

JOSEFA JULIANA ALVES CARIRI

APORTE DE NITROGÊNIO ATMOSFÉRICO EM SISTEMA AGROFLORESTAL NO
SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO

Serra Talhada-PE

2025

C
A
R
I
R
I

J
J
A

M
I
C
R
O
B
I
O
L
O
G
I
A
D
O

S
O
L
O

·
·
2
0
2
5

JOSEFA JULIANA ALVES CARIRI

APORTE DE NITROGÊNIO ATMOSFÉRICO EM SISTEMA AGROFLORESTAL
NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Unidade
Acadêmica de Serra Talhada,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação
em Produção Vegetal, para
obtenção do título de Mestre
em Produção Vegetal.

Orientador: Profa. Dra.
Carolina Etienne de Rosália e
Silva Santos

Serra Talhada-PE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Ana Catarina Macêdo – CRB-4 1781

C277a Cariri, Josefa Juliana Alves.

Aporte de nitrogênio atmosférico em sistema agroflorestal no Semiárido pernambucano / Josefa Juliana Alves Cariri. – Serra Talhada, 2025.

47 f.; il.

Orientador(a): Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos.

Co-orientador(a): Ana Dolores Santiago de Freitas.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Serra Talhada - UAST, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal , Serra Talhada, BR-PE, 2025.

Inclui referências e anexo(s).

1. Caatinga. 2. Nitrogênio - Fixação. 3. Solos - Teor de nitrogênio. 4. Sustentabilidade 5. Nitrogênio na agricultura. I. Santos, Carolina Etienne de Rosália e Silva, orient. II. Freitas, Ana Dolores Santiago de, coorient. III. Título

CDD 581.15

JOSEFA JULIANA ALVES CARIRI

APORTE DE NITROGÊNIO ATMOSFÉRICO EM SISTEMA AGROFLORESTAL NO
SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

APROVADO em 27/02/2025.

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 CAROLINA ETIENNE DE ROSÁLIA E SILVA SANTOS
Data: 26/04/2025 15:44:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – SEDE/UFRPE
Orientadora

Documento assinado digitalmente
 EVARISTO JORGE OLIVEIRA DE SOUZA
Data: 27/04/2025 11:10:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza – UAST/UFRPE
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 ADRIANA SILVA LIMA
Data: 28/03/2025 16:38:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Adriana Silva Lima – UAGRA/UFCG
Examinador Externo

"Porque para Deus nada é impossível".

Lucas 1:37

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pelas inúmeras graças recebidas ao longo desta jornada e por nunca desistir de mim. Obrigada, Jesus, por Seu amor incondicional e por cuidar tão bem de mim.

Aos meus pais, Lucineide Alves Rabelo Bezerra e José Cariri Bezerra, sou imensamente grata pelo apoio incondicional e pela compreensão em todos os momentos. Aos meus irmãos, Maria Joselma e Diêgo Alves, pelo carinho e companheirismo, e às minhas sobrinhas, Maria Júlia e Milena, que são verdadeiros combustíveis para minha vida.

Aos meus familiares, que sempre me motivaram e torceram por mim, e aos meus amigos de infância, Clebson, Álvaro, Eduarda e Dinha, por estarem sempre ao meu lado. Ao meu namorado, Anderson Celeste, pela paciência, apoio e por cada gesto de incentivo ao longo dessa caminhada.

Ao Prof. Dr. Evaristo Jorge, minha profunda gratidão por acreditar em mim, insistir na minha permanência no mestrado e ser um exemplo de profissionalismo, dedicação e incentivo. Agradeço também a todos os professores que, de alguma forma, contribuíram para a construção deste trabalho.

Aos colegas do grupo de pesquisa Rumiagro, que foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa, em especial Anderson, Jheiny, Jonas, Vinícius, Dannuta, Rodrigo e Claudenilde, além de todos que, direta ou indiretamente, contribuíram.

Aos colegas e companheiros do PGPV, especialmente Jheiny Rafaele, por todo apoio, compreensão e carinho, e por me fortalecer nos momentos difíceis.

À Prof. Dra. Carolina Etienne, a Prof. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas e ao grupo de pesquisa GFBN, pelo suporte e pelas contribuições ao longo da pesquisa.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade de Serra Talhada, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PGPV) e seus representantes, minha gratidão pelo suporte institucional.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pelo fomento à bolsa de pós-graduação, que possibilitou minha permanência e conclusão do mestrado.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, me incentivaram, acreditaram em mim, muitas vezes mais do que eu mesma, e me encorajaram a seguir em frente, meu mais sincero agradecimento. Obrigada por não me deixarem desistir.

RESUMO GERAL

As condições adversas do semiárido brasileiro, como a escassez hídrica e os baixos teores de nitrogênio no solo, comprometem a produção agrícola e a sustentabilidade dos sistemas produtivos. Nesse contexto, os sistemas agroflorestais representam uma alternativa promissora para aumentar a resiliência ecológica e recuperar áreas degradadas, destacando-se pela capacidade de promover a fixação biológica de nitrogênio por meio de leguminosas nativas adaptadas à região. No entanto, ainda existem lacunas de conhecimento sobre o aporte de nitrogênio atmosférico nesses sistemas no semiárido. Este estudo teve como objetivo quantificar o nitrogênio atmosférico fixado em sistemas agroflorestais no semiárido pernambucano. O experimento foi conduzido nas dependências da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Serra Talhada-PE, sob regime de sequeiro, utilizando delineamento em blocos ao acaso, com três repetições e quatro tratamentos. Os tratamentos consistiram em três sistemas agroflorestais contendo as culturas agrícolas feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), algodão (*Gossypium hirsutum*) e milho (*Zea mays*), associados às gramíneas forrageiras capim-corrente (*Urochloa mosambicensis*) e capim-buffel (*Cenchrus ciliaris*), além de uma área com vegetação de Caatinga nativa, também composta pelas forrageiras estabelecidas. As gramíneas foram plantadas em faixas de 1 m de largura por 26 m de comprimento. As culturas agrícolas foram implantadas por semeadura direta em covas, com espaçamento de 2 m entre culturas e 0,5 m entre plantas, e distância de 0,5 m entre as culturas e as faixas de forrageiras. As densidades de plantio foram de 50.000 plantas/ha para o algodão, 40.000 plantas/ha para o milho e 30.000 plantas/ha para o feijão-caupi. Foram coletadas amostras foliares de cinco indivíduos por espécie, divididas em dois grupos: espécies-alvo (leguminosas nodulantes) e espécies de referência (não leguminosas ou leguminosas não nodulantes). As folhas foram colhidas entre 1,5 e 2 m de altura, enquanto os capins foram amostrados em parcelas de 0,25 m². O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada (72 horas a 65 °C), moído e enviado ao CENA-USP para análise dos teores de nitrogênio e carbono total (%) e das abundâncias naturais dos isótopos $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$. Os resultados demonstraram que *Vigna unguiculata* apresentou elevada eficiência na FBN, com 59,73% de NDDA, acumulando 13,60 kg N/ha e fixando 8,13 kg N/ha. A espécie *Piptadenia stipulacea* apresentou NDDA entre 38,48% e 39,38%, com fixação de 1,74 a 2,26 kg N/ha. *Anadenanthera macrocarpa* registrou NDDA de 47,83%, com fixação de 2,04 kg N/ha. Observou-se que a fixação de nitrogênio variou conforme a espécie e o sistema de cultivo. Conclui-se que a implantação de sistemas agroflorestais no semiárido pernambucano favorece o aporte de nitrogênio atmosférico ao solo. O *Vigna unguiculata* destacou-se como a espécie mais eficiente na fixação de nitrogênio. As espécies *Anadenanthera macrocarpa* e *Piptadenia stipulacea* também contribuíram para a FBN, apresentando variações conforme o arranjo dos sistemas e as condições de cultivo.

Palavras-chave: Caatinga, Fixação biológica de nitrogênio, ¹⁵N isótopo, Sustentabilidade.

GENERAL ABSTRACT

The adverse conditions of the Brazilian semi-arid region, such as water scarcity and low soil nitrogen levels, compromise agricultural production and the sustainability of farming systems. In this context, agroforestry systems represent a promising alternative for enhancing ecological resilience and restoring degraded areas, particularly through biological nitrogen fixation (BNF) by native leguminous species adapted to the region. However, there are still knowledge gaps regarding atmospheric nitrogen inputs in these systems within the semi-arid context. This study aimed to quantify atmospheric nitrogen fixed in agroforestry systems in the semi-arid region of Pernambuco. The experiment was conducted at the facilities of the Federal Rural University of Pernambuco, in Serra Talhada-PE, under rainfed conditions, using a randomised block design with three replicates and four treatments. The treatments included three agroforestry systems incorporating agricultural crops—cowpea (*Vigna unguiculata*), cotton (*Gossypium hirsutum*), and maize (*Zea mays*)—combined with forage grasses—corrente grass (*Urochloa mosambicensis*) and buffel grass (*Cenchrus ciliaris*)—as well as a native Caatinga area, also containing the established forage species. The grasses were planted in strips measuring 1 m in width by 26 m in length. The agricultural crops were sown directly in pits, with a spacing of 2 m between crops and 0.5 m between plants, and a 0.5 m distance between the crop rows and the forage strips. Planting densities were 50,000 plants/ha for cotton, 40,000 plants/ha for maize, and 30,000 plants/ha for cowpea. Leaf samples were collected from five individuals per species, grouped into two categories: target species (nodulating legumes) and reference species (non-legumes or non-nodulating legumes). Leaves were sampled at a height of 1.5 to 2 m, while grass samples were taken from 0.25 m² plots. All plant material was oven-dried (72 hours at 65 °C), ground, and sent to CENA-USP for analysis of total nitrogen and carbon contents (%) and the natural abundances of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ isotopes. The results showed that *Vigna unguiculata* demonstrated high BNF efficiency, with 59.73% NDDA, accumulating 13.60 kg N/ha and fixing 8.13 kg N/ha. *Piptadenia stipulacea* presented NDDA values between 38.48% and 39.38%, with nitrogen fixation ranging from 1.74 to 2.26 kg N/ha. *Anadenanthera macrocarpa* showed a NDDA of 47.83%, with 2.04 kg N/ha of nitrogen fixed. Nitrogen fixation varied according to species and cultivation system. It is concluded that the implementation of agroforestry systems in the semi-arid region of Pernambuco favours atmospheric nitrogen input into the soil. *Vigna unguiculata* stood out as the most efficient species in nitrogen fixation. *Anadenanthera macrocarpa* and *Piptadenia stipulacea* also contributed to BNF, with variations depending on the system arrangement and cultivation conditions.

