

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

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

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

**NITROGÊNIO FIXADO EM CULTIVO DE MELÃO SOB ADUBAÇÃO  
VERDE NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO, BAHIA**

**REGINALDO ALVES FERREIRA NETO**

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

**Co-orientadora:** Dra. Vanderlise Giongo

Recife, PE

Agosto, 2013

**REGINALDO ALVES FERREIRA NETO**

**NITROGÊNIO FIXADO EM CULTIVO DE MELÃO SOB ADUBAÇÃO  
VERDE NO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO, BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

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

**Co-orientadora:** Dra. Vanderlise Giongo

Recife, PE  
Agosto, 2013

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

F383n

Ferreira Neto, Reginaldo Alves.

Nitrogênio fixado em cultivo de melão sob adubação verde  
no município de Juazeiro, Bahia. / Reginaldo Alves Ferreira  
Neto. - Recife: O Autor, 2013.

41 folhas, tabs.

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

Co-orientadora: Dra. Vanderlise Giongo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de  
Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2013.

Inclui Referências.

1. *Cucumis melo*.
2. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$ .

NITROGÊNIO FIXADO EM CULTIVO DE MELÃO SOB ADUBAÇÃO VERDE NO  
MUNICÍPIO DE JUAZEIRO, BAHIA

Reginaldo Alves Ferreira Neto

ORIENTADORA: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

CO-ORIENTADORS: Dra. Vanderlise Giongo

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – DEPA/UFRPE (titular externo ao PROTEN)

---

Dr. Dário Costa Primo – DEN/UFPE (titular externo ao PROTEN)

---

Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio – DEN/UFPE (titular interno ao PROTEN)

---

Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes – DEN/UFPE (suplente interno ao PROTEN)

---

Dr. Newton Pereira Stamford – UFRPE (suplente externo ao PROTEN)

## **AGRADECIMENTOS**

Sou grato a Deus, por tudo que tem feito em minha vida, por me conceder saúde, força e sabedoria para lidar com as dificuldades encontradas na realização desta Dissertação.

Aos meus pais Elsa e Reginaldo, pelo amor, incentivo e dedicação para comigo. Devo tudo o que sou a eles, aos seus ensinamentos e esforço para que eu tivesse a melhor educação e assim pudesse conquistar os objetivos almejados.

Ao meu irmão Johnnatan, por estar sempre ao meu lado, me ajudando em todos os momentos, sendo o melhor irmão que eu poderia ter.

A Dita e Ester, pelo carinho e afeto, demonstrando que para ser da família não precisa ter laços sanguíneos.

A minha namorada, Iolanda Ramalho da Silva, pelo amor, carinho, compreensão e paciência que tem comigo. Sem dúvida tive muita sorte em encontrar uma pessoa tão especial para dividir mais esta conquista.

À minha orientadora Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas, por sua dedicação, compreensão e confiança. Sou grato pela atenção e ajuda, essenciais para realização deste trabalho.

À Dra. Vanderlise Giongo, por sua co-orientação e confiança. Também agradeço a Embrapa Semiárido por toda ajuda na realização dos experimentos e coletas.

Ao Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes, por sua confiança e importante colaboração durante a execução deste trabalho.

Ao Dr. Gladstone Alves da Silva pela imensa ajuda e confiança desde a graduação e sugestões importantes durante o mestrado.

À coordenação do REPENSA melão e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela ajuda financeira e concessão da bolsa de estudo.

A Mônica Santana, Wesley Gomes, Tarcísio Rocha, Sheila Brandão e Francisco Costa pela imensa ajuda nas coletas e atenção em repassar informações importantes sobre os experimentos de campo.

À Frederico Marinho, Juliana Souza e Vera Lúcia, pela amizade, desde os tempos da graduação, que é tão importante para mim.

À Danielle Magna, Monalisa Costa, Bárbara Laine, Fernando Cunha, Eric Xavier, Edvaneide Leandro, Juliana Aparecida, Kelly Nascimento, Laís Lima, Larissa Vieira, Thaís Tiane, Moacir Paulo e Patryk Melo pela amizade e incentivo.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos, Dr. Everardo Valadares de Sá Barretto Sampaio, Dr. Dário Costa Primo, Dr. Newton Pereira Stamford e Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes, pelas valiosas correções e sugestões.

Aos colegas dos Laboratórios de Fertilidade dos Solos e Microbiologia do Solo, Kennedy de Jesus, Júlio Martins, Emmanuel Dutra, Nilson Medeiros, Tiago Diniz, Gilberto, Claudenice, Karina Corrêia, André Carvalho, Edilândia Dantas, Diego Nascimento e Augusto César por ter me recebido com carinho, pela companhia, momentos de descontração e pela imensa ajuda desde a minha chegada ao laboratório.

À todos os professores e colegas do Laboratório de Micorrizas, pelo apoio nas atividades desenvolvidas neste laboratório.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O uso de leguminosas fixadoras como adubos verdes é uma tecnologia que pode propiciar a substituição ou a complementação da adubação mineral, além de representar uma fonte de matéria orgânica e proporcionar uma proteção física ao solo, garantindo uma maior sustentabilidade dos sistemas agrícolas. No semiárido brasileiro, as áreas convertidas à agricultura perdem carbono e nutrientes com velocidade muito maior que as encontradas em outras regiões, sendo a adubação verde uma alternativa tecnológica para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados e aumentar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. O objetivo desse trabalho foi estimar as quantidades de biomassa e de nitrogênio aportadas por coquetéis de plantas utilizadas como adubos verdes e os efeitos desses coquetéis sobre a produtividade do melão irrigado, cultivado na Região do Vale do São Francisco. O estudo foi conduzido em campo, na Estação Experimental Mandacaru da Embrapa Semiárido, localizada no município de Juazeiro, Bahia (09°24'S; 40°26'O; 375,5 m). Foram testados três sistemas de adubos verdes (2 coquetéis de espécies e vegetação espontânea) e dois sistemas de preparo do solo (com e sem revolvimento para incorporação dos adubos verdes) previamente ao cultivo do melão amarelo (*Cucumis melo* L.), variedade F1-1000. As espécies incluídas nos coquetéis foram: gramíneas, milho (*Zea mays* L.), milheto (*Pennisetum glaucum* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) R. Br.), leguminosas, feijão de porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC), feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) e crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth) e oleaginosa, girassol (*Helianthus annuus* L), em diferentes proporções. Como sistemas de preparo foram utilizadas duas condições, com incorporação dos adubos verdes (revolvimento do solo com aração e gradagem) e sem incorporação. As plantas dos coquetéis vegetais foram manejadas após atingir o seu estágio de pleno florescimento, 70 dias após o plantio (DAP), segundo os tratamentos. No tratamento sem revolvimento, as plantas foram cortadas e os resíduos permaneceram na superfície do solo. No tratamento com revolvimento, as plantas foram incorporadas ao solo e posteriormente foi feito o cultivo do melão. Antes do corte ou incorporação, foram determinadas as biomassas produzidas por cada espécie dos coquetéis vegetais e das plantas espontâneas. Nessas biomassas foram determinados os teores de N total (%), C total (%),  $^{15}\text{N}$  (‰) e  $^{13}\text{C}$  (‰). A fixação biológica do nitrogênio foi estimada utilizando a metodologia da abundância natural de  $^{15}\text{N}$ . As quantidades de N acumulado e de C e N fixados foram calculadas pelo produto dos teores desses elementos pelas respectivas biomassas. Por ocasião da colheita do melão, foram estimados a biomassa aérea, o número,

produtividade e peso médio dos frutos. Não houve diferença significativa na produção de biomassa, N total acumulado e C fixado pelas plantas dos coquetéis verdes utilizados, porém a biomassa produzida pelos adubos verdes foram três vezes maiores do que a registrada na vegetação espontânea. Como esperado, todas leguminosas fixaram N com  $\delta^{15}\text{N}$  variando entre 1,38 ‰ (feijão-caupi) e 3,25 ‰ (feijão de porco). Além das leguminosas, as gramíneas também apresentaram baixos teores de  $^{15}\text{N}$ , indicando que essas plantas podem estar obtendo N através de FBN. O sorgo apresentou o menor  $\delta^{15}\text{N}$  (0,34 ‰), entre todas as plantas dos coquetéis, e os maiores valores de %N<sub>dda</sub> registrados, sendo de 71,85‰ no coquetel 1 e 92,34‰ no coquetel 2. A adição de C e N oriundos dos adubos verdes não influenciou a produtividade e o número de frutos do melão.

