA, Preeti; AGRAWAL, Nikki; SHAHI, Sushil Kumar. Effect of rhizobacterial strain enterobacter cloacae strain pglo9 on potato plant growth and yield. **Plant Archives**, v. 18, n. 2, p. 2528-2532, 2018.

VITORINO, Luciana Cristina et al. Solubilization of calcium and iron phosphate and in vitro production of indoleacetic acid by endophytic isolates of *Hyptis marruboides* Epling (Lamiaceae). **International Research Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 47-54, 2012.

WARING, B. G.; HAWKES, C.V. Short-term precipitation exclusion alters microbial responses to soil moisture in a wet tropical forest. **Microbial ecology**, v. 69, n. 4, p. 843-854, 2015.

WAWRIK, B. KERKHOF, L.; ZYLSTRA, G. J.; KUKOR, J. J. Identification of unique type II polyketide synthase genes in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 2232 – 2238, 2005.

WEISBURG, G.T.; BARNS, S.M.; PELLETIER, D. A.; LANE, D. J. Amplificação do DNA ribossômico 16S para estudo filogenético. **J. Bacteriol.** vol. 173, n. 2, p. 697 – 703. 1991.

WU, Gao-Lin et al. Root channels to indicate the increase in soil matrix water infiltration capacity of arid reclaimed mine soils. **Journal of hydrology**, v. 546, p. 133-139, 2017.

YADAV, Hemendra et al. Enhancement of applicability of rock phosphate in alkaline soils by organic compost. **Applied Soil Ecology**, v. 113, p. 80-85, 2017.

ZHANG, Y.-G. et al. Comparative rates of wind versus water erosion from a small semiarid watershed in southern Arizona, USA. **Aeolian Research**, v. 3, n. 2, p. 197-204, 2011.

ZHANG, J. Y. et al. The challenge and future of rocky desertification control in karst areas in southwest China. **Solid Earth**, v. 7, n. 1, p. 83-91, 2016.

ZORNOZA, R., ACOSTA, J. A., BASTIDA, F., DOMÍNGUEZ, S. G., TOLEDO, D. M.,; FAZ, A. Identification of sensitive indicators to assess the interrelationship between soil quality, management practices and human health. **Soil**, v. 1, n. 1, p. 173-185, 2015.