Keywords: Caatinga, Biological nitrogen fixation, $\delta^{15}\text{N}$ isotope, Sustainability.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Área de Estudo, Setor de Ruminantes, em Serra Talhada. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST, 19
- Figura 2 Croqui da área experimental, com as combinações dos Sistemas agroflorestais e da área controle, em Serra Talhada-PE,UFRPE/UAST, 21
- Figura 3 Precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa do ar (%),temperatura (C°), durante o período experimental de março a julho de 2023, em Serra Talhada-PE,UFRPE/UAST, 21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características químicas do solo da área experimental. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST.....	20
Tabela 2	Espécies nativas e exóticas presentes na vegetação da Caatinga no local experimental. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST.....	22
Tabela 3	Medias da composição isotópica do ^{15}N e ^{13}C , carbono total (%), nitrogênio total (%N) e relação carbono nitrogênio (C/N), das espécies fixadoras e das referências do sistema agroflorestal e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST.....	26
Tabela 4	Percentual de N derivado da atmosfera (NDDA%), concentração de N total (kg/ha) e N fixado (kg/ha) em sistema agroflorestal e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST	29
Tabela 5	Medias da composição isotópica do N ($\delta^{15}\text{N}$) C ($\delta^{13}\text{C}$), carbono total (%), nitrogênio total (%) e relação carbono nitrogênio (C/N), das gramíneas do sistema agroflorestal e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada, PE, UFRPE/UAST.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	Semiárido Brasileiro: Características e Desafios Ambientais	12
2.2	Sistemas agroflorestais	13
2.3	Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)	14
2.4	Técnicas isotópicas para a avaliação da Fixação Biológica de Nitrogênio	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO	32
6	REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A escassez de água e as condições climáticas adversas do semiárido brasileiro apresentam sérios desafios para a produção agrícola e a sustentabilidade ambiental da região (Silva et al., 2020; Souza et al., 2018). Caracterizada por um clima quente e seco, com chuvas irregulares e altas taxas de evapotranspiração, a região enfrenta limitações edafoclimáticas que comprometem a produtividade agrícola e a estabilidade ecológica (Alvares et al., 2013).

Neste cenário, a adoção de sistemas agroflorestais surge como uma alternativa viável para promover a resiliência dos ecossistemas e melhorar a produtividade sem comprometer os recursos naturais (Ferreira et al., 2021). Além disso, os sistemas agroflorestais têm um papel fundamental na recuperação de áreas degradadas e no aumento da disponibilidade de nutrientes, especialmente o nitrogênio, por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) realizada por leguminosas nativas adaptadas ao semiárido (Martins et al., 2013).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo crucial para a melhoria da fertilidade do solo, especialmente em regiões com solos com baixos teores de nitrogênio como o semiárido brasileiro (Silva et al., 2017). As leguminosas, ao estabelecerem simbiose com microrganismos diazotróficos, são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, tornando-o disponível para outras plantas (Pinheiro et al., 2017). Contudo, apesar de seu potencial, a quantificação do aporte de nitrogênio atmosférico fixado em sistemas agroflorestais no semiárido ainda é pouco compreendida (Costa et al., 2018). Além disso, as variações nos índices de FBN podem ser influenciadas por fatores como a eficiência da simbiose, a produtividade de biomassa e as condições ambientais locais (Alves et al., 2022).

Diante disso, o objetivo deste estudo é quantificar o nitrogênio atmosférico fixado em sistemas agroflorestais no semiárido pernambucano, com ênfase no nitrogênio total (%), na abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ e no NDDA% das leguminosas. Especificamente, buscamos avaliar a contribuição das leguminosas nativas e do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) para a fixação de nitrogênio no contexto semiárido, utilizando técnicas isotópicas para determinar a eficiência da FBN em diferentes arranjos de SAFs (Silva et al., 2020).

A hipótese deste trabalho é que os SAFs, ao integrar espécies leguminosas adaptadas ao semiárido, promovem a fixação biológica de nitrogênio, ATMOSDERICO. A análise da

abundância isotópica de nitrogênio e do NDDA% permitirá uma avaliação mais precisa da eficiência da FBN nesses sistemas (Rodrigues et al., 2021).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Semiárido Brasileiro: Características e Desafios Ambientais

O Semiárido brasileiro abrange cerca de 1.477 municípios, distribuídos majoritariamente na região Nordeste e em partes de Minas Gerais e Espírito Santo (CONDEL/SUDENE, 2024), sendo caracterizado por clima quente e seco, chuvas irregulares e elevados índices de evapotranspiração. O bioma predominante nessa região é a Caatinga, que ocupa cerca de 862.818 km², aproximadamente 10,1% do território nacional (IBGE, 2019) e apresenta alta diversidade biológica e endemismo (Fernandes et al., 2020; Filardi et al., 2018).

Com solos frequentemente rasos, pedregosos ou com características salinas e sódicas (Araújo Filho, 2017), a região enfrenta severas limitações edafoclimáticas que comprometem a produtividade agrícola e a estabilidade ecológica. A exploração intensiva dos recursos naturais, associada à pecuária extensiva, agricultura de sequeiro e extração de lenha, tem contribuído para a degradação ambiental e desertificação (Silva et al., 2020; Antongiovanni et al., 2018).

Diante desses desafios, torna-se essencial adotar práticas agrícolas mais sustentáveis. Os sistemas agroflorestais (SAFs) destacam-se como alternativa viável para restaurar áreas degradadas, promover a resiliência do ecossistema e aumentar a produtividade sem comprometer os recursos naturais. Além de favorecerem a ciclagem de nutrientes e a recuperação do solo, os SAFs podem promover o aporte de nitrogênio por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN), especialmente quando integram espécies leguminosas nativas, como *Mimosa tenuiflora* (jurema-preta), *Piptadenia stipulacea* (jurema-branca) e *Poincianella pyramidalis* (catingueira), todas adaptadas às condições semiáridas e com múltiplos usos (Ferreira et al., 2021; Oliveira et al., 2020).

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), uma leguminosa de grande importância socioeconômica na região, também apresenta alta eficiência na FBN, podendo fornecer de 30 a 45 kg ha⁻¹ de N em cultivos puros ou consorciados (Freitas et al., 2012; Martins et al., 2015). A adoção dessas espécies em sistemas integrados é, portanto, uma estratégia promissora para aumentar o aporte de nitrogênio atmosférico e reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos no Semiárido.

2.2 Sistemas Agroflorestais

Os sistemas agroflorestais (SAFs) são formas sustentáveis de uso da terra que integram, em uma mesma área, espécies lenhosas perenes (árvores e arbustos), culturas agrícolas e/ou criações animais, em arranjos espaciais e temporais diversos. Segundo o Centro Internacional de Pesquisa Agroflorestal (ICRAF), esses sistemas baseiam-se na ecologia e na gestão dos recursos naturais, promovendo a diversificação produtiva e benefícios sociais, econômicos e ambientais (Miccolis et al., 2016).

Com o objetivo de reproduzir as condições de microambiente das matas naturais, os SAFs mantêm o solo constantemente coberto por vegetação, sendo eficazes na recuperação de áreas degradadas (Colff et al., 2017). São caracterizados por quatro elementos principais: a presença de espécies arbóreas, alta densidade de plantas, estratificação vertical (multiestratificação) e diversidade de espécies cultivadas. Esses fatores favorecem a ciclagem de nutrientes, o aumento da biomassa, a resiliência aos eventos climáticos extremos e o sequestro de carbono (Elevitch; Mazaroli; Ragone, 2018). Com base na composição e função, os SAFs podem ser classificados em três tipos principais: agrossilvicultura (associação entre culturas agrícolas e espécies florestais), silvipastoris (integração de árvores com forrageiras e animais) e agrossilvipastoris (combinando agricultura, pecuária e silvicultura) (Martins, 2013).

Esses sistemas apresentam múltiplos benefícios ambientais. O sistema radicular profundo das árvores contribui para a captação de nutrientes em camadas mais profundas do solo, posteriormente reciclados por meio da serrapilheira e da decomposição de raízes e frutos (Carsan et al., 2014; Villarreyna; Avelino; Cerda, 2020). Além disso, as árvores são mais eficientes no sequestro de carbono do que pastagens ou culturas agrícolas convencionais (Lorenz; Lal, 2014; Ribeiro et al., 2019). A melhoria da qualidade do solo nos SAFs incluindo estrutura, umidade, fertilidade e biodiversidade, contribui diretamente para a saúde das plantas e animais. Em estudo realizado no Nepal, observou-se uma redução média de 58% no escoamento superficial, aumento de 65% no carbono orgânico do solo e redução de 9% na perda de nutrientes em comparação com sistemas convencionais (Schwab et al., 2015; Pavlidis; Tsihrintzis, 2018).

Além disso, esses sistemas desempenham papel importante no acúmulo de nitrogênio no solo. A presença de leguminosas, como espécies da família Fabaceae, promove a fixação biológica de nitrogênio (FBN), melhorando a disponibilidade do nutriente para as culturas

agrícolas associadas (Schumacher et al., 2018; Neves et al., 2021). A baixa relação C:N da biomassa dessas plantas favorece a ciclagem de nutrientes, melhorando as características químicas, físicas e biológicas do solo.

No semiárido brasileiro, onde a fragilidade do solo e a escassez hídrica são marcantes, os SAFs têm se mostrado alternativas promissoras. Estudos demonstram sua viabilidade para a produção de alimentos e conservação da biodiversidade da Caatinga, contribuindo para a restauração ecológica e geração de renda (Barbosa et al., 2021; Salin et al., 2012). Tais sistemas favorecem a diversidade florística e fitossociológica da região, além de mitigar os efeitos da degradação ambiental.

A importância das leguminosas nesse contexto é destacada também nos trabalhos de Iwata et al. (2021) e Silva et al. (2023), os quais ressaltam o papel dessas espécies na conservação dos solos e na manutenção da fertilidade. Collier et al. (2018) reforçam a necessidade de diversificação de espécies nos SAFs, com o uso de diferentes famílias botânicas, em especial as leguminosas, pela sua capacidade de disponibilizar nutrientes e fortalecer a interação solo-planta.

Estudos realizados no semiárido apontam que os SAFs reduzem a necessidade de fertilizantes nitrogenados (Martins et al., 2015), aumentam o aporte de nutrientes via interceptação da chuva pelas copas e troncos, promovem o sequestro de carbono e nitrogênio (Sacramento et al., 2013), além de favorecerem o conforto térmico animal e reduzirem a variação no teor de proteína das pastagens (Paciullo et al., 2011; Magalhães et al., 2020).

No entanto, as quantidades de nitrogênio fixadas em diferentes contextos de SAFs no semiárido ainda são pouco compreendidas. Essas variações estão diretamente relacionadas à eficiência da simbiose entre plantas e microrganismos fixadores, à produtividade de biomassa e às condições ambientais locais (Mokgehle et al., 2014).

2.3 Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN)

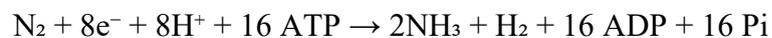
O nitrogênio (N) é o elemento químico mais abundante da atmosfera, presente principalmente na forma molecular (N_2), um gás quimicamente inerte que representa 78,08% do ar seco (Seinfeld et al., 2006). Apesar de sua abundância, a ligação tripla entre os átomos de

N₂ confere-lhe grande estabilidade, tornando-o indisponível para a maioria dos organismos (Burford; Fryzuk, 2017). Para ser assimilado por plantas e outros seres vivos, o N₂ precisa ser reduzido a formas reativas como amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻) (Andrade et al. 2023).