**Palavras-chave:** *Cucumis melo*, abundância natural do  $^{15}\text{N}$ , leguminosas, gramíneas, fixação biológica de nitrogênio



## ABSTRACT

The use of N-fixing legumes as green manure is a technology that can provide the replacement or supplementation of mineral fertilizer. Green manure may also function a source of organic matter and provide physical protection to the soil, ensuring the sustainability of agricultural systems. In the Brazilian semiarid region, areas converted to agriculture lose carbon and nutrients at rates higher than those found in other regions, and the use of green manure becomes a technological alternative to reduce the use of nitrogen fertilizers and increase the sustainability of the system. The aim of this research was to estimate the amounts of biomass and nitrogen cocktails provided by plants used as green manure and the effects of these cocktails on the productivity of irrigated melon grown in the region of mid São Francisco valley. The study was conducted under field conditions at the Mandacaru Experimental Station of Embrapa Semiarid located in Juazeiro, Bahia (09 ° 24'S, 40 ° 26'O; 375.5 m). Three different systems of green manure (2 cocktails of species and natural vegetation) and two tillage systems (with and without tillage for incorporation of green manure) prior to cultivation of yellow melon (*Cucumis melo* L.), variety-F1 1000, were tested using a randomized complete block design with three replications. The species which contemplated the cocktails included both legume and non-legume species: maize (*Zea mays* L.), millet (*Pennisetum glaucum* L.) sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) R. Br), bean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC), cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (*Crotalaria spectabilis* Roth) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) in different proportions. Two tillage systems were used: 1) plowing and harrowing, and 2) no tillage. The plants in the green manure treatments were managed until full flowering stage, 70 days after planting (DAP). In the treatment without plowing the plants were cut off and the residue remained on the surface of the soil. In the treatments with plowing, the plants were incorporated into the soil and was subsequently the melon was cultivated. The biomass produced by each species of the vegetable cocktails was determined. Soil total N, total C,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  and C / N ratio was determined in the plant samples. Biological nitrogen fixation was estimated using the methodology of  $^{15}\text{N}$  natural abundance. The amounts of N and C and N fixed were calculated by the product of the biomass and nutrient concentration. At harvest melon, were determined biomass, number, productivity and average fruit weight. There were no significant differences in biomass production, total accumulated N and C fixed by plants between the green cocktails used, but the biomass produced by green manures were 3 times higher than the spontaneous vegetation.

As expected, all legumes fixed N, and  $\delta^{15}\text{N}$  values varied between 1.38 (cowpea) and 3.25 (jack bean). In addition to legumes, grasses also showed low levels of  $^{15}\text{N}$ , indicating that these plants may be fixing atmospheric  $\text{N}_2$ . Sorghum presented the lowest  $\delta^{15}\text{N}$  (0.34) among all the plants of the cocktails and the largest values (%) N<sub>dfa</sub> registered, being 71.85 and 92.34 in 1 cocktail in cocktail 2. The addition of C and N derived from green manures did not significantly influence the productivity and number of melon fruits.

**Keywords:** *Cucumis melo*,  $^{15}\text{N}$  abundance natural, leguminous, grasses, biological nitrogen fixation

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

|                      |                                                                                                          |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A                    | Número de massa atômica                                                                                  |
| Al                   | Alumínio                                                                                                 |
| ATP                  | Adenosina Trifosfato                                                                                     |
| B                    | Valor de $\delta^{15}\text{N}$ para plantas fixadoras cultivadas na ausência de $\text{N}_2$ atmosférico |
| C                    | Carbono                                                                                                  |
| $^{13}\text{C}$      | Carbono com número de massa atômica 13                                                                   |
| Ca                   | Cálcio                                                                                                   |
| CE                   | Condutividade elétrica                                                                                   |
| $\text{cmol}_c$      | Centimol de carga                                                                                        |
| CTC                  | Capacidade de troca de cátions                                                                           |
| Cu                   | Cobre                                                                                                    |
| $\text{CuCO}_3$      | Carbonato de cobre                                                                                       |
| CV                   | Coeficiente de Variância                                                                                 |
| DAP                  | Diâmetro à Altura do Peito                                                                               |
| $\text{dm}^{-3}$     | Decímetro cúbico                                                                                         |
| EMBRAPA              | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária                                                              |
| ETo                  | Evapotranspiração                                                                                        |
| FAO                  | Food and Agriculture Organization                                                                        |
| FBN                  | Fixação biológica de Nitrogênio                                                                          |
| Fe                   | Ferro                                                                                                    |
| FMA                  | Fungos Micorrízicos Arbusculares                                                                         |
| G                    | Grama                                                                                                    |
| H                    | Hidrogênio                                                                                               |
| Ha                   | Hectare                                                                                                  |
| IBGE                 | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística                                                          |
| K                    | Potássio                                                                                                 |
| Kc                   | Coeficiente de Cultura                                                                                   |
| Kg                   | Quilograma                                                                                               |
| $\text{K}_2\text{O}$ | Óxido de Potássio                                                                                        |
| M                    | Metro                                                                                                    |

|                               |                                           |
|-------------------------------|-------------------------------------------|
| MAP                           | Monoamônio fosfato                        |
| Mg                            | Magnésio                                  |
| mg                            | Miligrama                                 |
| mmol <sub>c</sub>             | Milimol de Carga                          |
| Mn                            | Manganês                                  |
| MO                            | Matéria Orgânica                          |
| N                             | Nitrogênio                                |
| <sup>14</sup> N               | Nitrogênio com número de massa atômica 14 |
| <sup>15</sup> N               | Nitrogênio com número de massa atômica 15 |
| N <sub>2</sub>                | Nitrogênio (Gás)                          |
| Na                            | Sódio                                     |
| Ndda                          | Nitrogênio derivado do ar                 |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>  | Íon Amônio                                |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | Íon Nitrato                               |
| P                             | Fósforo                                   |
| pH                            | Potencial Hidrogeniônico                  |
| Prof.                         | Profundidade                              |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | Pentóxido de fósforo                      |
| S                             | Soma de bases trocáveis                   |
| t                             | Tonelada                                  |
| V                             | Saturação por Bases                       |
| Zn                            | Zinco                                     |
| WARDA                         | Africa Rice Center                        |
| °C                            | Graus Celsius                             |
| δ                             | Desvio por mil                            |
| %                             | Porcentagem                               |
| ‰                             | Por mil                                   |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Atributos químicos do solo antes do plantio dos adubos verdes.....                                                                                                                                                                                      | 23 |
| Tabela 2 - Atributos físicos do solo antes do plantio dos adubos verdes.....                                                                                                                                                                                       | 23 |
| Tabela 3 – Teores de N total (%), C total (%) e $^{13}\text{C}$ (‰) e relação C/N de espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré-plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.....                                                      | 28 |
| Tabela 4 – Sinais de $^{15}\text{N}$ (‰) em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.....                                                                                               | 29 |
| Tabela 5 – Produção de biomassa ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), N total acumulado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) e C fixado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro (BA)..... | 30 |
| Tabela 6 – Nitrogênio derivado da atmosfera (%) e N fixado ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré-plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.....                                                     | 32 |
| Tabela 7: Biomassa seca de ramos e folhas e produtividade, número e peso médio dos frutos de melão irrigado cultivado após o cultivo de coquetéis vegetais, com e sem incorporação, no município de Juazeiro, BA.....                                              | 33 |

## SUMÁRIO

|          |                                      |           |
|----------|--------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>               | <b>14</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>    | <b>15</b> |
| 2.1      | Melão .....                          | 15        |
| 2.2      | Fixação biológica de nitrogênio..... | 16        |
| 2.3      | Adubação verde.....                  | 17        |
| 2.4      | Quantificação da FBN.....            | 20        |
| <b>3</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>      | <b>22</b> |
| 3.1      | Área de estudo .....                 | 22        |
| 3.2      | Delineamento experimental.....       | 24        |
| 3.3      | Coletas e amostragem.....            | 25        |
| 3.3      | Estimativas de FBN.....              | 26        |
| 3.3      | Análises estatísticas.....           | 26        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>   | <b>27</b> |
| <b>5</b> | <b>CONCLUSÕES.....</b>               | <b>34</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS .....</b>             | <b>35</b> |

## INTRODUÇÃO

A adubação verde, que consiste na adição de material vegetal ao solo, é uma ferramenta utilizada para adicionar, entre outros nutrientes, C e N, aumentando a disponibilidade de nutrientes e contribuindo para maior produtividade vegetal (FARIA et al., 2004). Pode ser realizada com plantas consorciadas com outras culturas, com partes vegetais incorporadas ao solo e até mesmo com a utilização de coquetéis verdes.

Entre as plantas que são utilizadas como adubos verdes, destacam-se as leguminosas (Fabaceae), já que elas podem adquirir nitrogênio da atmosfera formando simbiose com bactérias genericamente denominadas de rizóbios. Estas bactérias formam nódulos nas raízes e, em alguns casos, no caule dos vegetais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). O uso de leguminosas fixadoras como adubos verdes é uma tecnologia que pode propiciar a substituição ou a complementação da adubação mineral, além de representar uma fonte de matéria orgânica e proporcionar proteção física ao solo, favorecendo a sustentabilidade dos sistemas.

O melão é o oitavo fruto em volume de produção mundial e, também, está na lista dos dez principais frutos mais exportados. No Brasil, o melão é, dentre os frutos tropicais de maior interesse comercial, o que tem demonstrado expansão mais significativa nas duas últimas décadas, principalmente na Região Nordeste do Brasil. No Submédio São Francisco, terceiro grande polo de cultivo do meloeiro no país, o cultivo do melão é praticado majoritariamente por pequenos produtores assentados, tanto nas áreas de colonização dos perímetros irrigados quanto em pequenas propriedades nas margens do Rio São Francisco ou de seus afluentes (ARAÚJO et al., 2008).

O uso de adubos verdes na cultura do melão pode ser uma alternativa para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados que são insumos que oneram a produção, principalmente no semiárido brasileiro, onde as áreas convertidas à agricultura perdem carbono e nutrientes com velocidade muito maior que as encontradas em outras regiões (TIESEN et al., 1992). O objetivo desse trabalho foi estimar as quantidades de biomassa e de nitrogênio aportadas por coquetéis de plantas utilizadas como adubos verdes e os efeitos desses coquetéis sobre a produtividade de melão irrigado.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Melão

O melão, *Cucumis melo* L., pertence à família Cucurbitaceae, apresenta folhas simples, alternas, pentalobadas, flores amarelo-claro e, dependendo das condições ambientais e da variedade, florescimento entre 35 e 60 dias após o plantio. É uma planta herbácea, anual, rasteira, porém apresenta gavinhas e pode estar suspensa em outros vegetais. É amplamente cultivado em países das regiões mais quentes do mundo (PARIS et al., 2012). Seu fruto é muito apreciado por ser doce e refrescante, sendo utilizado *in natura*, na forma de suco, sobremesas e outros modos.

O cultivo prospera em locais férteis, bem drenados, quentes e luminosos, com solos de pH variando entre 6 - 7,5 e textura média. Salinidade, solos ácidos e muito úmidos não são propícios a este plantio (COSTA et al., 2000; PARIS et al., 2012). A disponibilidade hídrica é outro fator importante para produção de melão, pois em excesso pode provocar má qualidade do fruto, enquanto que situações de estresse hídrico podem acarretar diminuição da produção (ZENG et al 2009).

A temperatura ideal para a germinação das sementes varia em torno de 25-35°C e temperaturas entre 25-30°C favorecem seu desenvolvimento. Geralmente são andromonóicas, porém em alguns casos podem ser monóicas. A andromonoicia é caracterizada pela presença de flores com estames, como também flores hermafroditas (COSTA et al., 2000).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de melão (FAO 2010), sendo a região Nordeste responsável por 92% da produção nacional, que equivale a 456686 t. O estado com a maior produção de melão no Nordeste é o Rio Grande do Norte (242303 t), seguido de Ceará (153161 t), Bahia (36191 t) e Pernambuco com 15039 t (IBGE, 2010). A região do submédio São Francisco engloba áreas dos estados da Bahia e Pernambuco, sendo o terceiro maior polo do cultivo de melão do país. A prática deste cultivo é desenvolvida desde 1965 nesta região (BRAGA et al., 2009), e é em sua maioria realizada em pequenas propriedades em áreas com perímetro de irrigação, ou em terras as margens do rio São Francisco e afluentes. O submédio São Francisco apresenta características que favorecem o desenvolvimento do meloeiro, que devido o seu ciclo curto (60 dias), é de muito interesse para propriedades rurais pequenas (ARAÚJO et al., 2008; BRAGA et al., 2009).



## 2.2 Fixação biológica do nitrogênio

A quantidade de N disponível no solo corresponde a apenas 5% da quantidade total de N do solo. O restante está em combinações orgânicas não aproveitáveis diretamente pelos vegetais. A nutrição nitrogenada das plantas fica, então, na dependência da transformação do N orgânico para formas minerais disponíveis resultantes da mineralização realizada pelos micro-organismos (MELLO et al., 1989). Por isso, novas alternativas têm sido estudadas para aumentar a disponibilidade deste elemento no solo.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para as culturas vegetais já que está presente em proteínas, ácidos nucleicos, hormônios, assim como em vários outros constituintes celulares (SOUZA; FERNANDES, 2006). Este elemento está distribuído no solo de várias formas, mas os vegetais absorvem o N na forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ou amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (WILLIAMS; MILLER, 2001).

Ao longo de sua evolução biológica algumas plantas desenvolveram adaptações para ter acesso ao N de outra fonte além do solo, formando associações com micro-organismos capazes de transformar o  $\text{N}_2$  atmosférico em  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  (BOTTOMLEY; MYROLD, 2007). Adicionalmente, alguns micro-organismos do solo são capazes de regular processos importantes para a transformação do N em formas utilizáveis pelas plantas (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007).

Os organismos que compõem a microbiota capaz de fixar nitrogênio estão distribuídos nos reinos Archaea e Eubacteria e possuem o complexo de enzimas nitrogenase que hidrolisa as moléculas de ATP para realizar a redução do  $\text{N}_2$  atmosférico. Dentre estes micro-organismos, os “rizóbios” são bactérias que formam simbiose com plantas leguminosas, colonizando as raízes do hospedeiro e formando nódulos e, em alguns casos, colonizando o caule dos vegetais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; BOTTOMLEY; MYROLD, 2007). A fixação biológica do nitrogênio (FBN) em leguminosas é um processo muito importante de entrada de N em ecossistemas naturais (FREITAS et al., 2010) e possui papel importante na agricultura por fixar N atmosférico (FREITAS et al. 2007; CARDOSO et al. 2007).

Além das leguminosas, algumas espécies de gramíneas têm demonstrado potencial de FBN. O trabalho realizado por Döbereiner e Ruschel (1958) foi pioneiro em pesquisas nessa área, no qual a bactéria fixadora de N *Beijerinckia fluminensis* foi isolada a partir da rizosfera de cana-de-açúcar. Desde então, várias bactérias fixadoras foram descobertas em associação com plantas da família Poaceae, principalmente em cana-de-açúcar, como também em milho,

arroz e sorgo (BALDANI et al. 1997; REIS et al, 2006 ). Recentemente sabe-se que a FBN em cana-de-açúcar proporciona economia potencial de 200 milhões de reais por ano, sendo responsável por 65% do N acumulado pela cultura (REIS et al, 2006).

## 2.3 Adubação verde

A adubação verde é uma ferramenta utilizada para adicionar, entre outros nutrientes, N ao solo e esse processo consiste na aplicação de material vegetal ao solo para que outras culturas possam utilizar o nitrogênio como fonte nutricional. Entre as plantas que são utilizadas como adubos verdes, destacam-se as leguminosas (Fabaceae) já que estas podem adquirir nitrogênio da atmosfera por serem capazes de formar simbiose com bactérias do grupo dos rizóbios.

A utilização de leguminosas como adubos verdes tem como benefício à substituição ou complementação da adubação mineral, assim como também proteção do solo e contra a erosão e evita a propagação de ervas daninhas (AMBROSANO et al., 2005). Além disso, quando incorporadas ao solo como adubos verdes, as leguminosas são importantes para a recuperação das características químicas, físicas e biológicas do solo (NASCIMENTO et al., 2005).

Ramos et al. (2010) realizaram um experimento em uma área cultivada há 30 anos com amendoeira (*Prunus dulcis* (Miller) cv Verdiere) em uma região semiárida da Espanha, no qual duas plantas de coberturas foram utilizadas: aveia (*Avena sativa* L.) e (*Vicia sativa* L), uma gramínea e uma leguminosa, respectivamente. Os tratamentos consistiam em áreas com apenas aveia e aveia + vicia, sendo estes subdivididos em três épocas de colheita (pastagem, feno, grãos e palhas), com a utilização de adubação orgânica e mineral. Os autores relataram que as coberturas vegetais favoreceram a qualidade do solo, pois contribuíram para que ocorresse aumento na matéria orgânica e melhoria das características físicas e químicas do solo.

As leguminosas usadas na adubação verde apresentam a capacidade de fixar o nitrogênio que está disponível na atmosfera na forma de N<sub>2</sub>, representando uma fonte de entrada deste nutriente no solo. Esses vegetais são utilizados como adubos verdes por serem uma fonte de material orgânico e fornecerem benefícios significativos para o solo e para as culturas (COBO et al., 2002).

Menezes e Salcedo (2007) realizaram um trabalho para avaliar a dinâmica de mineralização do N em um Neossolo Regolítico cultivado com milho, após incorporar esterco bovino e gliricídia em condições de campo e laboratório. No campo, três tratamentos foram estabelecidos: incorporação de esterco ( $20 \text{ t ha}^{-1}$ ), ramos de gliricídia ( $15 \text{ t ha}^{-1}$ ) e testemunha (sem adições). Verificaram que 120 dias após o plantio,  $74 \text{ kg ha}^{-1}$  de N foram mineralizados, porém não houve diferença entre os tratamentos. Constatou-se que houve mineralização líquida em todos os períodos de incubação, porém grande parte do N foi mineralizado 30 dias após a implementação do experimento, variando entre  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  (tratamento com esterco) e  $32,9 \text{ kg ha}^{-1}$  (tratamentos com gliricídia). Em laboratório, após 56 dias, a gliricídia proporcionou a mineralização do N ( $260 \text{ kg ha}^{-1}$ ), enquanto que o esterco teve efeito contrário,  $26 \text{ kg ha}^{-1}$  de N foram imobilizados.

Os efeitos do cultivo isolado ou em consórcio de adubos verdes sobre a produção de fitomassa, acumulação de nutrientes e N fixado, foram relatados por Perín et al. (2004). Experimentos de campo foram realizados com quatro tratamentos de adubos verdes: crotalária, milheto, crotalária + milheto e vegetação espontânea. Após 68 dias de plantio, a crotalária apresentou fitomassa maior ( $9,34 \text{ t ha}^{-1}$ ) que os demais tratamentos, porém só foi significativamente maior quando comparada com a biomassa da vegetação espontânea ( $4,49 \text{ t ha}^{-1}$ ). Também ocorreu maior acúmulo de N com a crotalária ( $305,04 \text{ kg ha}^{-1}$ ), enquanto que o milheto apresentou  $96,79 \text{ kg ha}^{-1}$ , o plantio consorciado com crotalária e milheto somou  $218,49 \text{ kg ha}^{-1}$ , e a vegetação espontânea acumulou  $126,38 \text{ kg ha}^{-1}$  de N acumulado. A FBN contribuiu com 173, 2 e  $89,1 \text{ kg ha}^{-1}$ , correspondendo a 57% e 61% do N nas plantas no cultivo isolado da crotalária e consorciado com milheto, respectivamente.