O nitrogênio é um nutriente essencial à vida, compondo ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas e moléculas como a clorofila. Entretanto, a sua disponibilidade limitada nos solos frequentemente constitui um fator restritivo à produção agrícola (Reis Junior et al., 2018). No solo, mais de 90% do N encontra-se em formas orgânicas, enquanto menos de 0,1% está disponível como NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻, resultantes de transformações microbianas (Stevenson, 1982; Hayatsu et al., 2008; Laughlin et al., 2008). Essas transformações, amonificação, nitrificação, desnitrificação e fixação biológica são mediadas por microrganismos e influenciadas pelas propriedades físico-químicas do solo (Cookson et al., 2008; Albright et al., 2019).

Dentre os processos naturais de incorporação de N ao sistema biológico, a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) se destaca como a principal via, superando fontes como as descargas elétricas atmosféricas, que contribuem com menos de 3% (Fowler et al., 2013). A FBN é realizada exclusivamente por microrganismos diazotróficos, que convertem o N₂ em amônia (NH₃) através do complexo enzimático nitrogenase (Masson-Boivin; Sachs, 2018). Essa transformação é tão relevante que muitos autores a consideram o segundo processo biológico mais importante do planeta, superado apenas pela fotossíntese (Moreira; Siqueira, 2006; Cantarella, 2007; Reis-Júnior et al., 2010; Zago et al., 2018).

A reação catalisada pela nitrogenase pode ser representada por:



A nitrogenase é composta por duas subunidades: uma Fe-proteína e uma MoFe-proteína, ambas inativadas pela presença de O₂ (Einsle; Rees, 2020). O processo envolve a doação de elétrons pela ferredoxina para a Fe-proteína, que, com a energia de 16 ATPs, transfere-os à MoFe-proteína, reduzindo o N₂ a NH₃ e H₂ (Ivleva et al., 2016). Em laboratório, a atividade dessa enzima pode ser avaliada pela redução do acetileno a etileno (Seefeldt et al., 2020).

Por ser tóxica às células vegetais, a amônia precisa ser convertida em compostos orgânicos antes de ser translocada. Em leguminosas tropicais (ex.: feijão-caupi, soja, amendoim), o

transporte ocorre principalmente via ureídeos, enquanto em espécies de clima temperado (ex.: ervilha, lentilha, grão-de-bico, trevo), predominam as amidas (Schwember et al., 2019).

Os principais genes envolvidos na FBN são *fix*, *nif* e *nod*. Os genes *fix* regulam a transcrição dos *nif*, que estão relacionados à estrutura e regulação da nitrogenase, enquanto os *nod* participam da formação de nódulos nas raízes das plantas, sintetizando os chamados fatores Nod (lipoquitos oligossacarídeos-LQO) (Shamseldin, 2013; Cassetari; Silva; Cardoso, 2016; Moreira e Siqueira, 2006).

Os microrganismos fixadores de nitrogênio, também chamados de diazotróficos, podem ser classificados quanto à sua interação com plantas: (i) de vida livre; (ii) associativos (superfície ou interior vegetal); ou (iii) simbióticos (geralmente com leguminosas) (Moreira; Siqueira, 2006; Moreira et al., 2010; Reis et al., 2010). Em gramíneas, a simbiose ocorre sem formação de nódulos, com colonização em tecidos ou raízes (Marques et al., 2017). Diversas espécies diazotróficas têm sido identificadas e estudadas com o auxílio da biologia molecular, o que tem ampliado o conhecimento sobre sua taxonomia e eficiência na FBN (Costa et al., 2010; Marinho et al., 2014). Entre os principais gêneros encontram-se: Os de vida livre: *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Derxia*, *Methanococcus*, *Rhodospirillum*, *Beijerinckia*, entre outros e dos de associação ou Simbiose com plantas: *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter*, *Frankia*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, entre outros (Taiz e Zeiger, 2016).

2.4 Técnicas isotópicas para a avaliação da Fixação Biológica de Nitrogênio

Os isótopos são variantes de um elemento químico que possuem átomos com o mesmo número de prótons, mas diferentes números de nêutrons, resultando em massas atômicas distintas. De acordo com Sleiman et al. (2008), alguns isótopos são radioativos, apresentando núcleos instáveis que se desintegram espontaneamente através da emissão de radiação, enquanto outros são estáveis, não sofrendo decaimento radioativo. Entre os elementos químicos com isótopos estáveis, destacam-se o hidrogênio (H), carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O) e enxofre (S), que ocorrem naturalmente em diferentes compartimentos ambientais, como atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera (Carvalho, 2008).

Esses isótopos estáveis podem ser classificados como “leves”, com peso atômico nominal (ex.: ^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O e ^{32}S), ou “pesados”, como ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{33}S e ^{34}S . A variação na

composição isotópica no ambiente é resultado de processos físicos e químicos de fracionamento isotópico, ao invés de decaimento radioativo (Rapisarda et al., 2010).

O nitrogênio, com os isótopos estáveis ^{14}N e ^{15}N , tem sido amplamente estudado por meio de técnicas isotópicas, devido à sua presença abundante na natureza e à facilidade de quantificação por espectrômetros de massa (Ducatti et al., 2011; Tamura et al., 2013). A relação entre ^{14}N (aproximadamente 99,63%) e ^{15}N (cerca de 0,37%) define a composição isotópica ou abundância natural do nitrogênio (Martinelli et al., 2009), que pode variar dependendo do tipo de material.

As técnicas isotópicas mais comuns para análises agronômicas e ambientais são a abundância natural e a diluição isotópica. A diluição isotópica envolve o uso de fertilizantes enriquecidos com ^{15}N , com concentrações variando entre 5% e 10%. Contudo, essa técnica pode ser financeiramente dispendiosa, limitando seu uso em pesquisas de grande escala (Unkovich et al., 2008). Já a técnica de abundância natural compara a proporção de ^{15}N em uma planta fixadora de nitrogênio (que adquire nitrogênio do N_2 atmosférico, além de fontes do solo) com a proporção em uma planta não fixadora, que depende exclusivamente do nitrogênio do solo. Espera-se que plantas fixadoras apresentem uma abundância de ^{15}N inferior, devido à maior presença deste isótopo nos solos (Shearer & Kohl, 1986).

A análise da composição isotópica é realizada por meio de espectrometria de massa, expressando-se em unidades delta ($\delta^{15}\text{N}$), que indicam o desvio por mil (‰) da razão entre as massas de ^{15}N e ^{14}N no nitrogênio contido na amostra, em relação ao N_2 atmosférico. A equação para o cálculo de $\delta^{15}\text{N}$ é a seguinte:

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰}) \text{ amostra} = ((\% \text{ átomo } ^{15}\text{N} \text{ amostra} - 0,3663) / 0,3663) \times 1000 \text{ ou } \delta = (\text{Ramostra} / \text{Rpadrão} - 1) \times 1000$$

Onde:

Ramostra e Rpadrão são as razões $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ da amostra e do padrão (N_2 atmosférico), respectivamente.

Essa diferença nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ é utilizada para calcular a FBN das espécies fixadoras. A fórmula para calcular a porcentagem de N proveniente da fixação biológica de nitrogênio (%Ndda) é:

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

Onde:

$\delta^{15}\text{N}(\text{referência})$ é o valor médio dos $\delta^{15}\text{N}$ das plantas não fixadoras utilizadas como referência, $\delta^{15}\text{N}(\text{fixadora})$ é o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ da planta fixadora e \mathbf{B} é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ para plantas fixadoras cultivadas na ausência de N.

Esse parâmetro \mathbf{B} serve para ajustar o fracionamento isotópico da fixação biológica de nitrogênio, e seu valor pode variar entre espécies. No caso das leguminosas lenhosas, o valor sugerido de \mathbf{B} é -1,7‰, conforme Geesing et al. (2000) e Shearer & Kohl (1986).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O experimento foi conduzido na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE na Unidade Acadêmica de Serra Talhada-UAST (Figura 1). O município Serra Talhada-PE está localizado a 07° 59' S, 38° 17' W a uma altitude de 435 metros no Vale do Pajeú. Entre os meses de março a julho de 2023, totalizando 139 dias.

Figura 1. Mapa de localização da área de estudo, setor de ruminantes da Unidade Acadêmica de Serra Talhada-UAST.



Fonte: Autora, 2025

O clima baseado na classificação de Köppen, é do tipo BSwH, (Alvares et al., 2013) onde se caracteriza como semiárido quente, com temperatura média anual de 24.8 °C, umidade relativa do ar de 62%, as precipitações pluviais na região são caracterizadas por sua escassez e má distribuição ao longo do ano, concentrando-se predominantemente durante o verão. A média pluviométrica histórica anual é de aproximadamente 642 mm ano⁻¹ (INMET, 2018).

O solo da área experimental é classificado como Cambissolo Háplico Ta Eutrófico típico e apresenta textura franco-arenosa, eutrófico de acidez fraca e fertilidade de média a alta (Tabela 1). Para a caracterização química do solo, foram coletadas amostras simples em seis pontos aleatórios em cada parcela, na profundidade de 0-20 cm, formando amostras compostas. As coletas foram realizadas ao término do experimento. As amostras foram devidamente identificadas e acondicionadas em sacos plásticos. No laboratório, as subamostras foram secas

ao ar, homogeneizadas e peneiradas em peneira de malha de 2 mm para a obtenção da Terra Fina Secada ao Ar (TFSA).