Em experimento para avaliar a produtividade da batata sob adubação orgânica, Silva et al. (2007) utilizaram *Crotalaria juncea* L., e esterco caprino, para ver a influência a longo prazo destes adubos na cultura e nos estoques de nutrientes no solo. Em 10 anos de experimento, quatro tratamentos foram mantidos: incorporação de crotalária, esterco, crotalária + esterco e testemunha. Houve maior produtividade média de tubérculos nos tratamentos que apresentavam dois adubos orgânicos ( $15.204 \text{ kg ha}^{-1}$ ), enquanto que a menor produtividade foi registrada no tratamento testemunha ( $7.926 \text{ kg ha}^{-1}$ ). O tratamento com esterco aumentou os teores de N, P e K no solo, porém os resultados de produtividade mostraram que houve pouca influência do esterco sobre o cultivo. Já os tratamentos com crotalária aumentaram as quantidades de N do solo, mas tiveram diminuição nos níveis dos demais atributos do solo; assim, os autores sugerem que em cultivos de batata sejam

utilizados os dois adubos orgânicos em conjunto, a fim de equilibrar a disponibilidade de nutrientes no solo para maior produtividade da cultura.

Em estudos envolvendo a transferência de N por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira em Campos dos Goytacazes, RJ, Paulino et al. (2009) verificaram que houve diferença significativa da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  nas leguminosas utilizadas, quando comparada com a das plantas referências. As plantas usadas como adubo verde foram gliricídia, crotalária e feijão-guandu, que apresentaram valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de  $-0,20\text{‰} \pm 0,18$ ,  $1,5\text{‰} \pm 0,37$  e  $3,06\text{‰} \pm 0,35$ , correspondendo a 80%, 64,5% e 45% de N derivado da FBN, respectivamente. O feijão-guandu apresentou a menor produção de matéria seca e contribuiu com  $4\text{ kg ha}^{-1}$  do N aportado ao solo, a crotalária contribuiu com  $36\text{ kg ha}^{-1}$  no primeiro corte e  $60,5\text{ kg ha}^{-1}$  no segundo corte. A gliricídia apresentou o maior potencial de fixação já que dos  $56,5\text{ kg ha}^{-1}$ ,  $45,2\text{ kg ha}^{-1}$  foram derivados da FBN. De modo geral, estas espécies de leguminosas podem fixar de 44 a  $581\text{ kg ha}^{-1}$  (DAKORA; KEYA, 1997).

Em pesquisas com seis variedades de feijão-guandu, Salmi et al. (2006) relataram que, em média, a produção de fitomassa entre as variedades foi  $5,12\text{ t ha}^{-1}$  acumulando  $208\text{ kg ha}^{-1}$  de N, valores inferiores aos encontrados por Dakora & Keya (1997).

Ambrosano et al. (2010) estudaram a produção de biomassa em presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em culturas utilizadas em rotação com a cana-de-açúcar. Usaram seis espécies de vegetais para a rotação de cultura com a cana-de-açúcar: soja (*Glycine max* L. Merrill), crotalária (*Crotalaria juncea* L.), amendoim (*Arachis hypogea* L.), mucuna (*Mucuna aterrimum* Piper e Tracy), girassol (*Helianthus annuus* L.) e feijão-mungo (*Vigna radiata* L. Wilczek). Todas as leguminosas fixaram nitrogênio, porém os valores encontrados variaram de acordo com a espécie. O feijão-mungo apresentou o maior percentual de N adquirido através da FBN (89%), seguido do amendoim cultivar IAC-Caiapó com 70%, crotalária com 69%, mucuna com 62%, amendoim cultivar tatu com 38% e soja com 27%.

Freitas et al. (2011) realizaram estudos relacionados com FBN em três tipos de solos coletados na Paraíba. As leguminosas usadas nos experimentos foram jureminha (*Desmanthus pernambucanus* L. Thellung), feijão-de-rolinha (*Macroptilium lathyroides* L. Urb) e orelha-de-onça (*Macroptilium martii* Benth. Maréchal & Baudet). Verificaram que a FBN contribuiu significativamente para a nutrição nitrogenada nas três espécies nos três tipos de solos. O melhor desempenho ocorreu no feijão-de-rolinha, com média geral de N derivado da FBN de 60%, seguida da orelha-de-onça (50%) e jureminha (34%).

## 2.4 Quantificação da FBN

Considerando as vantagens da utilização da adubação verde, é muito importante avaliar e quantificar o N fixado da atmosfera, incorporado ao solo e aproveitado por outras culturas, principalmente aquelas de importância agrícola. Para tal, estudos ambientais com isótopos estáveis têm ajudado os pesquisadores nas análises de materiais biológicos e que contribuem para um melhor entendimento da ciclagem dos elementos no ambiente (PEREIRA; BENEDITO, 2007).

Isótopos são as formas do mesmo elemento que apresentam massas atômicas diferentes e possuem características químicas muito semelhantes (FREITAS et al., 2010). Os isótopos possuem o mesmo número de prótons (número atômico  $Z$ ), mas diferente número de nêutrons ( $N$ ) no núcleo atômico. Uma vez que a massa atômica ( $A$ ) é dada pela soma do número de prótons e do número de nêutrons, isótopos de um mesmo elemento têm diferentes valores de massa atômica. Os isótopos mais “leves”, ou seja, com menor massa atômica, são mais abundantes na natureza, a exemplo do  $^{14}\text{N}$  (99,34%), enquanto que os isótopos que possuem massa atômica maior são mais raros, a exemplo do  $^{15}\text{N}$  (0,37%) (MARTINELLI et al., 2009).

Os isótopos estáveis podem ser utilizados como traçadores, ora com a utilização de material enriquecido com o isótopo estável, ora com o método da abundância natural (TRIVELIN; BOARETTO, 2002). O aparelho utilizado para ionizar moléculas e separar os íons de acordo com a razão massa/carga ( $m/q$ ) é o espectrômetro de massa (“Mass Spectrometer”) que vem sendo bastante utilizado na busca de informações sobre a estrutura de compostos orgânicos, na análise de misturas orgânicas complexas, na análise elementar e na determinação da composição isotópica dos elementos (MARTINELLI et al. 2009).

O método da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  consiste na comparação entre a quantidade de  $^{15}\text{N}$  de uma planta que apresenta capacidade de obter N oriundo do  $\text{N}_2$  atmosférico, além do N disponibilizado no solo, com uma espécie não fixadora que tem como única fonte de N o solo. Nessa comparação, o valor  $B$  é incluído na fórmula do percentual de nitrogênio derivado do ar (%N<sub>dda</sub>), o qual corresponde a um fator de correção do fracionamento isotópico durante o processo de fixação do N, e representa o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  da planta fixadora cultivada dependendo exclusivamente do  $\text{N}_2$  do ar (SHEARER; KOHL, 1986; HÖGBERG, 1997).

Outra forma de avaliar a FBN é através da utilização de material enriquecido  $\delta^{15}\text{N}$ , que aumenta significativamente a diferença das concentrações de  $^{15}\text{N}$  do solo e da atmosfera.

O método da abundância natural, além de ser o mais barato, é menos perturbador ao solo já que não utiliza fertilizantes enriquecidos ou outro tipo de substrato, além de ser menos perturbador ao solo (DANSO et al. 1992).

A aplicação de isótopos estáveis, a exemplo do  $^{15}\text{N}$ , em estudos sobre a dinâmica desse componente foi estudada em diversas regiões: tropicais (SAMPAIO et al., 1984), áridas (GREEN et al. 2008), semiáridas (SAMPAIO et al., 2004), equatoriais (AWITI et al., 2008) e temperadas (HAWKINS; GEORGE 1999; FREY; SCHUEPP 1993; LEIGH et al. 2009).

Ramos et al. (2001) quantificaram a contribuição da FBN utilizando diferentes metodologias relacionadas ao  $^{15}\text{N}$ . O primeiro experimento foi realizado em solo classificado como terra roxa em Cuba, avaliando a fixação de  $\text{N}_2$  através da incorporação de sulfato de amônio enriquecido com três leguminosas: *Crotalaria juncea* L., *Mucuna aterrima* Piper & Tracy. e *Canavalia ensiformis* DC. O segundo experimento foi realizado em um solo arenoso com baixa fertilidade no Rio de Janeiro, com a metodologia da abundância natural usando a *Crotalaria juncea* L., *Mucuna niveum* e *Glicine max* L. como adubos verdes. No experimento realizado em Cuba, as leguminosas apresentaram enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  significativamente menor que as plantas referências milho (0,980 %átomos  $^{15}\text{N}$  em excesso) e sorgo (0,820 %átomos  $^{15}\text{N}$  em excesso). A crotalária apresentou 0,650 %átomos  $^{15}\text{N}$  em excesso, a mucuna 0,235 %átomos  $^{15}\text{N}$  e a canavalia 0,638. A crotalária acumulou  $195,1 \text{ kg ha}^{-1}$  de N total e  $11.1 \text{ t ha}^{-1}$  de matéria seca, os maiores valores para estes parâmetros no experimento, porém apresentou o menor percentual de FBN (27-39%). Nos experimentos feitos no Rio de Janeiro, os adubos verdes apresentaram médias de  $\delta^{15}\text{N}$  inferiores a 3 ‰, enquanto que as médias nas referências variaram entre 4,6 ‰, no sorgo, até 6.54 ‰, para o milho. Nesse experimento, as quantidades de matéria seca e N total foram significativamente menores que as dos experimentos em Cuba.

Somado e Kuehne (2006) estimaram as FBN de *Aeschynomene afraspera* (vegetal com tolerância a ambientes alagadiços), em uma área de savana no Africa Rice Center (WARDA), através da metodologia da abundância natural e também utilizando sulfato de amônio enriquecido com  $^{15}\text{N}$ , e o arroz (*Oryza sativa* L.) como planta de referência. As médias do potencial da FBN estimadas utilizando a técnica de diluição isotópica foram 20% menores que as médias obtidas através do método da abundância natural. Os autores sugeriram que os dois métodos não fornecem dados similares de fixação para a leguminosa em questão, contudo, foi verificado que o número de átomos de excesso de  $^{15}\text{N}$  e o delta  $^{15}\text{N}$  da biomassa aérea e subterrânea de *Aeschynomene afraspera* foram menores do que o encontrado na planta de referência.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido em campo, na Estação Experimental Mandacaru da Embrapa Semiárido, localizada no município de Juazeiro, Bahia (09°24'S; 40°26'O; 375,5 m). Em 2012, período em que o experimento foi estabelecido, a área apresentou média de temperatura em torno de 25 °C e precipitação acumulada de 243,3 mm (EMBRAPA, 2013). O solo da área é classificado Vertissolo Háplico Órtico salino (Embrapa 2006), anteriormente cultivado com cebola (*Allium cepa* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nos últimos três anos. Antes da instalação do experimento, amostras de solo foram coletadas da camada de 0–20 cm de profundidade e analisadas seguindo a metodologia recomendada pela EMBRAPA (1999). Os atributos físicos e químicos do solo antes do plantio dos adubos verdes são apresentados na Tabela 1. Antes do cultivo do melão, o solo foi adubado com ureia, monoamônio fosfato (MAP), nitrato de cálcio, sulfato de magnésio e cloreto de potássio.

Tabela 1: Atributos químicos do solo antes do plantio dos adubos verdes.

| Prof<br>(cm) | M.O                | pH    | C.E        | P                   | K    | Ca   | Mg  | Na   | Al | H +<br>Al              | S     | CTC   | V  | Cu  | Fe                  | Mn | Zn  | CaCO <sub>3</sub>         |                       |
|--------------|--------------------|-------|------------|---------------------|------|------|-----|------|----|------------------------|-------|-------|----|-----|---------------------|----|-----|---------------------------|-----------------------|
|              | g kg <sup>-1</sup> | 1:2,5 | Ext<br>Sat | mg dm <sup>-3</sup> |      |      |     |      |    | c mol dm <sup>-3</sup> |       |       | %  |     | mg dm <sup>-3</sup> |    |     | c mol/<br>dm <sup>3</sup> | mmolc dm <sup>3</sup> |
| 0-20         | 7,76               | 7,4   | 1,34       | 199,5               | 0,62 | 22,6 | 3,0 | 0,21 | 0  | 0,99                   | 26,43 | 27,42 | 96 | 4,5 | 128                 | 62 | 5,8 | 56,5                      | 565,0                 |

Tabela 2: Atributos físicos do solo antes do plantio dos adubos verdes.

| Profundidade | Densidade |                     | Granulometria |                    |        |
|--------------|-----------|---------------------|---------------|--------------------|--------|
| cm           | Solo      | Partículas          | Areia total   | Silte              | Argila |
|              |           | kg dm <sup>-3</sup> |               | g kg <sup>-1</sup> |        |
| 0 - 20       | 1,36      | 2,39                | 392,53        | 166,44             | 441,03 |



### 3.2. Delineamento experimental

Foram testados três sistemas de adubos verdes (2 coquetéis de espécies e vegetação espontânea) e dois sistemas de preparo do solo (com e sem revolvimento para incorporação dos adubos verdes) previamente ao cultivo do melão amarelo (*Cucumis melo* L.), cultivar F1-1000, utilizando um delineamento em blocos ao acaso, com três repetições. A área de cada parcela foi de 48m<sup>2</sup>.

As espécies que constituíram os coquetéis foram gramíneas, milho (*Zea mays* L.), milheto (*Pennisetum glaucum* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* L. R. Br.), leguminosas, feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L. DC), feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth) e oleaginosa, girassol (*Helianthus annuus* L.), em diferentes proporções. Como sistemas de preparo foram utilizadas duas condições, com incorporação dos adubos verdes (revolvimento do solo com aração e gradagem) e sem incorporação. Dessa forma, os tratamentos foram:

- T1 – coquetel 1 (25% gramíneas e oleaginosa + 75% leguminosas), sem revolvimento;
- T2 – coquetel 2 (75% gramíneas e oleaginosa + 25% leguminosas), sem revolvimento;
- T3 – vegetação espontânea, sem revolvimento;
- T4 – coquetel 1 (25% gramíneas e oleaginosa + 75% leguminosa), com revolvimento;
- T5 – coquetel 2 (75% gramíneas e oleaginosa + 25% leguminosa ), com revolvimento;
- T6 – vegetação espontânea, com revolvimento.

Em cada parcela de 6 x 8m foram semeadas 12 linhas das espécies cultivadas simultaneamente que compõem os coquetéis. O espaçamento das linhas de semeadura foi de 50 cm. Inicialmente foram semeadas as sementes de maior peso e posteriormente as de menor peso (refere-se ao peso de 100 ou 1000 sementes). Este procedimento é realizado para garantir uma distribuição uniforme das espécies. A concentração das espécies vegetais cultivadas nos tratamentos foi realizada através do peso das sementes.

As plantas dos coquetéis vegetais foram cortadas após atingir o estágio de pleno florescimento, 70 dias após o plantio (DAP), e manejadas segundo os tratamentos. No tratamento sem revolvimento as plantas foram cortadas e os resíduos permaneceram na superfície do solo. No tratamento com revolvimento, as plantas foram incorporadas ao solo e posteriormente foi feito o cultivo do melão. Dois ciclos dos tratamentos de adubação verde foram executados assim como o cultivo do melão.

Para o plantio do melão, sementeiras em bandejas de polietileno foram utilizadas, e após 12 dias de desenvolvimento da planta, foi feito o transplantio das mudas para o campo. O melão foi cultivado em fileiras, com espaçamento de 2 m entre fileiras e 0,40 m entre plantas, resultando em 4 fileiras de melão com 8 m de comprimento para cada tratamento (32 plantas por tratamento). O sistema de irrigação utilizado foi o de gotejamento, com gotejadores em espaçamentos de 0,5 m e vazão média tomada a campo. As irrigações foram realizadas três vezes por semana, sendo a lâmina calculada com base na evaporação do tanque Classe A (ET<sub>o</sub>) e no coeficiente de cultura (K<sub>c</sub>), considerando-se a eficiência do sistema de irrigação de 92%.

A adubação mineral antes do plantio foi realizada de acordo com os resultados da análise do solo. A adubação de cobertura foi realizada via fertirrigação (três vezes por semana) utilizando-se 90 kg ha<sup>-1</sup> de N, usando-se como fonte a ureia, 90 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio e 30 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> utilizando-se o MAP purificado como fonte. A aplicação dos adubos foi realizada até os 40 dias após o transplantio.

### 3.3 Coletas e amostragem

As avaliações foram feitas no segundo ciclo de cultivo dos adubos verdes e do melão. Em junho de 2012, amostras de material vegetal dos adubos verdes foram coletadas em um quadrado de 1 m<sup>2</sup>, escolhido aleatoriamente em todas as parcelas com os respectivos tratamentos no primeiro período de coleta. No local, foi obtido o peso fresco total das plantas coletadas nas parcelas, e também o peso fresco de cada espécie encontrada na parcela. Sub-amostras foram coletadas para determinação do peso seco e análises.

No período de colheita dos frutos do melão (novembro de 2012), foram coletadas amostras da biomassa aérea (ramos + folhas e frutos) deste cultivo, na fileira central de cada parcela. Sub-amostras foram coletadas para determinação do peso seco e análises.

Todo o material vegetal coletado durante a execução do estudo foi seco em estufa a 65 °C, moído, e posteriormente alíquotas desse material foram separadas para determinação dos teores de N total, C total e <sup>15</sup>N.

Nas subamostras das biomassas de cada espécie utilizada nos coquetéis vegetais, em cada parcela, foram determinados os teores de N total (%) e <sup>15</sup>N por espectrometria de massa. A abundância natural foi expressa em unidades de “delta”, que é o desvio por mil (‰) da abundância de <sup>15</sup>N da amostra em relação ao padrão, no caso o N<sub>2</sub> atmosférico:

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

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

### 3.4 Estimativa da FBN

Quando os sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas utilizadas nos coquetéis foram significativamente diferentes do sinal médio das espécies referência ( $p \leq 0,05$ ), foi estimado o percentual de nitrogênio derivado do ar (%Ndda) utilizando o método da abundância natural do  $^{15}\text{N}$  (SHEARER; KOHL, 1986):

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

onde  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}$  é o valor médio dos  $\delta^{15}\text{N}$  das plantas referência (girassol e espécies espontâneas),  $\delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}$  é o valor dos  $\delta^{15}\text{N}$  de cada espécie alvo (leguminosas e gramíneas) em cada parcela e B é o valor de  $\delta^{15}\text{N}$  para plantas fixadoras cultivadas na ausência de N. Para as leguminosas foram utilizados os seguintes valores de B, disponíveis na literatura: -1,61‰, para o feijão-caupi (NGULUU et al., 2001), -1,08 ‰, para a crotalária (UNKOVICH et al., 2008) e -1,00 ‰ para o feijão-de-porco (OJIEM et al., 2007). Para as gramíneas foi utilizado o valor de B = 0 ‰ (MORAIS et al., 2012). Também foi realizada uma simulação utilizando o valor de B = -1 ‰ para todas as espécies, para comparar os resultados de %Ndda.