Tabela 1. Características químicas do solo da área experimental

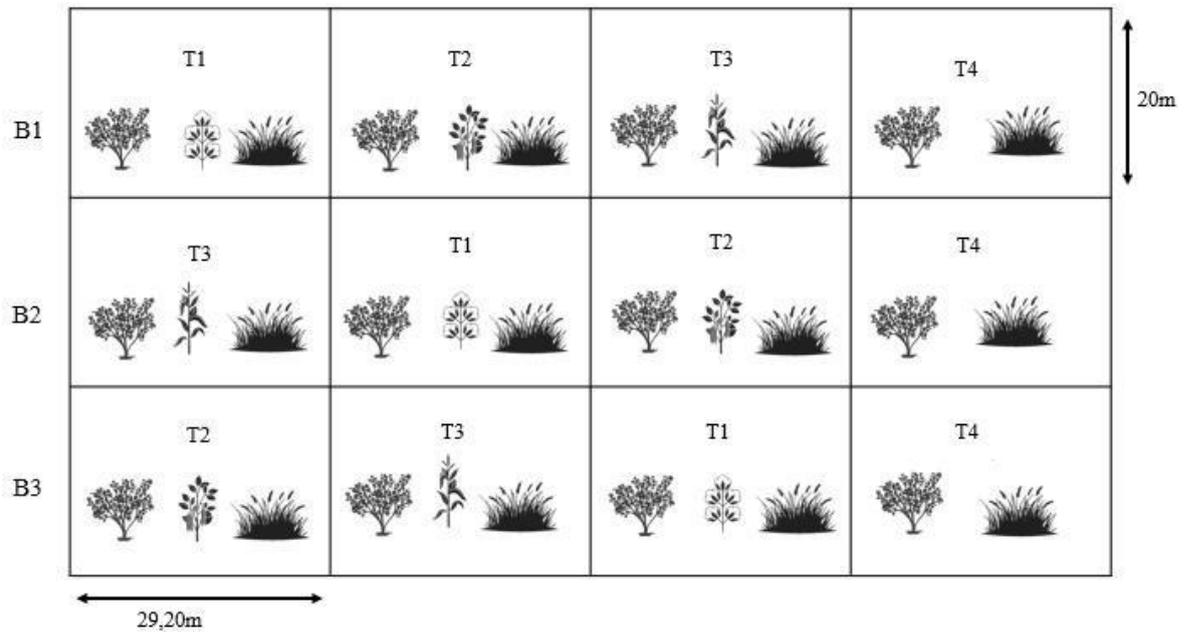
Sistemas	pH	P mg dm ⁻³	K+	Na+	Ca ²⁺	Mg ²⁺ cmol _c dm ⁻³	H+Al	Al ³⁺	CTC	V %
Algodão	6,5	105	1	0	10,2	1,7	2,64	0	16,2	84
Feijão	6,1	92	0,9	0	9	1,5	3,6	0	14,4	78
Milho	6,1	80	0,9	0	8,25	0,9	3,6	0	13,7	75
Caatinga	7	182	1,2	0	10	1,6	2,89	0	15,2	82,09

2.2. Design e tratamentos experimentais

A área experimental possui 7.200 m² (90 x 80 metros) apresentando três blocos com quatro parcelas, totalizando 12 parcelas de 584 m² (20 m x 29,2 m). O experimento foi conduzido em blocos ao acaso (DBC), com três repetições e quatro tratamentos (Figura 2) em regime de sequeiro. Os tratamentos consistiram em três sistemas agroflorestais que incluíram a presença de capim corrente (*Urochloa mosambicensis*) e capim buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), das culturas agrícolas feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e milho (*Zea mays* L.), além da vegetação do bioma Caatinga, e uma área de Caatinga nativa, composta por capim corrente (*Urochloa mosambicensis* Hack Dandy) e capim buffel (*Cenchrus ciliaris* L.).

As combinações dos sistemas foram as seguintes: Sistema 1: capim corrente/buffel + feijão + vegetação da Caatinga; Sistema 2: capim corrente/buffel + algodão + vegetação da Caatinga; Sistema 3: capim corrente/buffel + milho + vegetação da Caatinga; Área controle 4: capim corrente/buffel + vegetação da Caatinga (Figura 2).

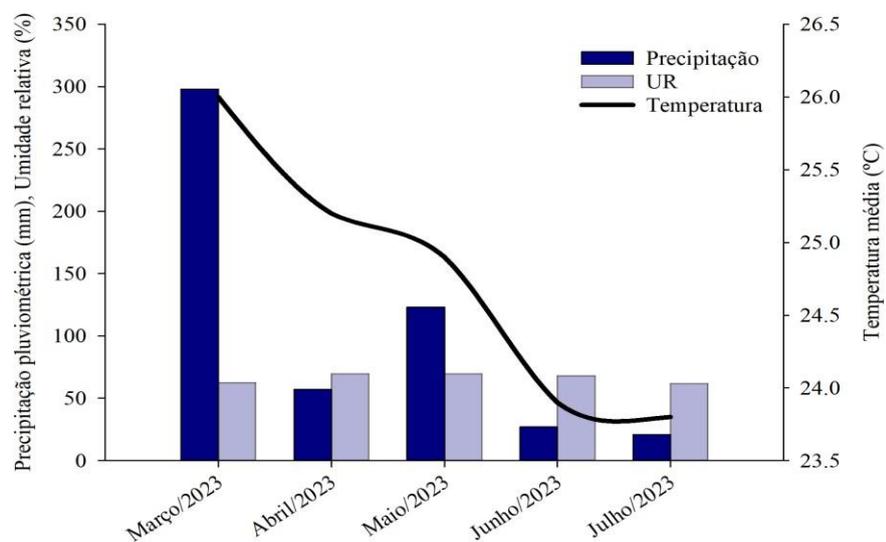
Figura 2. Croqui da área experimental, com as combinações dos Sistemas agroflorestais e da área controle (B: Bloco; T: Tratamento= T1: Algodão; T2: Feijão; T3: Milho; T4: Caatinga).



Fonte: Autora, 2025

Os registros meteorológicos foram obtidos durante o período experimental por meio de uma estação meteorológica automatizada, pertencente ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) situada nas dependências da unidade (Figura 3). A análise dos registros de precipitação pluvial revelou um acumulado superior a 526 mm durante o experimento, com destaque para o mês de março de 2023, que registrou a maior precipitação, atingindo cerca de 300 mm.

Figura 3. Precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa do ar (%), temperatura (C°), durante o período experimental de março a julho de 2023, em Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.



Fonte: Autora, 2025

2.3. Procedimentos de condução experimental

Na área estudada, já havia uma vegetação herbácea estabelecida, composta por capim-corrente (*Urochloa mosambicensis* (Hack.) Dandy) e capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), que fora semeada na década de 1980. Como parte do processo de implantação do experimento, foi realizado um corte de uniformização das duas espécies de gramíneas, com a altura ajustada para 10 cm. Este corte foi efetuado utilizando uma roçadeira costal, e o material cortado foi deixado na área experimental para decomposição e integração no solo.

As sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata*) e milho (*Zea mays*) implantadas foram de variedades crioulas, provenientes do banco de sementes de produtores do município de São José do Egito, Pernambuco, denominadas como “Rabo de tatu” (feijão) e “Batité” (milho). O cultivo do algodão (*Gossypium hirsutum*) foi realizado com a cultivar BRS Aroeira. Na área experimental composta por Caatinga, foi realizado um levantamento das espécies (Tabela 3).

Tabela 2. Espécies nativas e exóticas presentes na vegetação da Caatinga no local experimental, em Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.

Família	Espécie	Nome popular
Anacardiaceae	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Aroeira
Capparaceae	<i>Capparis flexuosa</i> L.	Feijão-bravo
Convolvulaceae	<i>Merremia aegyptia</i> (L.) Urb.	Corda-de-viola
Euphorbiaceae	<i>Croton sonderianus</i> Müll. Arg.	Marmeleiro
Fabaceae	<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan	Angico
Fabaceae	<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.	Catingueira
Fabaceae	<i>Mimosa tenuiflora</i> Benth.	Jurema preta
Fabaceae	<i>Bauhinia cheilantha</i> Steud	Mororó
Fabaceae	<i>Senna spectabilis</i> (DC.) H.S. Irwin & Barneby	Canafístula-de-besouro
Fabaceae	<i>Mimosa arenosa</i> (Willd.) Poir.	Calumbi
Fabaceae	<i>Piptadenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke	Jurema branca
Fabaceae	<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz	Pau-ferro
Nyctaginaceae	<i>Guapira graciliflora</i> (Mart. ex Schmidt) Lundell	Pau-piranha
Poaceae	<i>Cenchrus ciliaris</i> L.	Capim buffel
Poaceae	<i>Urochloa mosambicensis</i> (Hack.) Dand	Capim corrente
Rhamnaceae	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart	Juazeiro

O capim-buffel (*Cenchrus ciliaris*) e o capim-corrente (*Urochloa mosambicensis*) foram estabelecidos em faixas com um metro de largura e 26 m de comprimento. As culturas agrícolas algodão (*Gossypium hirsutum*), milho (*Zea mays*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) foram implantadas por meio de semeadura direta em covas, com cada espécie sendo alocada

em covas separadas. O número de sementes por cova variou conforme a cultura: cinco sementes para o algodão, quatro para o milho e três para o feijão. O espaçamento entre as culturas foi de 2 metros, enquanto o espaçamento entre as plantas foi de 0,5 m. Houve ainda uma distância de 0,5 metros entre as culturas agrícolas e as faixas de plantas forrageiras. As densidades de plantio foram de 30.000 plantas por hectare para o feijão, 40.000 plantas por hectare para o milho e 50.000 plantas por hectare para o algodão.

2.4. Dados coletados e instrumentos utilizados

2.4.1. Determinação dos teores de N total (%) e das abundâncias naturais de ^{15}N

As amostragens de tecido foliar foram realizadas em cinco indivíduos pertencentes a dois grupos de espécies: (1) espécies-alvo, compostas por leguminosas com capacidade de nodulação conhecida e também por aquelas sem informações na literatura sobre sua capacidade de nodulação; e (2) espécies de referência, formadas por espécies não leguminosas ou leguminosas não nodulantes. A capacidade de nodulação foi verificada com base na literatura (Allen & Allen, 1981; Sprent, 2009; Freitas et al., 2010). Para cada planta, foi coletada uma amostra de 100 a 200 g de folhas saudáveis, completamente expandidas, localizadas entre 1,5 e 2 m de altura na copa (Freitas et al., 2010). Para a coleta dos capins, foram colhidas amostras representativas de 100 a 200 g em cada parcela, dentro de uma área de 0,25 m² (0,5 m × 0,5 m). O material amostrado foi acondicionado em saco de papel e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar (72 horas a 65°C) até peso constante. Posteriormente, as amostras foram processadas, individualmente, em moinho de facas do tipo Wiley TE-680, resultando em um pó fino que foi enviado para determinação dos teores de N total (%) e das abundâncias naturais de ^{15}N (‰) em espectrômetro de massa Thermo Quest-Finnigan Delta Plus (Finnigan-MAT; CA, USA) com interface com um Analisador Elementar (Carlo Erba model 1110; Milan, Italy), no Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP). Os valores de abundância natural de ^{15}N foram expressos em unidades de “delta” ($\delta^{15}\text{N}$), que representa o desvio por mil, em relação ao N_2 atmosférico, da razão entre as massas de ^{15}N e ^{14}N do nitrogênio contido na amostra:

$$\delta = (\text{Ramostra}/\text{Rpadr\~{a}o} - 1) \times 1000$$

Onde: Ramostra e Rpadrão são as razões $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ da amostra e do padrão (N_2 atmosférico). O percentual de nitrogênio derivado do ar (%N_{dda}), em cada espécie de leguminosa, foi calculado quando houver diferença significativa entre seus sinais isotópicos e o das espécies referência (algodão), utilizando a fórmula descrita por Shearer e Kohl (1986):

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

Onde: $\delta^{15}N(\text{referência})$ é o valor médio de $\delta^{15}N$ das espécies referência de cada parcela; $\delta^{15}N(\text{fixadora})$ é o valor médio de $\delta^{15}N$ de cada espécie fixadora de cada parcela e B é o valor de $\delta^{15}N$ na parte aérea da leguminosa quando a planta cresce em sistema sem nitrogênio. Neste estudo foi utilizado o valor $B = -1.24\%$, determinado por Reis Jr. et al. (2010).