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

### 3.5 Análise estatística

Para comparar as produtividades de frutos e de biomassa aérea do melão os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), considerando delineamento em blocos ao acaso com três repetições com arranjo fatorial 3 x 2 (3 coquetéis e 2 sistemas de incorporação) e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). A

ANOVA dos sinais de  $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$  foi realizada considerando os dados de cada coquetel separadamente, considerando um experimento em blocos ao acaso com seis repetições. Os valores de cada espécie foram comparados com os valores das espécies referência. Para comparar os teores de N total, os %N<sub>dda</sub> e as quantidades de N total e N fixados nas diferentes espécies dos coquetéis a ANOVA também foi realizada considerando um experimento em blocos ao acaso com seis repetições e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa Assistat 7.6 beta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os maiores teores de N total foram encontrados nas leguminosas, com destaque para o feijão-caupi e o feijão-de-porco (tabela 3). Os teores de N do girassol e das plantas espontâneas foram sempre menores que 2%, semelhantes aos das gramíneas (tabela 3).

O teor de C foi bastante similar em todas as espécies, variando entre 36,5 e 41,4%, as relações C/N das leguminosas tenderam a serem menores que nas outras espécies. Como esperado, as gramíneas, que apresentam sistema fotossintético C<sub>4</sub>, apresentaram-se enriquecidas em  $^{13}\text{C}$ , com sinal isotópico variando entre -12 e -15,5 ‰, enquanto que o sinal das leguminosas e do girassol, plantas com sistema C<sub>3</sub>, foram sempre maiores que -28 ‰.

Diferenças na composição isotópica de C nos tecidos de plantas ocorrem, principalmente, devido a diferenças nos sistemas fotossintéticos. A enzima Rubisco, envolvida na fotossíntese das plantas C<sub>3</sub>, apresenta uma menor afinidade pelo CO<sub>2</sub>, discriminando o isótopo pesado de carbono em relação ao isótopo leve muito mais do que a PEP carboxilase, envolvida no processo fotossintético das C<sub>4</sub>. Assim, as plantas de ciclo C<sub>3</sub> acumulam menos  $^{13}\text{C}$  (MARTINELLI et al., 2009).

Não foi possível separar a biomassa das plantas espontâneas por espécie, mas o teor de N da amostra composta, juntamente com o  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), demonstra que essa vegetação era formada, essencialmente, por gramíneas. Essa confirmação da composição de espécies das plantas espontâneas é importante para descartar a ocorrência de grande frequência de leguminosas espontâneas com capacidade de FBN, na massa total das espontâneas (tabela 3).

Tabela 3: Teores de N total, C total e  $\delta^{13}\text{C}$  e relação C/N de espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.

| Cultivo de cobertura em pré plantio                    | N %         | $\delta^{13}\text{C}$ ‰ | C total %    | C/N          |
|--------------------------------------------------------|-------------|-------------------------|--------------|--------------|
| <b>Coquetel 1 (25% GO + 75% L)</b>                     |             |                         |              |              |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 1,29 D      | -12,25                  | 40,70 A      | 36,52 AB     |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | 1,91        | -13,52                  | 39,10 A      | 20,48        |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 1,24 D      | -12,21                  | 41,41 A      | 42,28 A      |
| Feijão de porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 3,15 AB     | -28,31                  | 37,40 B      | 11,96 C      |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 3,79 A      | -28,50                  | 39,35 AB     | 10,46 C      |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 2,50 BC     | -28,76                  | 40,99 A      | 17,08 BC     |
| Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L)                 | 1,80 CD     | -29,54                  | 38,22 B      | 24,41 ABC    |
| CV (%)                                                 | 24,39       |                         | 3,03         | 49,61        |
| <b>Coquetel 2 (75% GO + 25% L)</b>                     |             |                         |              |              |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 1,68 BC     | -15,52                  | 40,22 A      | 28,05 AB     |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | 1,36 BC     | -12,68                  | 39,06 A      | 29,03 AB     |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 1,10 C      | -12,03                  | 41,04 A      | 39,12 A      |
| Feijão de porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 3,26 A      | -28,80                  | 37,57 A      | 11,72 B      |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 2,29 AB     | -28,95                  | 40,61 A      | 21,31 AB     |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 2,55 AB     | -28,94                  | 39,79 A      | 16,44 B      |
| Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L)                 | 1,54 BC     | -23,98                  | 38,13 A      | 26,23 AB     |
| CV (%)                                                 | 29,60       |                         | 3,94         | 35,52        |
| <b>Vegetação espontânea</b>                            | <b>1,74</b> | <b>-15,35</b>           | <b>36,51</b> | <b>27,60</b> |
| CV (%)                                                 |             |                         |              |              |

Médias seguidas de mesma letra dentro de cada coquetel vegetal, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Gramíneas e oleaginosa (GO) e Leguminosas (L).

Os menores sinais de  $^{15}\text{N}$  foram encontrados no sorgo e na crotalária (Tabela 4). Comparando a média das plantas referência (vegetação espontânea e girassol, nos dois coquetéis) só foi possível observar diferença significativa para essas duas espécies. A associação de gramíneas com bactérias diazotróficas já foi relatada na literatura por diversos autores (JAMES et al., 1997; ROESCH et al. 2007). Entretanto, os baixos sinais de  $\delta^{15}\text{N}$  apresentados pelo sorgo, consistentemente nos dois coquetéis vegetais, são surpreendentes, porque indicam que esta espécie é capaz de obter N de alguma fonte muito empobrecida isotopicamente em relação às fontes disponíveis para as plantas referência, provavelmente da atmosfera. Resultados semelhantes não foram encontrados na literatura. Por exemplo, Ramos et al. (2001) observaram que, enquanto o sinal isotópico de leguminosas utilizadas como adubos verdes (*Crotalaria juncea* L., *Mucuna niveum* e *Glicine max* L.) apresentaram médias inferiores a 3 ‰, o milho e o sorgo variaram entre 4,6 ‰ e 6,54 ‰, sendo inclusive as espécies utilizadas como plantas referência para estimativa da FBN nas leguminosas.

Tabela 4: Sinais de  $^{15}\text{N}$  em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré-plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.

| Espécies                                               | $\delta^{15}\text{N}$ ‰ |            |
|--------------------------------------------------------|-------------------------|------------|
| <b>Plantas referências</b>                             | <b>4,44 a</b>           |            |
| Vegetação espontânea                                   | 4,24                    |            |
| Girassol                                               | 5,29                    | 3,82       |
| <b>Plantas alvo</b>                                    |                         |            |
|                                                        | Coquetel 1              | Coquetel 2 |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 2,04*                   | 2,14*      |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | 2,60                    | 3,35       |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 1,25*                   | 0,34*      |
| Feijão de porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 3,25                    | 2,21*      |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 2,16*                   | 1,38*      |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 1,76*                   | 3,18       |

\* Estatisticamente diferente da média das plantas referência pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O cultivo dos coquetéis garantiu acúmulos de biomassa, nitrogênio e carbono bem maiores que os obtidos com as plantas espontâneas (tabela 5). O cultivo do coquetel 2 aportou ao solo  $1500 \text{ kg ha}^{-1}$  a mais de biomassa que o coquetel 1, mas essa diferença não foi significativa. As quantidades de N acumuladas foram bastante próximas nos dois sistemas (Tabela 5). Dos  $10288 \text{ kg ha}^{-1}$  de biomassa produzida no coquetel 2, apenas  $2504 \text{ kg ha}^{-1}$  (menos de 24% do total) foram provenientes das leguminosas. Já no coquetel 1, a biomassa de

leguminosas chegou a 3704 kg ha<sup>-1</sup> (mais de 43% do total). A produção de biomassa, a capacidade de acumular N e a relação C/N da palhada são características importantes na seleção de coquetéis de adubos verdes, pois permitem estimar o potencial das plantas de cobertura em incrementar a oferta de N para as culturas sucessoras (OLIVEIRA et al., 2002; BOER et al., 2007). Relacionando o C fixado com o N fixado nos três tipos de cobertura utilizados, observa-se que o coquetel 1 apresentaram uma relação um pouco mais vantajosa (19,42) que o coquetel 2 (21,89) e as espécies espontâneas (21,01), possivelmente com liberação de N mais rápida para a cultura em sucessão.