A quantidade de N acumulado na parte aérea das espécies alvo, em cada tratamento, foi estimada pelo produto das concentrações de N das biomassas secas da parte aérea. As quantidades de N fixadas ($\text{kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) foram obtidas multiplicando as quantidades de N total pelos resultados de %N_{dda} médios de cada espécie. As leguminosas nodulantes utilizadas foram: Feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L), jurema branca (*Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke), angico (*Anadenanthera macrocarpa*, e as plantas referencias foram a catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) e o Marmeleiro (*Croton sonderianus* Müll. Arg.)

2.4.2. Tratamentos dos dados e análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-wilk e de homoscedasticidade de Bartlett. Atendido aos princípios estabelecidos, foram avaliados mediante análise de variância, pelo teste F ($p < 0,05$) e nos casos de significância estatística, as médias foram comparadas através do teste de Tukey, adotando um nível de significância de 5%, utilizando o software SAS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)

A composição isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ das espécies fixadoras e das espécies referência não diferiu significativamente entre os sistemas agroflorestais e a área de Caatinga nativa (Tabela 3). De modo geral, essas espécies apresentaram valores mais baixos de $\delta^{15}\text{N}$ em relação às espécies referência *Croton sonderianus* e *Caesalpinia pyramidalis* (3,285 a 4,50‰), indicando uma maior dependência da fixação biológica de nitrogênio (FBN).

No sistema com feijão, *Piptadenia stipulacea* apresentou valor de $\delta^{15}\text{N}$ de 1,41‰, enquanto *Vigna unguiculata* registrou 0,57‰, evidenciando um elevado nível de FBN. No cultivo com algodão, *Piptadenia stipulacea* apresentou valor de 1,88‰, e no sistema com milho, *Anadenanthera macrocarpa* registrou 1,71‰ (Tabela 3). Esses valores reforçam a capacidade dessas leguminosas em adquirir nitrogênio atmosférico via FBN, reduzindo a dependência de fontes externas do nutriente.

Em um trabalho realizado por Garcia-Palacios et al. (2022), sistemas intercalados de milho com leguminosas melhoraram a ciclagem de nitrogênio e reduziram a necessidade de fertilizantes sintéticos, uma estratégia essencial para regiões semiáridas. A baixa concentração de ^{15}N observada nas leguminosas reflete a alta eficiência na FBN, o que resulta em menor dependência do nitrogênio mineralizado do solo (Chalk et al., 2016).

Adicionalmente, Ma et al. (2022) destacam que *Vigna unguiculata* é altamente eficiente na FBN, especialmente em condições de estresse hídrico, como ocorre na Caatinga. A capacidade dessas plantas de estabelecer simbioses eficazes com microrganismos dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, entre outros, não só melhora a fertilidade do solo, mas também contribui para a resiliência do sistema frente às mudanças climáticas.

Os teores de nitrogênio total (%N) também não apresentaram diferenças significativas entre as espécies fixadoras (Tabela 3), com valores variando de 1,99% em *Piptadenia stipulacea* no sistema com algodão a 2,47% em *Vigna unguiculata* no sistema com feijão. Entre as espécies de referência, os valores oscilaram entre 1,57% em *Croton sonderianus* no sistema com algodão e 2,03% no sistema com milho, sem diferenças estatísticas.

A composição isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ não diferiu significativamente entre as espécies fixadoras, apresentando valores entre -30,32‰ em *Anadenanthera macrocarpa* no sistema com milho e -29,63‰ em *Vigna unguiculata* no sistema com feijão. Entre as espécies de referência, também não houve diferença estatística, com valores variando de -29,40‰ em

Croton. sonderianus no sistema com algodão a -28,37‰ em *Caesalpinia pyramidalis* no sistema com feijão.

Para o teor de carbono total (%C), foi observada diferença significativa entre *Vigna unguiculata* (41,00%) no sistema com feijão e *Piptadenia stipulacea* (46,41%) na Caatinga, apresentando maiores teores. Nos demais sistemas e espécies fixadoras, não houve diferença estatística. Essa estabilidade sugere que tanto a Caatinga quanto os sistemas agroflorestais são eficazes na assimilação de carbono e na manutenção da biomassa vegetal. A maior concentração em espécies como *Piptadenia stipulacea* pode estar relacionada à sua adaptação ao estresse ambiental, Tian et al. (2023) demonstraram que a maior diversidade de plantas e o maior acúmulo de carbono, especialmente na biomassa radicular e na produção de serapilheira, estão positivamente associados ao aumento dos estoques de carbono no solo, contribuindo para a resiliência dos ecossistemas.

Entre as espécies de referência, não foram detectadas diferenças significativas, com valores variando de 43,46% em *C. sonderianus* no sistema com milho a 45,43% em *Caesalpinia pyramidalis* no sistema com feijão. Por fim, a relação C/N não apresentou diferenças significativas entre as espécies fixadoras, com valores variando de 18,84 em *Vigna unguiculata* no sistema com feijão a 22,43 em *Piptadenia stipulacea* no sistema com algodão. Da mesma forma, entre as espécies de referência, os valores oscilaram entre 25,42 em *Croton sonderianus* na Caatinga e 28,08 em *Piptadenia stipulacea* no sistema com algodão, sem diferenças estatísticas.

Tabela 3: Medias da composição isotópica do ^{15}N e ^{13}C , carbono total (%), nitrogênio total (%N) e relação carbono nitrogênio (C/N), das espécies fixadoras e das referências do sistema agroflorestral e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada, Pernambuco.

Itens	Sistemas Agroflorestais				EPM	Valor P
	Algodão	Feijão	Milho	Caatinga		
	Espécies fixadoras					
	<i>Piptadenia stipulacea</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	<i>Piptadenia stipulacea</i>		
$^{15}\text{N}\%$	1.88a	0.57a	1.71a	1.41a	0,28	0,495
N%	1.99a	2.02a	2.28a	2.47a	0,10	0,340
^{13}C	-30.30a	-29.63a	-30.32a	-29.96a	0,17	0,490
C%	44.17ab	41.00b	46.02a	46.41a	0,83	0,085
CN	22.43a	20.55a	20.53a	18.84a	0,67	0,373

Sistemas Agroflorestais						
	Algodão	Feijão	Milho	Caatinga	EPM	Valor P
Itens	Espécies referência					
	<i>Croton sonderianus</i>	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	<i>Croton sonderianus</i>	<i>Croton sonderianus</i>		
15N%	3.73a	3.28a	4.50a	3.09a	0,38	0,641
N%	1.57a	1.71a	2.03a	1.79a	0,12	0,659
13C	-29.40a	-28.37a	-28.76a	-29.14a	0,31	0,519
C%	43.86a	45.43a	43.46a	43.79a	0,59	0,775
CN	28.08a	27.21a	26.43a	25.42a	1,39	0,913

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($P < 0,05$).

A análise dos dados referentes ao percentual de nitrogênio derivado da atmosfera (%NDDA), à concentração de nitrogênio total (kg/ha) e ao nitrogênio fixado (kg/ha) revelou diferenças significativas entre as espécies avaliadas no sistema agroflorestal e na área de Caatinga nativa (Tabela 4).

Os valores de %NDDA indicam variações importantes entre as espécies. O *Vigna unguiculata* apresentou uma proporção de 59,73% de N derivado da atmosfera, revelando elevada eficiência na fixação biológica de nitrogênio (FBN), comportamento esperado para leguminosas cultivadas em sistemas agroflorestais bem estruturados. Esse resultado está em consonância com Almeida et al. (2016), que destacam a eficiência do *Vigna unguiculata* na fixação de N em diferentes sistemas produtivos. Além disso, os achados de Ngwenya, Mohammed e Dakora (2024) corroboram esses dados ao demonstrar que leguminosas com baixos valores de $\delta^{15}\text{N}$ tendem a exibir altos percentuais de NDDA (Tabela 4), evidenciando a relação entre a assinatura isotópica do nitrogênio e a eficiência da FBN.

Por outro lado, *Piptadenia stipulacea* apresentou valores de NDDA inferiores, tanto no sistema com algodão (38,48%) quanto na área de Caatinga nativa (39,38%) (Tabela 4). Isso indica menor eficiência na fixação de N em comparação ao *Vigna unguiculata*, resultado que pode estar relacionado a fatores edafoclimáticos e às interações específicas do ambiente. Souza et al. (2012) também observaram esse comportamento, destacando que a FBN em leguminosas arbóreas pode ser influenciada pelas características do solo e pelo manejo adotado.

A espécie *Anadenanthera macrocarpa*, cultivada no sistema com milho, apresentou valor intermediário de 47,83% de NDDA. Embora inferior ao do *Vigna unguiculata*, esse

percentual reflete uma capacidade moderada de fixação de N, o que, segundo Souza et al. (2012), pode contribuir para a melhoria da fertilidade do solo em sistemas agroflorestais.

Freitas et al. (2012) complementam essa análise ao mostrarem que a variedade de *Vigna unguiculata* 'Costela de Vaca' foi capaz de absorver quase 80% do N acumulado diretamente da atmosfera, com potencial de aporte de 45 kg N ha⁻¹ em cultivos solteiros. Outras variedades também apresentaram NDDA% variando de 43% a 58%. No entanto, a biomassa influenciou diretamente a quantidade de N fixado, que variou de 22 a 30 kg N ha⁻¹. Quando cultivado em consórcio, como é comum no Semiárido, a redução da produtividade impactou negativamente o N fixado. Esses dados reforçam que a escolha da variedade e do sistema de cultivo são determinantes para otimizar a FBN.

No que se refere à concentração de nitrogênio total (kg/ha), o *Vigna unguiculata* destacou-se com 13,60 kg/ha, superando significativamente as demais espécies (Tabela 4). Esse resultado corrobora os achados de Souza et al. (2012), que ressaltam a eficiência dessa cultura tanto na FBN quanto na melhoria dos atributos químicos do solo. *Piptadenia stipulacea* apresentou concentrações de 6,36 kg/ha no sistema com algodão e 4,45 kg/ha na Caatinga, enquanto o *Anadenanthera macrocarpa* apresentou 4,36 kg/ha, valores relativamente próximos.

Em relação ao nitrogênio fixado, o *Vigna unguiculata* também apresentou o maior valor (8,13 kg/ha), reafirmando sua importância na fertilidade do solo. A *Piptadenia stipulacea* fixou 2,26 kg/ha no sistema com algodão e 1,74 kg/ha na Caatinga, enquanto o angico fixou 2,04 kg/ha. Esses resultados estão alinhados com os de Figueiredo et al. (2008), que destacam o papel das leguminosas na ciclagem do nitrogênio nos ecossistemas tropicais (Tabela 4).

A sustentabilidade dos sistemas agroflorestais em regiões semiáridas depende fortemente da FBN, que contribui para a recuperação da fertilidade do solo. A escolha das espécies e o manejo adequado dos sistemas são fundamentais. Ngwenya et al. (2024) observaram que o arranjo e o tipo de cultivo influenciam diretamente o %NDDA, evidenciando a necessidade de estratégias bem planejadas para maximizar a eficiência da FBN.

Dados preliminares de Borré (2023), obtidos em um experimento com *Urochloa brizantha* cv. Marandu e *Macroptilium axillare* cv. Java, indicam que 85% do N total foi proveniente da FBN. Essa contribuição variou sazonalmente, alcançando 40,10 kg N ha⁻¹ na primavera/verão (águas) e 35,23 kg N ha⁻¹ no outono/inverno (seca). Esses dados reforçam a importância dos fatores ambientais na dinâmica da FBN.

Por fim, Martins et al. (2015) avaliaram a FBN em dois sistemas: tradicional (feijão-caupi consorciado com milho) e agroflorestal (entre linhas de *Gliricidia sepium* e *Manihot*

glaziovii). Em ambos, a simbiose com bactérias nativas forneceu de 62% a 68% do N necessário. No sistema tradicional, cerca de 30 kg N ha⁻¹ foram fixados, dos quais 11 kg N ha⁻¹ foram exportados nos grãos e 18 kg N ha⁻¹ permaneceram na palhada. No sistema agroflorestal, a fixação foi reduzida para 2,7 kg N ha⁻¹, devido à baixa produtividade, reflexo da competição das árvores por recursos como luz, água e nutrientes, conforme apontado por Pérez-Marin et al. (2007).

Tabela 4 Percentual de N derivado da atmosfera (NDDA%), concentração de N total (kg/ha) e N fixado (kg/ha) em sistema agroflorestal e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada, Pernambuco

Itens	Sistemas Agroflorestais				EPM	Valor P
	Algodão	Feijão	Milho	Caatinga		
	<i>Piptadenia stipulacea</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Anadenanthera macrocarpa</i>	<i>Piptadenia stipulacea</i>		
NDDA%	38.48b	59.73a	47.83ab	39.38b	0,20	0,195
N total(Kg/ha)	6.36b	16.60a	4.36b	4.45a	0,04	0,115
N fixado (Kg/ha)	2.26b	8.13a	2.04b	1.74b	0,08	0,812

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro (P<0,05).

Com base nos dados obtidos nesta pesquisa, reforça-se ainda mais o papel ecológico fundamental desse bioma. Ao demonstrar essa capacidade, valoriza-se ainda mais a Caatinga como um ecossistema rico, diverso e com potencial para o uso sustentável de seus recursos naturais. Esse conhecimento contribui não apenas para a educação ambiental da população, mas também para atrair investimentos voltados à conservação e ao desenvolvimento sustentável, socioeconômico da região

Os valores médios da composição isotópica do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), composição isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$), teor total de carbono (C%), teor total de nitrogênio (N%) e a relação carbono/nitrogênio (C/N) foram analisados para as gramíneas *Cenchrus ciliaris* L. e *Urochloa mosambicensis*, presentes em diferentes sistemas agroflorestais, bem como em área de Caatinga nativa (Tabela 5).

Para *Cenchrus ciliaris* L., observou-se que o sistema com algodão apresentou valor significativamente maior de $\delta^{15}\text{N}$ (3,71‰) em comparação aos demais sistemas: feijão (4,44‰), milho (3,95‰) e Caatinga (4,06‰). Essa variação sugere que o sistema de cultivo influencia a composição isotópica do nitrogênio nessa gramínea. Por outro lado, para *Urochloa mosambicensis*, os valores de $\delta^{15}\text{N}$ foram estatisticamente semelhantes entre os sistemas, indicando menor sensibilidade dessa espécie ao tipo de manejo adotado.

Em relação ao teor de nitrogênio total (%), *Cenchrus ciliaris* apresentou valor mais elevado no sistema com milho (1,36%), superando significativamente os sistemas com algodão (1,12%), feijão (1,28%) e a Caatinga (1,15%). O mesmo padrão foi identificado em *Urochloa mosambicensis*, com maior concentração de N no sistema com milho (2,09%) em relação aos demais (variação de 1,65% a 1,75%, sem diferenças significativas). A maior concentração de nitrogênio nas folhas, mesmo sem adubação nitrogenada, pode estar relacionada às características fisiológicas de gramíneas C4, que são mais eficientes na absorção e no uso de nitrogênio, especialmente em ambientes quentes e secos (Ciampitti & Vyn, 2012).

A composição isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de *Cenchrus ciliaris* L. variou de -12,64‰ a -12,41‰, enquanto em *Urochloa mosambicensis* os valores oscilaram entre -12,22‰ e -18,99‰, sem diferenças estatísticas significativas entre os sistemas. Os teores de carbono total também se mantiveram estáveis: entre 37,12% e 38,66% para *Cenchrus ciliaris*, e entre 39,35% e 39,63% para *Urochloa mosambicensis*.

Quanto à relação C/N, *Cenchrus ciliaris* não apresentou diferenças significativas entre os sistemas, com valores entre 28,67 e 32,45. Já para *Urochloa mosambicensis*, houve diferença significativa no sistema com milho (18,97), em comparação ao sistema com algodão (23,54), que apresentou o maior valor. Os demais sistemas mostraram valores próximos (entre 22,82 e 23,00), sem variações relevantes.

As gramíneas, de forma geral, apresentam menor teor de nitrogênio e maior relação C/N, o que favorece uma decomposição mais lenta da biomassa, prolongando a cobertura do solo e contribuindo para a proteção contra erosão e melhoria da estrutura do solo. Em contrapartida, as leguminosas, com teores mais elevados de N e menor relação C/N, promovem decomposição mais rápida e maior liberação de nutrientes (Tiecher et al., 2016). A menor relação C/N de *Urochloa mosambicensis* no sistema com milho pode indicar maior disponibilidade de nitrogênio no solo, possivelmente relacionada à presença de leguminosas no consórcio agroflorestal, o que favorece a mineralização e a absorção de N pelas gramíneas (Bünnemann et al., 2018).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ obtidos neste estudo estão em consonância com os resultados de Liu et al. (2022), que observaram diferenças significativas na abundância natural de ^{15}N entre plantas C3 e C4 em uma zona agropastoril no norte da China. O estudo demonstrou que plantas C3 tendem a apresentar valores médios de $\delta^{15}\text{N}$ menores do que plantas C4, o que pode ser atribuído às diferenças no metabolismo do carbono e na utilização de nitrogênio entre os dois grupos funcionais.

Tabela 5: Médias da composição isotópica do N ($\delta^{15}\text{N}$) C ($\delta^{13}\text{C}$), carbono total (%), nitrogênio total (%) e relação carbono nitrogênio (C/N), das gramíneas do sistema agroflorestal e da área de Caatinga nativa em Serra Talhada, Pernambuco.

Sistemas Agroflorestais						
Itens	Algodão	Feijão	Milho	Caatinga	EPM	Valor P
	<i>Cenchrus ciliaris L</i>					
15N%	3.71b	3.95ab	4.06ab	4.44a	0,20	0,195
N%	1.12b	1.28ab	1.36a	1.15ab	0,04	0,115
13C	-12.64a	-12.41a	-12.41a	-12.43a	0,08	0,812
C%	38.63a	38.22a	38.66a	37.12a	0,28	0,228
CN	29.65a	28.67a	28.67a	32.45a	1,26	0,547
Itens	Algodão	Feijão	Milho	Caatinga	EPM	Valor P
	<i>Urochloa mosambicensis</i>					
15N%	3.51a	4.03a	4.01a	4.07a	0,13	0,251
N%	1.65b	1.75b	2.09a	1.75b	0,08	0,002
13C	-13.47a	-13.21a	-12.22a	-18.99a	1,44	0,463
C%	39.63a	39.62a	39.35a	39.37a	0,16	0,916
CN	23.54a	23.00a	18.97b	22.82a	1,00	0,045

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($P < 0,05$).

Apesar dos valores relativamente elevados de $\delta^{15}\text{N}$ observados para as gramíneas *Cenchrus ciliaris L.* e *Urochloa mosambicensis*, especialmente no sistema com algodão, não se pode descartar a possibilidade de contribuição de microrganismos diazotróficos associados a essas espécies. Diversos estudos têm indicado que gramíneas C4 podem estabelecer associações com bactérias fixadoras de nitrogênio do tipo endofíticas ou rizosféricas, que contribuem com pequenas, mas ecologicamente relevantes, quantidades de nitrogênio atmosférico para a planta (Tabassum et al., 2017; Santos et al., 2020). Portanto, mesmo diante de valores de $\delta^{15}\text{N}$ que sugerem uma absorção predominante de N derivado do solo, a presença de microrganismos diazotróficos pode estar contribuindo para o suprimento de nitrogênio, especialmente em sistemas agroflorestais com diversidade funcional elevada, nos quais se observa maior disponibilidade de nutrientes e interações benéficas entre espécies (Drumond et al., 2021; Bosqueiro et al., 2017).

4. CONCLUSÕES

A implantação de sistemas agroflorestais no semiárido pernambucano contribuiu para o aporte de nitrogênio atmosférico. O *Vigna unguiculata* L cultivado no sistema com feijão, apresentou a maior eficiência de fixação; O *Anadenanthera macrocarpa*, no sistema com milho, e *Piptadenia stipulacea*, no sistema com algodão e na Caatinga nativa, também fixaram nitrogênio, com eficiências distintas. Os sistemas agroflorestais avaliados mostraram-se eficientes para a fixação biológica de nitrogênio, com variações conforme as espécies e arranjos adotados.

5. REFERÊNCIAS

- ALBRIGHT M.B.N. Chase AB, Martiny JBH.2019.Experimental Evidence that Stochasticity Contributes to Bacterial Composition and Functioning in a Decomposer Community. *mBio*10:10.1128/mbio.00568-19.<https://doi.org/10.1128/mbio.00568-19>
- ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. The Leguminosae: a source book of characteristics, use and nodulation. Wisconsin: University of Wisconsin, 1981. 812 p. DOI: 10.1007/978-1-349-06142-6.
- ALMEIDA, D.O.; BAYER, C.; ALMEIDA, H.C. Fauna e atributos microbiológicos de Argissolo sob sistemas de cobertura no Sul do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.51, n.9, p. 1140-1147, 2016.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANDRADE, M. F., Siqueira, T. . da S., de Souza, J. C. G., Carvalho, L. H. M., da Silva, M. A. D., & Simplício, J. B. (2023). Fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi em resposta á inoculação com bradyrhizobium e diferentes doses de molibdênio. *REVISTA DELOS*, 16(45), 1748–1759. <https://doi.org/10.55905/rdelosv16.n45-017>
- ANTONGIOVANNI, M.; VENTICINQUE, E. M.; FONSECA, C. R. Fragmentation patterns of the Caatinga drylands. *Landscape Ecology*, v. 33, n. 8, p. 1353–1367, 20 ago. 2018.
- ARAÚJO FILHO, J. C.; ARAÚJO, M. S. B.; BURGOS, N.; MARQUES, F. A. Solos da Caatinga. In: CURI, N.; KER, J. C.; NOVAIS, R. F.; VIDAL-TORRADO, P.; SCHAEFER, C. E. G. R. 110 Agricultura de baixa emissão de carbono em regiões semiáridas (ed.). *Pedologia: solos dos Biomas Brasileiros*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2017. p. 227-260.
- BARBOSA, D. L. S.; SILVA, D. M.; SOUSA JÚNIOR, E. L.; ALMEIDA, K. S.; IWATA, B. F. Composição florística e índice de diversidade como método de transição inicial para agrofloresta na Caatinga. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.12, n.10, p.71-80, 2021. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.010.0007>
- BERRADA, Halima, and Kawtar Fikri-Benbrahim. 2014. "Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives". *Microbiology Research Journal International* 4 (6):616-39. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2014/5635>.
- BORRÉ, J. G. Ciclagem de N em pastagens tropicais consorciadas com leguminosa forrageira ou fertilizada com N. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo), Instituto de Agronomia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Seropédica, 80 f., 2023.