Tabela 5: Produção de biomassa seca, N total acumulado e C fixado em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré-plantio de melão irrigado, no município de Juazeiro, BA.

| Cultivo de cobertura em pré-plantio                    | Biomassa seca  | N acumulado         | C fixado         |
|--------------------------------------------------------|----------------|---------------------|------------------|
|                                                        |                | kg ha <sup>-1</sup> |                  |
| <b>Coquetel 1 (25% GO + 75% L)</b>                     | <b>8578 A</b>  | <b>176,40 A</b>     | <b>3424,86 A</b> |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 1432           | 18,40               | 582,63           |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | 354            | 6,76                | 138,36           |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 1584           | 19,70               | 655,75           |
| Feijão-de-porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 1088           | 34,25               | 406,95           |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 383            | 14,51               | 150,81           |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 2233           | 55,77               | 915,44           |
| Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L)                 | 1504           | 27,01               | 574,92           |
| <b>Coquetel 2 (75% GO + 25% L)</b>                     | <b>10288 A</b> | <b>184,93 A</b>     | <b>4048,84 A</b> |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 2810           | 47,34               | 1130,42          |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | 446            | 6,07                | 174,19           |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 952            | 10,51               | 390,68           |
| Feijão-de-porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 482            | 15,71               | 181,13           |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 531            | 12,15               | 215,54           |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 1491           | 37,95               | 593,29           |
| Girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L)                 | 3576           | 55,20               | 1363,59          |
| <b>Vegetação espontânea</b>                            | <b>3340 B</b>  | <b>58,05 B</b>      | <b>1219,47 B</b> |
| <b>CV (%)</b>                                          | <b>21,88</b>   | <b>36,55</b>        | <b>20,73</b>     |

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*Gramíneas e oleaginosa (GO) e Leguminosas (L).

O teste de Tukey pode ser considerado rígido para comparar médias de sinais isotópicos em plantas cultivadas na forma de coquetéis. Utilizando outros testes de comparação de médias, é possível que diferenças significativas sejam observadas também para as demais espécies, com exceção do milheto, nos dois coquetéis, do feijão de porco no coquetel 1 e da crotalária no coquetel 2. Essas diferenças são sempre maiores que 2‰ (Tabela 4), critério usado, juntamente com a diferença significativa, para se fazer estimativas confiáveis da FBN (HÖGBERG, 1997). Dessa forma, foram feitos cálculos do %N<sub>dda</sub> para todas as espécies que apresentaram um empobrecimento isotópico de duas ou mais unidades de  $\delta^{15}\text{N}$  em relação à média das plantas espontâneas e do girassol (Tabela 6).

Os maiores valores de %N<sub>dda</sub> foram encontrados no sorgo, chegando a mais de 92% no coquetel 2. Entre as leguminosas, a maior contribuição da FBN foi encontrada no feijão-caupi (50,6% no coquetel 2). Apesar disso, a maior quantidade de N adicionado ao sistema via FBN veio da crotalária, chegando a mais de 27 kg ha<sup>-1</sup> no coquetel 1, devido a grande produção de biomassa da espécie nesse tratamento. Integralizando as contribuições de todas as espécies, no coquetel 1 foram fixados 56,6 kg ha<sup>-1</sup> de N, quantidade que superou a fixação do coquetel 2. Utilizando o valor de B = -1 para todas as espécies, a quantidade total de N fixado foi ligeiramente menor nos dois coquetéis.

As quantidades de N fixadas por diferentes adubos verdes dependem, principalmente, da capacidade de produção de biomassa. Perin et al. (2004) obtiveram 89 e 173 kg ha<sup>-1</sup> de N fixado pela crotalária em monocultivo e em consórcio com o milheto, respectivamente, essa última representando quase o triplo da quantidade fixada no coquetel 1.



Tabela 6: Nitrogênio derivado da atmosfera (%) e N fixado (kg ha<sup>-1</sup>) em espécies de diferentes coquetéis vegetais cultivados em pré-plantio do melão irrigado, no município de Juazeiro, BA

| Cultivo de cobertura em pré plantio                    | % Ndda I* | % Ndda II** | N fixado I kg ha <sup>-1</sup> * | N fixado II kg ha <sup>-1</sup> ** |
|--------------------------------------------------------|-----------|-------------|----------------------------------|------------------------------------|
| <b>Coquetel 1 (25% GO + 75% L)</b>                     |           |             | <b>56,64</b>                     | <b>53,23</b>                       |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 54,05     | 44,12       | 9,95                             | 8,12                               |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | -         | -           | -                                | -                                  |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 71,85     | 58,64       | 14,15                            | 11,55                              |
| Feijão-de-porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | -         | -           | -                                | -                                  |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 37,69     | 41,91       | 5,47                             | 6,08                               |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | 48,55     | 49,26       | 27,08                            | 27,47                              |
| <b>Coquetel 2 (75% GO + 25% L)</b>                     |           |             | <b>46,81</b>                     | <b>41,21</b>                       |
| Milho ( <i>Zea mays</i> L.)                            | 51,80     | 42,28       | 24,52                            | 20,02                              |
| Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> L.)                | -         | -           | -                                | -                                  |
| Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> (L). R. Br.)            | 92,34     | 75,37       | 9,71                             | 7,92                               |
| Feijão-de-porco ( <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC) | 40,99     | 40,99       | 6,44                             | 6,44                               |
| Feijão-caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp)     | 50,58     | 56,25       | 6,15                             | 6,83                               |
| Crotalária ( <i>Crotalaria spectabilis</i> Roth)       | -         | -           | -                                | -                                  |
| <b>Vegetação espontânea</b>                            | -         | -           | -                                | -                                  |

\* Calculado considerando os valores de B para as leguminosas: -1,61‰, para o feijão-caupi, -1,08 ‰, para a crotalária e -1,00 ‰ para o feijão-de-porco. Para as gramíneas foi utilizado o valor de B = 0 ‰.

\*\* Calculado considerando o valor B = -1 para todas as espécies

\*\*\*Gramíneas e oleaginosa (GO) e Leguminosas (L).

Nas condições do experimento, o melão produziu, em média, 1713 kg ha<sup>-1</sup> de biomassa seca de ramos e folhas, 21230 frutos ha, com peso médio de 1,73 kg e produtividade de 36703 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 7). Não houve efeito dos coquetéis vegetais em relação às plantas espontâneas, a incorporação dos materiais vegetais sobre a produtividade de biomassa aérea de ramos e folhas e também em relação ao número, peso ou produtividade de frutos do melão, contudo, a produtividade dos frutos do melão, no presente estudo, variou entre 34627 e 38659

kg ha<sup>-1</sup>, sendo superiores às encontradas por Faria et al. (2007), que também utilizaram adubos verdes e obtiveram médias variando entre 9760 e 23000 kg ha<sup>-1</sup>, a registrada para o Brasil, a produtividade média do melão é de 25366 kg ha<sup>-1</sup>, inclusive superior a da Região Nordeste (28.000 kg ha<sup>-1</sup>) (IBGE, 2010).

Tabela 7: Biomassa seca de ramos e folhas e produtividade, número e peso médio dos frutos de melão irrigado cultivado após o cultivo de coquetéis vegetais, com e sem incorporação, no município de Juazeiro, Bahia.

| Tratamentos                                       | Sem incorporação | Com incorporação |
|---------------------------------------------------|------------------|------------------|
| Biomassa de ramos e folhas (kg ha <sup>-1</sup> ) |                  |                  |
| Coquetel 1 (25% GO + 75% L)                       | 1793             | 1640             |
| Coquetel 2 (75% GO + 25% L)                       | 1760             | 1527             |
| Vegetação espontânea                              | 1900             | 1660             |
| Produtividade de frutos (kg ha <sup>-1</sup> )    |                  |                  |
| Coquetel 1 (25% GO + 75% L)                       | 36889            | 37016            |
| Coquetel 2 (75% GO + 25% L)                       | 38659            | 35310            |
| Vegetação espontânea                              | 34627            | 37722            |
| Número (frutos ha <sup>-1</sup> )                 |                  |                  |
| Coquetel 1 (25% GO + 75% L)                       | 19286            | 21587            |
| Coquetel 2 (75% GO + 25% L)                       | 22460            | 22302            |
| Vegetação espontânea                              | 19444            | 22302            |
| Peso médio dos frutos (kg)                        |                  |                  |
| Coquetel 1 (25% GO + 75% L)                       | 1,91             | 1,72             |
| Coquetel 2 (75% GO + 25% L)                       | 1,72             | 1,58             |
| Vegetação espontânea                              | 1,78             | 1,69             |

CV biomassa aérea = 13,67 %; produtividade de frutos = 12,95%; número de frutos = 13,89 %. Não houve diferenças significativas entre tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\*Gramíneas e oleaginosa (GO) e Leguminosas (L).

## CONCLUSÕES

O cultivo e adubação verde com coquetéis vegetais previamente ao cultivo do melão irrigado pode produzir três vezes mais biomassa que à adubação com plantas espontâneas. Essa biomassa no presente estudo aportou mais de 4000 kg ha<sup>-1</sup> de C e de 56 kg ha<sup>-1</sup> de N, entretanto, não foi possível detectar benefícios dessas adições de C e N em termos de produtividade de biomassa ou número de frutos do melão.

Além da fixação observada nas leguminosas, os sinais isotópicos encontrados no milho e, principalmente, no sorgo indicam que essas gramíneas podem estar obtendo N através de fixação biológica de N<sub>2</sub> atmosférico. Por outro lado, milheto e feijão caupi apresentaram os menores valores de biomassa, refletindo em menores aportes de N ao solo, não sendo recomendados para utilização destes como adubos verdes.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. L. P.; ASSIS, J. S.; COSTA, N. D.; PINTO, J. M.; DIAS, R. C. S.; SILVA, C. M. J. Produção integrada de melão no Vale do São Francisco: manejo e aspectos socioeconômicos. In: SOBRINHO, R. B.; GUIMARÃES, J. A.; FREITAS, J. A. D.; TERÃO, D. (Orgs.). **Produção integrada de melão**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 43-50, 2008.
- AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; GUIRADO, N.; ROSSI, F; MENDES, P. C. D; MURAOKA, T. Utilization of nitrogen from green manure and mineral fertilizer by sugarcane. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 534-542, 2005.
- AMBROSANO, E. J.; AZCÓN, R.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; MURAOKA, T; TRIVELIN, P. C. O.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; UNGARO, M. R. G.; TERAMOTO, J. R. S. Crop rotation biomass and arbuscular mycorrhizal fungi effects on sugarcane yield. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 6, p. 692-701, 2010.
- AWITI, A. O.; WALSH, M. G.; KINYAMARIO, J. Dynamics of topsoil carbon and nitrogen along a tropical forest-cropland chronosequence: evidence from stable isotope analysis and spectroscopy. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 127, n. 3-4, p. 265-272, 2008.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 911-922, 1997.
- BOER, C. A.; ASSIS, R. L. de; SILVA, G. P.; BRAZ, A. J. B. P.; BARROSO, A. L. de L.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PIRES, F. R. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1269-1276, 2007.
- BOTTOMLEY, P. J.; MYROLD, D. D. Biological N inputs. In: PAUL, E. A. (Org.). **Soil Microbiology, ecology and biochemistry**. Oxford: Academic Press, p.365-388, 2007.

BRAGA, M. B.; RESENDE, G. M.; MOURA, M. S. B.; COSTA, N. D.; DIAS, R. C. S.; CORREIA, J. S.; SILVA, F. Z. Produtividade e qualidade do melão em função da cobertura do solo no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 939-945, 2009.

CARDOSO, J. B. N.; NOGUEIRA, M. A.; FERRAZ, S. M. G. Biological N<sub>2</sub> fixation and mineral N in common bean-maize intercropping or sole cropping in southeastern Brazil. **Experimental Agriculture**, v. 43, p. 319-330, 2007.

COBO, J. G.; BARRIOS, E.; KASS, D. C. L.; THOMAS, R. J. Decomposition and nutrient release by green manure in a tropical hillside agroecosystem. **Plant and Soil**, v. 240, n. 2, p. 331-342, 2002.

COSTA, N. D.; DIAS, R. C. S.; FARIA, C. M. B.; HOLANDA, S. C. C. T.; TERÃO, D. **Cultivo do melão**. Petrolina: EMBRAPA Semiárido, 2000. 67 p.

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

DANSO, S. K. A., BOWEN, G. D., SNAGINGA, N. Biological nitrogen fixation in trees in agro-ecosystems. **Plant and Soil**, v. 141, p. 177-196, 1992.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A. P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, v. 1, p. 261- 272, 1958.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Fábio César da Silva (Org.), Brasília, 1999, 370p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006, 306p.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - SEMIÁRIDO. **Dados Meteorológicos**. Disponível em: <<http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/servicos/dadosmet/cem-anual.html>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

FARIA, C. M. B.; SOARES, J. M.; LEÃO P. C. S. Adubação verde com leguminosas em videira no submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 4, p. 641-648, 2004.

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

FAO – Food and Agriculture Organization. **Base de dados agrícolas de FAOSTAT-Cultivos primários**. 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 15 jul. 2012.

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

FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. S. B; SANTOS, C. E. R. S. Abundância natural do  $^{15}\text{N}$  para quantificação da fixação biológica do nitrogênio em plantas. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, C. E. R. e S.; STAMFORD, N. P. (Orgs.). **Biotecnologia aplicada à agricultura: Textos de apoio e protocolos experimentais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Recife: Instituto Agrônômico, p. 505-517, 2010.

FREITAS, A. D. S; SILVA, T. O.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; ARAÚJO, E. R.; FRAGA, V. S. Nodulação e fixação de nitrogênio por forrageiras da caatinga cultivadas em solos do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 9, p. 1856-1861, 2011.

FREY, B.; SCHÜEPP, H. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. **New Phytologist**, v. 124, n. 2, p. 221-230, 1993.

GREEN, L. E.; PORRAS-ALFARO, A.; SINSABAUGH, R. L. Translocation of nitrogen and carbon integrates biotic crust and grass production in desert grassland. **Journal of Ecology**, v. 96, p. 1076-1085, 2008.

HAWKINS, H. J.; GEORGE, E. Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake. **Physiologia Plantarum**, v. 105, n. 4, p. 694-700, 1999.

HÖGBERG, P. Tansley Review No. 95  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil-plant systems. **New Phytologist**, v. 137, n. 2, p. 179-203, 1997.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal 2010**. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010\\_Publicacao\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf)>. Acesso em: 15 jul. 2012.

JAMES, E.K.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I.; DÖHEREINER, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L Moench. **Journal of Experimental Botany**, n. 48, p. 785-797, 1997.

LEIGH, J.; HODGE, A.; FITTER, A. H. Arbuscular mycorrhizal fungi can be transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. **New Phytologist**, v. 181, n. 1, p. 199-207, 2009.

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

MELLO, F. A. F.; SOBRINHO, M. O. C. B.; ARZOLLA, R. I.; SILVEIRA, R. I.; NETTO, A. C.; KIEHL, J. C. **Fertilidade do solo**. São Paulo: Nobel, p. 139-175, 1989.

MENEZES, R. S. C.; SALCEDO, I. H. Mineralização de N após incorporação de adubos orgânicos em um Neossolo Regolítico cultivado com milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 361-367, 2007.

MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, v. 349, n. 1-2, p. 1-12, 2012.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002, 626 p.

NASCIMENTO, J. T.; SILVA, I. F.; SANTIAGO, R. D.; SILVA NETO, L. F. Efeito de leguminosas nos atributos físicos e carbono orgânico de um Luvisolo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 5, p. 825-831, 2005.

NGULUU, S. N.; PROBERT, M. E.; MCCOWN, R. L.; MYERS, R. J. K.; WARING, A. S. Isotopic discrimination associated with symbiotic nitrogen fixation in stylo (*Stylosanthes hamata* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 62, n. 1, p. 10-13, 2001.

OJEM, J. O.; VANLAUWE, B.; de RIDDER, N.; GILLER, K. E. Niche-based assessment of contributions of legumes to the nitrogen economy of Western Kenya smallholder farms. **Plant and Soil**, v. 292, n. 1-2, p. 119-135, 2007.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v. 242, n. 2, p. 205-215, 2002.

PARIS, H. S.; AMAR, Z.; LEV, E. Medieval emergence of sweet melons, *Cucumis melo* (Cucurbitaceae). **Annals of Botany**, v. 110, n. 1, p. 23-33, 2012.

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

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

PEREIRA, A. L.; BENEDITO, E. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. **Revista Biociências**, v. 13, n. 1-2, p. 16-27, 2007.

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using <sup>15</sup>N-isotope techniques. **Journal of Biotechnology**, v. 91, n. 2-3, p. 105-115, 2001.



RAMOS, M. E.; BENÍTEZ, E.; GARCÍA, P. A.; ROBLES, A. B. Cover crops under different managements vs. frequent tillage in almond orchards in semiarid conditions: effects on soil quality. **Applied Soil Ecology**, v. 44, n. 1, p. 6-14, 2010.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, L. M. O.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, p. 154-174, 2006.

ROESCH, L.F.W.; QUADROS, P.D.; CAMARGO, F.A.O.; TRIPLETT, E.W. Screening of diazotrophic bacteria *Azopirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin production in multiple field sites in southern Brazil. **World Journal Microbiological Biotechnology**, v. 23, p. 1377-1383, 2007.

SALMI, G. P.; SALMI, A. P.; ABBOUD, A. C. S. Dinâmica de decomposição e liberação de nutrientes de genótipos de guandu sob cultivo em aleias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 4, p. 673-678, 2006.

SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H.; BETTANY, J. Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 4, p. 943-949, 1984.

SAMPAIO, E. V. S. B.; TIESSEN, H.; ANTONINO, A. C. D.; SALCEDO, I. H. Residual N and P fertilizer effect and fertilizer recovery on intercropped and sole-cropped corn and bean in semiarid northeast Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 70, n. 1, p. 1-11, 2004.

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

SILVA, T. O.; MENEZES, R. S. C.; TIESSEN, H.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou *Crotalaria juncea*. I-Produtividade vegetal e estoque de nutrientes no solo em longo prazo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 1, p. 39-49, 2007.

SOMADO, E. A.; KUEHNE, R. F. Appraisal of the <sup>15</sup>N-isotope dilution and <sup>15</sup>N natural abundance methods for quantifying nitrogen fixation by flood-tolerant green manure legumes. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 12, p. 1210-1214, 2006.

SOUZA, S. R; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: Fernandes, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, p. 216-252, 2006.

TIESSEN, H.; SALCEDO, I.H. & SAMPAIO, E.V.S.B. Nutrient and soil organic matter dynamics under shifting cultivation in semi-arid Northeastern Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 38, p. 139-151, 1992.

TRIVELIN, P. C. O.; BOARETTO, A. E. **Uso de isótopos como traçadores em fertilidade do solo e nutrição de plantas**. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2002, 73p.

ZENG, C. Z.; BIE, Z. L.; YUAN, B. Z. Determination of optimum irrigation water amount for drip-irrigated muskmelon (*Cucumis melo* L.) in plastic greenhouse. **Agricultural Water Management**, v. 96, p.595-602, 2009.

UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems**. Canberra: ACIAR, 2008, 258 p.

WILLIAMS, L. E.; MILLER, A. J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, p. 659-688, 2001.