- BRADY, N. C. & RAY R. W. Elementos da natureza e propriedades dos solos. **Bookman** Editora, 2009.
- Bünemann EK, Bongiorno G, Bai Z, Creamer RE, Dedeyn G, Goede R, Fleskens L, Geissen V, Kuyper TW, Mäder P, Pulleman M, Sukkel W, Van Groenigen JW, Brussaard L (2018) Soil Quality - A critical review. *Soil Biology and Biochemistry* 120:105-125.
- BURFORD, R.; FRYZUK, M. D. Examining the relationship between coordination mode and reactivity of dinitrogen. *Nature Reviews Chemistry*, London, v. 1, n. 26, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41570-017-0026>.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; VENEGAS, V. H. A.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.
- CARSAN, S. et al. Can agroforestry option values improve the functioning of drivers of 42 agricultural intensification in Africa? *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 6, n. 1, p. 35–40, 2014.
- CARVALHO A.M, Bustamente MMC, Sousa Junior JGA, Vivaldi J. Decomposição de resíduos vegetais em latossolo sob cultivo de milho e plantas de cobertura. *Rev Bras Cienc. Solo*. 2008.
- CASSETARI, A. S.; SILVA, M. C. P.; CARDOSO, E. J. B. N. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. *Microbiologia do solo*. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. cap. 8, p.111-131.
- CHALK, P. M.; Inácio, C.T.; Balieiro, F. C.; Rows, J. R. C. Do techniques based on ¹⁵N enrichment and ¹⁵N natural abundance give consistent estimates of the symbiotic dependence of N₂ -fixing plants? *Plant Soil*, New York, v. 399, p. 415-426, 2016.
- CIAMPITTI, I. A., & Vyn, T. J. (2012). *Physiological perspectives of changes over time in maize yield dependency on nitrogen uptake and associated nitrogen efficiencies: A review*. *Field Crops Research*, 133, 48-67.
- COLFF, D. V. der; DREYER, L. L.; VALENTINE, A.; ROETS, F. Comparison of nutrient cycling abilities between the invasive *Acacia meranti* and the native *Virgilia divaricate* trees growing sympatric ally in forest margins in South Africa. *South African Journal of Botany*, v. 111, p. 358–364, 1 Jul. 2017.
- COLLIER L.S, Arruda EM, Campos LFC, Nunes, JNV. Soil chemical attributes and corn productivity grown on legume stubble in agroforestry systems. *Rev Caatinga*. 2018; 31: 279-289.
- CONSELHO DELIBERATIVO DA SUDENE (CONDEL). Resolução Condel/Sudene Nº 176, de 04 de janeiro de 2024. Brasília, 08 jan. 2024. Seção 1. Disponível em: <https://www.gov.br/sudene/ptbr/acesoinformacao/legislacao/hierarquia/resolucoescondel/resolucao-condel-sudene-no-176-de-3-de-janeiro-de-2024>.

- COOKSON, W.R.; MURPHY, D.V. & ROPER, M.M. Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biol. Biochem.*, 40:763-777, 2008.
- COSTA, C. C. A. et al. Análise comparativa da produção de serrapilheira em fragmentos arbóreos e arbustivos em área de caatinga na Flona de Açú - RN. *Revista Árvore*, Viçosa, MG, n. 34, v. 2, p. 259-265, 2010.
- DRUMOND, M. A., Ribaski, J., Ribeiro De Oliveira, V., Alves, J., Foto, T., & Buhner, R. (2021). *Sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) como alternativa para diversificação de renda noSemiárido brasileiro: Vol. cap. 30.*
- DUCATTI, C.; MARTINS, C.L.; ARRIGONI, M.B.; MARTINS, M.B.; VIEIRA JÚNIOR, L.C. & DENADAI, J.C. Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.68-75, 2011.
- EINSLE, O.; REES, D. C. Structural Enzymology of Nitrogenase Enzymes. *Chemical Reviews*, v. 120, n. 12, p. 4969-5004, 2020.
- ELEVITCH, C. R.; MAZAROLI, D. N.; RAGONE, D. Agroforestry Standards for Regenerative Agriculture. **Sustainability 2018, Vol. 10, Page 3337**, v. 10, n. 9, p. 3337,18 set. 2018.
- FERNANDES, Mariana F.; CARDOSO, Daniela; QUEIROZ, Luciano P. de. An updated plant checklist of the Brazilian Caatinga seasonally dry forests and woodlands reveals high species richness and endemism. *Journal of Arid Environments*, 2020. v. 174, p. 104079.
- FERREIRA, T. C. et al. Ultrasound and water immersion to promoting vigor in seeds and seedlings of *Cnidocolus quercifolius*. *Biofix Scientific Journal*, v. 6, n. 1, p. 69-74, 2021. <http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v6i1.77513>.
- FIGUEIREDO, M.V.B.; MARTINEZ, C.R.; BURITY, H.A.; CHANWAY, C.P. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World J. Microbiol. Biotech.*, 24:1187-1193, 2008.
- FILARDI, F. L. Ranzato et al. Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, p.1513-1527, 2018. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>
- FREITAS, A.D. S., Sampaio, E.V.S.B., Santos, C.E.R.S., 2010. Abundância natural do ¹⁵N para quantificação da fixação biológica do nitrogênio em plantas, in: Figueiredo, M.V.B., Burity, H.M., Oliveira, J.P., Santos, C.E.R.S, Stamford, N.P. (Eds.), *Biocologia Aplicada à Agricultura - Textos de Apoio e Protocolos Experimentais*. Embrapa Informação Tecnológica; Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Brasília, pp.505-517
- FREITAS, M. do S. C. de; SOUTO, J. S.; GONÇALVES, M.; ALMEIDA, L. E. da S.; SALVIANO, A. M.; GIONGO, V. Decomposition and nutrient release of cover crops in mango cultivation in Brazilian Semi-Arid region. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 43, p. 1-21, 2012

- GARCIA, L. T.; PAULUS, L. A. R.; FERNANDES, S. S. L.; ARCO-VERDE, M. F.; PADOVAN, M. P.; PEREIRA, Z. V. Viabilidade financeira de sistemas agroflorestais biodiversos no Centro Oeste Brasileiro. *Research, Society and Development*, v. 10, p. e47210413682, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i4.13682
- GEESING, D., FELKER, P., & BINGHAM, R. L. Influence of mesquite (*Prosopis glandulosa*) on soil nitrogen and carbon development: Implications for global carbon sequestration. *Journal of Arid Environments*, v. 46, n. 2, p. 157-180, 2000.
- HAYATSU, M.; TAGO, K.; SAITO, M. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Science and Plant Nutrition*, v. 54, n. 1, p. 33-45, 2008.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. *Biomass e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250.000*. Rio de Janeiro, Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. 168 p. (Relatórios metodológicos, v. 45).
- INMET. (2018). Instituto Nacional de Meteorologia (2018). “Normais Climatológicas do Brasil (1991-2020)”. Brasília.
- IVLEVA, N. B.; GROAT, J.; STAUB, J. N.; STEPHENS, M. Expression of active subunit of nitrogenase via integration into plant organelle genome. *PLoS ONE*, v. 11, n. 8, p. e0160951, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0160951>. Acesso em: 31 out. 2021.
- IWATA, B. F., BRANDÃO, M. L. S. M., BRAZ, R. S., LEITE, L. F. C., COSTA, M. C. G. Total and particulate contents and vertical stratification of organic carbon in agroforestry system in Caatinga. *Rev. Caatinga*, Mossoró, v. 34, n. 2, p. 443 – 451, abr. – jun., 2021
- LAUGHLIN, R. J.; Stevens, R. J.; Müller, C.; Watson, C. J. Evidence that fungi can oxidize NH_4^+ to NO_3^- in a grassland soil. *European Journal of Soil Science*, v. 59, n. 2, p. 285-291, 2008.
- LIU, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; SU, Q.; FENG, T.; SONG, Y. ^{15}N Natural Abundance of C_3 and C_4 Herbaceous Plants and Its Response to Climatic Factors along an AgroPastoral Zone of Northern China. *Plants*, 11, 3526, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11243526>
- LORENZ, K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration in agroforestry systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 34, p. 443–454, 2014.
- MA, Jiangyong; OLIN, Stefan; ANTHONI, Peter; RABIN, Sam S.; BAYER, Anita D.; NYAWIRA, Sylvia S.; ARNETH, Almut. Modeling symbiotic biological nitrogen fixation in grain legumes globally with LPJ-GUESS. *Geoscientific Model Development*, v. 15, n. 1, p. 815–839, 2022. DOI: <https://doi.org/10.5194/gmd-15-815-2022>.
- MAGALHÃES, C. A. S. et al. Improvement of thermal comfort indices in agroforestry systems in the southern Brazilian Amazon. *Journal of Thermal Biology*, v. 91, p. 102636, 1 jul. 2020.

- MARINHO, R. de C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; ZILLI, J. E.; XAVIER, G. R.; SANTOS, C. A. F.; AIDAR, S. de T.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JUNIOR, P. I. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with efficient nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, n. 5, p. 395-402, maio 2014. DOI: 10.1590/S0100-204X2014000500009.
- MARQUES, A. C. R.; OLIVEIRA, L. B.; NICOLOSO, F. T.; JACQUES, R. J. S.; GIACOMINI, S. J.; QUADROS, L. F. F. Biological nitrogen fixation in C4 grasses of different growth strategies of South America natural grasslands. *Applied Soil Ecology*, v. 113, p. 54-62, 2017.
- MARTINELLI, L.; OMETTO, J.P.; FERRAZ, E.; VICTORIA, R.; CAMARGO, P.B.; MOREIRA, M. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. São Paulo: Oficina de Textos, 2009.
- MARTINS, J. C. R.; FREITAS, A. D. S. de; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. de S. B. Nitrogen symbiotically fixed by cowpea and gliricidia and agroforestry systems under semiarid conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 50, n. 2, p. 178-184, fev. 2015. DOI: 10.1590/S0100-204X2015000200010.
- MARTINS, J. C. R.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SANTOS, A. F. dos; NAGAI, M. A. Produtividade de biomassa em sistemas agroflorestais e tradicionais no Cariri Paraibano. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, n. 6, p. 581-587, jun. 2013. DOI: 10.1590/S1415-43662013000600002.
- MASSON-BOIVIN, C.; Sachs, J. L. Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia — the roots of a success story. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 44, p. 7-15, 2018.
- MICCOLIS, Andrew; PENEIREIRO, Fabiana Mongeli; VIEIRA, Daniel Luis Mascia; MARQUES, Henrique Rodrigues; HOFFMANN, Maurício Rigon Moura. Restoration through agroforestry: Options for reconciling livelihoods with conservation in the Cerrado and Caatinga biomes in Brazil. *Experimental Agriculture*, v. 55, n. S1, p. 208–225, 24 jun. 2019.
- MOKGEHLE, S. N.; DAKORA, F. D.; MATHEWS, C. Variation in N₂ fixation and N contribution by 25 groundnut (*Arachis hypogaea* L.) varieties grown in different agro-ecologies, measured using ¹⁵N natural abundance. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, p. 161–172, out. 2014.
- MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, Teresina, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

- NEVES, L. V. D. M. W.; FRACETTO, F. J. C.; FRACETTO, G. G. M.; DE ARAUJO FILHO, J. C.; ARAUJO, J. K. S.; DOS SANTOS, J. C. B.; DE SOUZA JUNIOR, V. S. Microbial abundance and C and N stocks in tropical degraded Planosols from semiarid northeastern Brazil. *Catena*, v. 196, p. 104931, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104931>.
- NGWENYA, Z. D.; MOHAMMED, M.; DAKORA, F. D. Monocropping and Intercropping of Maize with Six Food Legumes at Malkerns in Eswatini: Their Effects on Plant Growth, Grain Yield and N₂ Fixation, Measured using the ¹⁵N Natural Abundance and Ureide Techniques. *Symbiosis*, 1-13, 2024. <https://doi.org/10.1007/s13199-024-00971-x>
- OLIVEIRA, J. V. et al. Fauna and conservation in the context of formal education: a study of urban and rural students in the semi-arid region of Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 16, p. 1-15, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00374-4>.
- PACIULLO, D. S. C. et al. Performance of dairy heifers in a silvopastoral system. *Livestock Science*, v. 141, n. 2–3, p. 166–172, 1 nov. 2011.
- PAVLIDIS, George; TSIHRINTZIS, Vassilios A. Environmental benefits and control of pollution to surface water and groundwater by agroforestry systems: A review. *Water Resources Management*, v. 32, p. 1-29, 2018. DOI: 10.1007/s11269-017-1805-4.
- PÉREZ-MARIN, A. P.; MENEZES, R. S. C.; SALCEDO, I. H. Produtividade de milho solteiro ou em aléias de gliricídia adubado com duas fontes orgânicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, n. 5, p. 669-677, maio 2007. DOI: 10.1590/S0100-204X2007000500009.
- RAPISARDA, P.; CAMIN, F.; FABRONI, S.; PERINI, M.; TORRISI, B.; INTRIGLIOLO, F. Influence of different organic fertilizers on quality parameters and the $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{34}\text{S}$, and $\delta^{18}\text{O}$ values of orange fruit (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 58, p. 3502-3506, 2010.
- REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M. Fixação biológica de nitrogênio: fundamentos e aplicações. In: AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A.; QUECINE-VERDI, M. C.; LACAVALA, P. T. (Orgs.). *Biotecnologia microbiana ambiental*. Maringá: EDUEM, 2018. p.125-152.
- REIS JÚNIOR, F. B.; SIMON, M. F.; GROSS, E.; BODDEY, R. M.; ELLIOTT, G. N.; ELIAS NETO, N.; LOUREIRO, M. F.; QUEIROZ, L. P.; SCOTTI, M. R.; CHEN, W. M.; NORÉN, A.; RUBIO, M. C.; FARIA, S. M.; BONTEMPS, C.; GOI, S. R.; YOUNG, J. P. W.; SPRENT, J. I.; JAMES, E. K. Nodulation and nitrogen fixation by *Mimosa* spp. in the cerrado and caatinga biomes of Brazil. *New Phytologist*, v. 186, n. 4, p. 934–946, 2010. DOI:10.1111/j.1469-8137.2010.03267.x.
- RIBEIRO, J. M. Dinâmica do carbono orgânico em cronossequências de uso do solo no Cerrado mineiro: mudanças nos estoques e simulação com o modelo Century. 2020. 96 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros. Rodriguésia, v. 66, p. 1085-1113, 2015
- RIBEIRO, J. M. et al. Fertilidade do solo e estoques de carbono e nitrogênio sob sistemas agroflorestais no Cerrado Mineiro. *Ciência Florestal*, v. 29, n. 2, p. 913–923, 2019.

- Rogério Bosqueiro, Ana Clara Rocha, & Orlando Lucato. (2017). HF+Floresta = Sistemas Agroflorestais (SAF's). É Possível Produzir Todos Num Espaço Só? *CEPEA-ESALQ/USP, Ano 16 Nº169*, 42.
- SACRAMENTO, J. A. A. S. Do; Araújo, A. C. de M.; Escobar, M. E. O.; Xavier, F. A. da S.; Cavalcante, A. C. R.; Oliveira, T. S. de. Soil carbon and nitrogen stocks in traditional agricultural and agroforestry systems in the semiarid region of Brazil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 37, n. 3, p. 784-795, 2013.
- SALIN, T. C., Ferreira, R. L. C., Albuquerque, S. F., Silva, J. A. A., Alves Junior, F. T. Caracterização de sistemas agrícolas produtivos no semiárido brasileiro como bases para um planejamento agroflorestal. *Revista Caatinga, Mossoró*, v. 25, n. 2, p. 109-118, mar.-jun., 2012.
- SANTOS, S. G dos; Ribeiro, F. da S.; Alves, G. C.; Santos, L. A.; Reis, V. M. Inoculation with five diazotrophs alters nitrogen metabolism during the initial growth of sugarcane varieties with contrasting responses to added nitrogen. *Plant and Soil*, v. 451, p. 25-44, 2020b. DOI: 10.1007/s11104-019-04101-1.
- SCHUMACHER, Mauro Valdir; Szymczak, Denise Andréia; Trüby, Peter; Londero, Eduardo Kneipp; Marafiga, Joseane. Litter and nutrient input in seasonal forest in the central region of Rio Grande do Sul state. *Ciência Florestal*, v. 28, n. 2, p. 532–541, 1 abr. 2018.
- SCHWAB, N.; SCHICKHOFF, U.; FISCHER, E. Transition to agroforestry significantly improves soil quality: A case study in the central mid-hills of Nepal. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 205, p. 57–69, 1 Jul. 2015.
- SCHWEMBER, A. R.; SCHULZE, J.; DEL POZO, A.; CABEZA, R. A. Regulation of symbiotic nitrogen fixation in legume root nodules. *Plants*, v. 8, n. 9, p. 333, 2019.
- SEEFELDT, L. C.; YANG, Z-Y.; LUKOYANOV, D. A.; HARRIS, D. F.; DEAN, D. R.; RAUGEI, S.; HOFFMAN, B. M. Reduction of substrates by nitrogenases. *Chemical Reviews*, v. 120, n. 12, p. 5082-51064, 2020.
- SEINFELD, J. H.; Pandis, S. N.; Atmospheric chemistry and physics from air pollution to climate change, John Wiley & Sons Inc. 2006.
- SHAMSELDIN, A. The role of different genes involved in symbiotic nitrogen fixation - review. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, Alexandria*, v. 8, n. 4, p. 84-94, 2013.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-Fixation in field settings: Estimations based on natural ¹⁵N abundance. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 13, n. 6, p. 699–756, 1986.
- SILVA, A. F.; FREITAS, A. D. S.; COSTA, T. L.; ARAGÃO, J. E. B.; RODRIGUES, M. L. Fixação biológica de nitrogênio em florestas tropicais secas com diferentes diversidades e abundâncias de leguminosas. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v. 107, p. 321–334, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10705-017-9834-1>.

- SILVA, J. H. C. S., Barbosa, A. S., Gomes, D. S., Aquino, I. S., Silva, J. R. Dynamics of plant organic matter decomposition in different agricultural landscapes. *Rev. Caatinga*, Mossoró, v. 36, n. 1, p. 135 – 144, jan. – mar., 2023.
- SILVA, J. L. B.; MOURA, G. B. A.; LOPES, P. M. O.; FRANÇA E SILVA, Ê. F.; ORTIZ, P. F. S.; SILVA, D. A. O.; GUEDES, R. V. Spatial-temporal monitoring of the risk of environmental degradation and desertification by remote sensing in a Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 13, n. 2, p. 544-563, 2020.
- SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W.G.; DUCATTI, C. & NOJIMOTO, T. Utilização de isótopos estáveis do carbono e do nitrogênio para determinar o percentual de malte em cervejas tipo Pilsen. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.11, n.2, p.95- 102, 2008
- SOUZA, L. Q. de; FREITAS, A. D. S. de; SAMPAIO, E. V. de S. B.; MOURA, P. M.; MENEZES, R. S. C. How much nitrogen is fixed by biological symbiosis in tropical dry forests? 1. Trees and shrubs. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v. 94, n. 1-2, p. 171-179, Dec. 2012. DOI: 10.1007/s10705- 012-9531-z.
- SPRENT, J. I. *Legume nodulation: a global perspective*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2009. 200 p. DOI: 10.1002/9781444316384.
- STEVENSON, F. J. *Nitrogen in agricultural soils*. Madison: ASA: SSA, 1982. 940 p.
- TABASSUM, B.; Khan, A.; Tariq, M.; Ramzan, M.; Khan, M. S. I.; Shahid, N.; Aaliya, K. Bottlenecks in commercialization and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, v. 121, p. 102-117, Dec. 2017. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.09.030
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 888 p.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.
- TIAN, D.; ZHANG, X.; YANG, Q.; SUN, J.; CHEN, Y.; WANG, Q.; ZHANG, F.; ZHU, J. Plant diversity drives soil carbon sequestration: evidence from 150 years of vegetation restoration in the temperate zone. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fpls.2023.1191704. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1191704/full>.
- TIECHER, T. L. et al. Principais doenças da videira e contaminação de solos de vinhedos com cobre e zinco. In: TIECHER, T. (Ed.). *Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no sul do Brasil: impacto das atividades agropecuárias na contaminação do solo e da água*. Frederico Westphalen, RS: URI – Frederico Westph, 2016. p. 258–294.
- UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural

systems. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2008. 258 p. (ACIAR Monograph, 136).

VILLARREYNA, R.; AVELINO, J.; CERDA, R. Ecosystem-based adaptation: Effect of shade trees on ecosystem services in coffee plantations. *Agronomy Mesoamerican*, v. 31, n. 2, p. 499–516, 2020.

ZAGO, L. F.; LIMA, C. R.; CRUZ, R. M. S.; ALBERTON, O. Inoculação de diferentes doses de *Bradyrhizobium* por cobertura e seu efeito na cultura da soja. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama*, v. 21, n. 2, p. 65-69, 2018. Disponível em: