



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
MESTRADO ACADÊMICO EM RECURSOS NATURAIS

DENIS JUVENÇO ANDRADE

DIVERSIDADE E OCORRÊNCIA DE HERBÁCEAS E DE FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM AGROSSISTEMA IRRIGADO COM ÁGUA
PRODUZIDA

FORTALEZA - CEARÁ

2016

DENIS JUVENÇO ANDRADE

DIVERSIDADE E OCORRÊNCIA DE HERBÁCEAS E DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM AGROSSISTEMA IRRIGADO COM ÁGUA PRODUZIDA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Recursos Naturais.

Linha de Pesquisa: Aproveitamento de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Olmar Baller Weber

FORTALEZA - CEARÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Andrade, Denis Juvenço.

Diversidade e ocorrência de herbáceas e de fungos micorrízicos arbusculares em agrossistema irrigado com água produzida [recurso eletrônico] / Denis Juvenço Andrade. - 2016.

1 CD-ROM: il.; 4 ¾ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 80 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologia, Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais, Fortaleza, 2016.

Área de concentração: Microbiologia ambiental.
Orientação: Prof. Dr. Olmar Baller Weber.

1. Água residuária. 2. Sucessão vegetal. 3. Atividade micorrízica. 4. Microbiologia ambiental. I. Título.

DENIS JUVENÇO ANDRADE

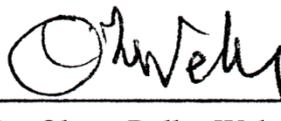
DIVERSIDADE E OCORRÊNCIA DE HERBÁCEAS E DE FUNGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EM AGROSSISTEMA IRRIGADO COM ÁGUA PRODUZIDA

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais
da Universidade Estadual do Ceará, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Recursos Naturais.

Linha de Pesquisa: Aproveitamento de
Recursos Naturais.

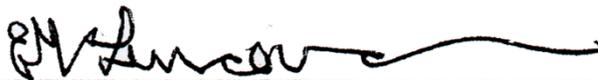
Aprovada em: 17 de fevereiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Olmar Baller Weber (Orientador)

Embrapa Agroindústria Tropical



Prof. Dr. Eliseu Marlônio Pereira de Lucena

Universidade Estadual do Ceará - UECE



Prof^ª. Dr^ª. Maria Iracema Bezerra Lóiola Universidade
Federal do Ceará - UFC

A minha avó Eva e minha mãe Vera Leuda;
pelo amor incondicional;
pelo apoio e por acreditar que sou capaz.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar saúde e sabedoria para trilhar esse caminho.

Ao Prof. Dr. Olmar Baller Weber, pela paciência, orientação, e ensinamentos durante a execução deste trabalho e por acreditar na minha capacidade.

Aos amigos, José Henrique Rodrigues, Eurijane Augusto, Gabriela Costa, Emanuel Marques, Hellen Barreto, Ana Clarice Melo e Andréia Alves, essenciais em todos os momentos.

Aos amigos, Giuliane Sampaio, Paulo Ricardo, Carlos Sobrinho, Cintia Maria, Augusta Quaresma, Ana Carolina Moreira, Roberta Bussons, Lia Teixeira e Daniel Rodrigues, companheiros do Mestrado em Recursos naturais.

Ao Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, em especial à Profa. Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola e Aline Quaresma, pelo auxílio na coleta e identificação de herbáceas.

À Dra. Marcela Pagano, pela disposição e auxílio na identificação dos esporos de fungos MA.

À Petrobras, pelo financiamento da pesquisa e a Embrapa Agroindústria Tropical, por possibilitar a realização da pesquisa.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pela concessão de bolsa.

À Embrapa Agrobiologia, em especial ao Dr. Orivaldo Saggim e à Dra. Cristiane Filgueira, pelo treinamento em fungos micorrízicos arbusculares.

Ao Coordenador, Prof. Dr. Carlucio Roberto Alves e aos professores pela sua atenção aos alunos do Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais.

E a toda a minha família em especial aos meus irmãos Douglas Andrade, Dionathan Andrade, Denise Andrade e Deives Andrade.

É melhor morrer tentando e falhar, que
preocupar-se e ver a vida passar.

É melhor tentar, ainda que em vão que sentir-
se, fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias
frios em casa me esconder.

Prefiro ser feliz embora louco, que em
conformidade viver

(Martin Luther King)

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade de herbáceas e de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão à cultura do girassol irrigado com água produzida (AP). As plantas de girassol, durante três ciclos sucessivos, receberam lâminas adequadas de água produzida obtida por simples filtração (APF), tratada por osmose reversa (APO), e o tratamento controle recebeu água do subsolo, captada do aquífero Açu (ACA). Após cinco meses da última colheita, em junho de 2014, foram avaliados nos diferentes tratamentos a diversidade de plantas sucessoras, a colonização micorrízica arbuscular (MA) nas raízes e amostras de solo superficial (0-10 cm), onde se determinaram as populações de esporos de comunidades de fungos MA, o teor de glomalina, nas frações facilmente extraível (PSRG-F) e total (PRSG-T) e o teor de carbono orgânico total (COT). De um total de 18 espécies de herbáceas identificadas, *Dactyloctenium aegyptium* esteve relacionada com o uso de APF; *Panicum* sp. e *Diodella apiculata* com o uso de APO e *Trianthema portulacastrum* e *Eragrostis tenella* com o controle ACA. A diversidade de espécies de fungos MA foi afetada pela irrigação com APF, onde estavam ausentes duas espécies de *Acaulospora*, uma espécie de *Gigaspora* e uma espécie de *Paraglomus* em relação ao tratamento com APO. *Acaulospora* sp1. esteve relacionada ao controle ACA como espécie indicadora. A aplicação de água produzida e tratada por osmose reversa afetou em curto prazo, a fração de glomalina que é facilmente extraível do solo e não alterou a micorrização das plantas. Esses resultados permitem inferir que a irrigação com água produzida propicia uma redução na diversidade de plantas herbáceas e de fungos micorrízicos arbusculares do solo, confirmando sua importância no monitoramento de agrossistemas irrigados com água residuária.

Palavras-chave: Água residuária, sucessão vegetal, atividade micorrízica, microbiologia ambiental.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the diversity of herbaceous plants and arbuscular mycorrhizal fungi following the cultivation of sunflowers irrigated with produced water. The sunflower plants were irrigated during three successive cycles with three different types of water: firstly, produced water obtained through simple filtration (PWSF), and secondly, produced water treated by reverse osmosis (PWRO), and the control treatment used water obtained from the subsoil, captured by an Açu Aquifer (WCA). In June 2014, five months after the final harvest, the treatments were evaluated in terms of the diversity of successor plants and their roots colonized by arbuscular mycorrhiza (AM); and samples of topsoil (up 0.1 m depth), in which the following were measured: the spore populations of AM fungi, the levels of glomalin in easily extractable glomalin (GRSP-EEG) and in total glomalin (GRSP-TG). Of a total of 18 species of herbaceous plants which were identified in the experimental field, *Dactyloctenium aegyptium* was related with the use of PWSF, *Panicum* sp. and *Diodella apiculata* with the use of PWRO, and *Trianthema portulacastrum* and *Eragrostis tenella* with the control WCA. The diversity of AM fungi was affected by irrigation with PWSF, in which two species of *Acaulospora*, one species of *Gigaspora* and one species *Paraglomus* were absent, compared to the treatment with PWRO. *Acaulospora* sp1. was related with the WCA control as an indicator species. The use of produced water which had undergone reverse osmosis had a short-term effect on the amount of glomalin which is easily extractable from the soil but did not change the mycorrhization of the plants. These results enable us to infer that irrigation with produced water leads to a reduction in the diversity of herbaceous plants and of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, confirming the importance of monitoring agro-systems which are irrigated with residual water.

Keywords: Wastewater, plant succession, mycorrhizal activity, environmental microbiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	A. Arbúsculos no interior de célula radicular; B. Vesículas de fungos MA no interior da raiz; C. Célula auxiliar de Gigasporaceae; D. Célula auxiliar de Scutelosporaceae.....	19
Figura 2-	Localização do município Aracati, Ceará, Brasil.....	24
Figura 3-	Layout da unidade experimental na fazenda Belém, Aracati, Ceará, Brasil.....	25
Figura 4-	Aspecto visual das plantas herbáceas em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com A. ACA: Irrigação com água captada do aquífero Açu (ACA), B. Água produzida filtrada (APF) e C. Água tratada por osmose reversa (APO).....	26
Figura 5-	Aparência das amostras após 3 ciclos de extração, sendo a coloração mais escura os ciclos iniciais e mais clara os ciclos finais.....	29
Figura 6-	Abundância (A) e riqueza relativa (B) de herbáceas em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com água captada do aquífero Açu (ACA); água produzida filtrada (APF) e água tratada por osmose reversa (APO). Letras idênticas indicam que os tratamentos não foram significativamente diferentes ($p < 5\%$).....	33
Figura 7-	Fragmento colonizado da raiz de <i>Dactyloctenium aegyptium</i> micorrizada por fungos MA.....	34
Figura 8-	Mofortipos de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas na fazenda Belém, Aracati, Ceará. A) <i>Acaulospora bireticulata</i> F.M. Rothwell & Trappe, B) <i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & Walker, C) <i>Ambispora fênica</i> C. Walker, Vestberg & A. Schüßler, D) <i>Acaulospora</i> sp.1, E) <i>Acaulospora</i> sp.2, F) <i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall, G) <i>Funneliformis geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & A. Schüßler, H) <i>Paraglomus</i> sp., I) <i>Racocetra castânea</i> (C. Walker) Oehl, F. A. Souza & Sieverd.....	36
Figura 9-	Abundância (A) e riqueza relativas (B) de fungos MA em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com água captada do aquífero Açu (ACA); água produzida filtrada (APF) e água tratada por osmose reversa (APO). Letras idênticas indicam que os tratamentos não foram significativamente diferentes ($p < 5\%$).....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	18
Tabela 2-	Fatores que influenciam a formação e a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares.....	20
Tabela 3-	Principais efeitos promotores dos fungos MA no crescimento vegetal.....	21
Tabela 4-	Valores de pH, carbono orgânico (CO) e nutrientes do solo (camada de 0-10 cm) em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com diferentes águas.....	28
Tabela 5-	Populações de comunidades de herbáceas e respectivas famílias em sucessão ao cultivo de girassol sob diferentes tratamentos na fazenda Belém, Aracati, Ceará, n° de indivíduos e frequência (F%).....	31
Tabela 6-	Colonização micorrízica das herbáceas frequentes em parcelas experimentais previamente cultivadas com girassol irrigado com diferentes águas.....	34
Tabela 7-	Populações de comunidades de esporos de fungos micorrízicos arbusculares do solo (n° por 100 g de solo) e respectivas famílias em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes tratamentos de irrigação na fazenda Belém, Aracati, Ceará.....	35
Tabela 8-	Descrição morfológica de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas na fazenda Belém, Aracati, Ceará.....	37
Tabela 9-	Teor de proteínas relacionadas à glomalina total (PSRG-T) e facilmente extraível (PSRG-F) do solo, em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	ÁGUA PRODUZIDA OBTIDA JUNTO COM A EXTRAÇÃO DE PETRÓLEO.....	14
2.2	TRATAMENTO DA ÁGUA PRODUZIDA	15
2.3	COMPONENTE HERBÁCEO.....	15
2.4	FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (MA).....	17
2.4.1	Fatores que afetam as comunidades de fungos MA.....	20
2.4.2	Interação de fungos MA com plantas.....	20
2.5	PROTEÍNA DO SOLO RELACIONADA À GLOMALINA.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	LOCAL DE ESTUDO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	24
3.2	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS HERBÁCEAS SUCESSORAS	25
3.3	AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE HERBÁCEAS.....	27
3.4	COLETA DO SOLO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	27
3.5	EXTRAÇÃO DE ESPOROS E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS MA.....	28
3.6	DETERMINAÇÃO DA GLOMALINA-EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO...	29
3.7	CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT).....	30
3.8	ANÁLISE DOS DADOS.....	30
4	RESULTADOS	31
4.1	COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA.....	31
4.2	MICORRIZAÇÃO DE HERBÁCEAS PREVALENTES NA ÁREA IRRIGADA.....	33
4.3	DIVERSIDADE DE FUNGOS MA DO SOLO.....	35
4.4	TEOR DE GLOMALINA DO SOLO.....	38
5	DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÕES.....	44
	REFERÊNCIAS.....	45
	APÊNDICE.....	56
	APÊNDICE A- ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA SYMBIOSIS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A produção agrícola em regiões semiáridas constitui um desafio quando se tem problemas com distribuição e escassez de água potável, de modo que o uso de fontes alternativas, como a água residuária tem sido sugerido, sobretudo para irrigação (NAMAZY et al., 2015). Entre as fontes hídricas alternativas têm-se a água produzida (AP), obtida junto com a extração de petróleo (MOTTA et al., 2013). Esta é uma água conata, considerada fora do ciclo hídrico, uma vez que não evapora nem circula entre os diferentes estratos (LLAMAS, 1993). Campos de produção maduros produzem altos volumes de água pelos processos utilizados para separar a água do petróleo bruto e do gás natural, representando 95% do volume de óleo obtido na indústria do petróleo (MELO et al., 2010). Entretanto, essa água contém diversos constituintes químicos (MELO et al., 2010), além de resíduos de aditivos químicos utilizados no processo de separação do óleo (FIGUEREDO et al., 2014), que torna indispensável o tratamento de AP na indústria.

A respeito do tratamento da AP tem-se a filtração e passagem da água por resina trocadora de íons (QIAN et al., 2012), a nanofiltração e osmose reversa (ALZHRANI et al., 2013), entre vários outros métodos de purificação da água (KANAGY et al., 2008; IGUNNU; CHEN, 2012; SHAFFER et al., 2013; GREGORY et al., 2013), visando a retirada de constituintes orgânicos, inorgânicos e os constituintes químicos que são adicionados à água durante o processo de separação do óleo (ANDRADE et al., 2010). Independentemente do tratamento da água faz-se necessário o monitoramento de AP na indústria do petróleo. Por ser rica em sais (TABATABAEI; NAJAFI, 2009; TRAVIS et al., 2012) esta pode afetar negativamente o solo, proporcionando a salinização (AL-HADDABI; AHMED, 2007). A salinidade pode reduzir a eficiência da colonização por fungos micorrízicos arbusculares (SAINT-ETIENNE et al., 2006; BENCHERIF, 2015), diminuir o crescimento de plantas (YANG; LI; SIEMANN, 2015), afetar a atividade microbiana (NWAUGO et al., 2007) e outras características do solo (ONOJAKE et al., 2012) como o acúmulo de metais pesados.

No Brasil não há registro de aplicação de AP, embora tenha sido sugerido por Melo et al. (2010) o uso de AP tratado para irrigação. Mas, em culturas de girassol (*Helianthus annuus* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.), ambas submetidas à irrigação com AP, tem-se observado no curto prazo uma redução na proliferação e na atividade de fungos e bactérias cultiváveis (LOPES, 2014) e alteração na estrutura de comunidades da mesofauna do solo (FERREIRA; WEBER; CRISÓSTOMO, 2015), reforçando a necessidade do monitoramento das áreas irrigadas.

A salinização provocada pelo excesso de sais no solo, devido a irrigação com AP (AL-HADDABI; AHMED, 2007), além de trazer prejuízos às propriedades físicas e químicas do solo, pode provocar a redução generalizada do crescimento das plantas (YANG; LI; SIEMANN, 2015). Contudo, o grau ou a concentração de sais que determinam essa redução varia com a espécie, podendo esse fato estar relacionado com a tolerância de cada espécie à salinidade (BAÑUELOS, 2015). Por serem afetadas por fatores bióticos e abióticos em estágios iniciais de sucessão (WANG et al., 2014) e contribuírem para a formação de microclima alterando as propriedades do solo (WANG et al., 2014), as herbáceas podem ser indicadoras da qualidade do meio (HART; CHEN, 2008). Estas interagem com os fatores do ambiente e estabelecem associações nas raízes com fungos micorrízicos arbusculares (MA).

Esses microsimbiontes são igualmente indicadores de impactos ambientais, devido a sua aplicabilidade como insumo biotecnológico, sobretudo na recuperação de áreas degradadas (SCHREINER, 2007). Esses fungos, pertencentes ao filo Glomeromycota têm papel crucial na manutenção de diversos ecossistemas terrestres desde os trópicos, onde predominam, até o Ártico, formando associações mutualísticas entre as raízes da maioria das famílias de plantas (SMITH; READ, 2008). A importância dos fungos MA tem sido salientada também na determinação dos ecossistemas, sendo a diversidade de fungos MA correlacionadas com a diversidade de espécies vegetais (VAN DER HEIJDEN et al., 1998). Tais fungos também são apontados como potencial indicador biológico de salinidade de solos (FLORES, 2010). O aumento da salinidade diminui a esporulação, a micorrização (SAINT-ETIENNE et al., 2006; GUO; GONG, 2014; BENCHERIF, 2015) e a riqueza desses fungos, selecionando algumas espécies de fungos MA resistentes a salinidade (SHENG et al., 2008). Tais características podem contribuir para medir os impactos ambientais em áreas irrigadas com água produzida.

Os fungos MA, além fornecerem benefícios como insumo biotecnológico na preservação dos recursos naturais, são os únicos organismos a produzir, em suas hifas, uma glicoproteína insolúvel rica em carbono, muito efetiva na formação e estabilidade dos agregados do solo (RILLIN et al., 2003).

Tendo em vista que há uma preocupação em relação à grande quantidade de AP durante a extração de petróleo e que se tem pouco conhecimento sobre a influência da AP sobre a vegetação de agrossistemas, neste trabalho objetivou-se determinar a diversidade de plantas herbáceas e de fungos MA do solo em sucessão à cultura do girassol irrigado com água produzida.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁGUA PRODUZIDA OBTIDA JUNTO COM A EXTRAÇÃO DE PETRÓLEO

Água produzida (AP) é uma água aprisionada nas formações subterrâneas, trazida à superfície junto com a extração de petróleo e gás natural (MOTTA et al., 2013). Sua produção pode chegar a índices superiores a 95% em relação ao que é extraído de petróleo em determinados poços de produção de petróleo, o que representa cerca de 661.000 m³ de água somente no Ceará (MELLO et al., 2010). Essa água, geralmente contém constituintes inorgânicos compostos por cátions (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Ba²⁺, Sr²⁺, Fe²⁺), ânions (Cl⁻, SO₄²⁻, CO₃²⁻, HCO₃²⁻) (STEWART; ARNOLD, 2011), metais pesados, como Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ag, Ni, Zn (UTVIK, 2003) e produtos químicos adicionados durante as etapas de extração do petróleo para tratar ou prevenir problemas operacionais durante a produção de petróleo, como inibidores de incrustação e de corrosão, desemulsificantes, dispersantes e biocidas (LIMA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; MELLO et al., 2010).

Esses aspectos fazem com que a disposição de AP no ambiente requeira cuidados específicos, pois seu descarte pode incorrer em riscos sanitários e ambientais, podendo poluir o solo, a água superficial e subterrânea (GUERRA; DAHM; DUNDORF, 2011), podendo matar peixes de água doce e vegetação (STEWART; ARNOLD, 2011). Diante de todos esses problemas, alguns autores vêm desenvolvendo estudos usando o aproveitamento da AP no processo de irrigação.

A aplicação da água produzida foi realizada em experimento pioneiro conduzido por Mello et al. (2010) com AP proveniente dos poços de petróleo da fazenda Belém/ CE. Os resultados permitiram concluir que o tratamento de AP por filtração com membrana de nanofiltração e osmose reversa é eficiente na obtenção de água residuária para fins de reuso em culturas bioenergéticas de girassol (*Helianthus annuus* L.) e mamona (*Ricinus communis* L.) podendo ser uma alternativa para a irrigação.

Outros estudos na área experimental da fazenda Belém, permitiram observar no curto prazo uma redução na proliferação e na atividade de fungos e bactérias cultiváveis (LOPES, 2014) e alteração na estrutura de comunidades da mesofauna do solo (FERREIRA; WEBER; CRISÓSTOMO, 2015), reforçando a necessidade do monitoramento das áreas irrigadas. Outras formas de reuso da água produzida, obtida da produção de petróleo, incluem a reinjeção nos poços, depois de tratado, para manter a pressão e facilitar o fluxo de óleo até a superfície, beneficiando o processo de extração e rendimento de óleo. Ainda o reuso da água

produzida tratada é indicado para a perfuração de poços de petróleo (PEACOCK, 2002) e na geração de vapor (JACINTO JUNIOR et al., 2008).

A utilização da água produzida tratada deve ser encarada como estratégia para a conservação dos recursos hídricos, representando benefícios econômicos e socioambientais (MARESCOS DO MONTE; ALBUQUERQUE, 2010). Por outro lado, a sua aplicação em projetos de reutilização, devem considerar os riscos ao ambiente, bem como atender aos requisitos agrônômicos e como também as necessidades hídricas das plantas, de forma que não afetem diretamente o biosistema solo-planta (MARESCO DO MONTE; ALBUQUERQUE, 2010).

2.2 TRATAMENTO DA ÁGUA PRODUZIDA

Dada a sua composição química, a água produzida precisa passar por processos de tratamento para fins de reuso. O descarte a ser realizado deve atender a Resolução do Conama nº 393 (BRASIL, 2007). Alguns métodos de tratamento de AP como a osmose reversa (APO) têm sido sugeridos para reuso na irrigação (ARTHUR; LANGUS; PATEL, 2005; ÇAKMAKCI; KAYAALP; KOYUNCU, 2008; MELO et al., 2010; QIAN et al., 2012), além dos diversos tipos de filtração (APF) que permitem o uso dessa água na própria indústria (ALZHRANI et al., 2013).

Outros métodos de tratamento de AP, segundo Hong, Fane, Burford (2003) são a flotação a ar, precedida de adição de produtos químicos desmulsificantes para a remoção de óleo e posterior descarte ou reinjeção nos poços de petróleo. Já de acordo com Stewart, Arnold (2011) separação gravitacional, feita por hidrociclones, flotação a gás natural, utilizando flotores, coalescência mais separação gravitacional, realizada por coletores de leite e separação gravitacional, feita por separadores gravitacionais convencionais se constitui tecnologias atrativas a serem utilizadas.

2.3 COMPONENTE HERBÁCEO

O componente herbáceo constitui um estrato que exhibe grande riqueza e diversidade (KOZERA et al., 2008; INÁCIO; JARENKOW, 2008), além de adaptações estruturais e fisiológicas relacionadas ao ambiente em que se encontram (ANDRADE, 1992; MULLER; WAECHTER, 2001). O estrato herbáceo pode influenciar o processo de regeneração de espécies arbóreas, auxiliando também na conservação de nutrientes no solo

(LIMA; GANDOLF, 2009) e atuando como agentes indicadores da qualidade do meio (ADU et al., 1994; YANG et al., 2015).

A distribuição das espécies herbáceas, assim como o crescimento e desenvolvimento dos indivíduos estão relacionados a sua interação com fatores ambientais tais como, luminosidade, disponibilidade de água e características do solo, resultando em comunidades organizadas conforme interação entre as espécies e destas com os ambientes em que se encontram (KOZERA et al., 2008; WANG et al., 2014).

As herbáceas são altamente influenciadas pela topografia, sombreamento, estágios sucessionais, breves estiagens, fertilidade e drenagem do solo (SIEBEL; BOWMA, 1998; ZOETE, 2001). As respostas das plantas herbáceas às mudanças ambientais diferem entre as espécies, entre os ambientes e de acordo com os distúrbios naturais ou antrópicos a que são submetidas (MULLER; WAECHTER, 2001; HART; CHEN, 2008; BAÑUELOS, 2015).

Alguns estudos (MURCIA, 1995; BAÑUELOS, 2015) indicam modificações na comunidade herbácea conforme alterações ambientais, selecionando as espécies que são tolerantes a essa mudança, sendo tais alterações determinadas pela tolerância fisiológica das espécies às novas condições ambientais em que estão sendo expostas. Alguns distúrbios como a contaminação do solo, causado pelo excesso de sais de sódio reduziu o crescimento das plantas de forma generalizada (YANG; LI; SIEMANN, 2015), a erosão, os teores de nitrogênio total, matéria orgânica e fertilidade do solo (PALLAVICINI; ALDAY; MARTÍNEZ-RUIZ, 2015) são outros fatores relacionados a esse distúrbio. Essa estreita relação com os fatores abióticos faz com que as plantas herbáceas sejam mais sensíveis às alterações ambientais, especialmente aquelas relacionadas à água e suprimento de luz, pelo fato de estarem nas camadas mais baixas da vegetação e por possuírem sistema radicular superficial (POULSEN, 1996; LIMA; GANDOLFI, 2009).

Devido sua sensibilidade aos fatores bióticos e abióticos, respondendo de formas diferentes a locais antropizados, as herbáceas fornecem estratégias para recuperação mais eficaz desses ambientes (PALLAVICINI; ALDAY; MARTÍNEZ-RUIZ, 2015).

No Brasil, dados sobre as espécies herbáceas são encontrados, em sua maioria, em estudos florísticos e fitossociológicos (COSTA, 2004; PALMA et al., 2008; SOARES JR. et al., 2008), alguns dos quais analisando o componente herbáceo juntamente com o subarbustivo (KOZERA, 2001), arbustivo (FUHRO et al., 2005; CHAVES, 2006), como invasoras de agrossistemas (MENDES et al., 2014; LAMEGO et al., 2015) e mais recente em um levantamento florístico na Caatinga, com o objetivo de avaliar a importância da diversidade de plantas não lenhosas no bioma (QUEIROZ; MORO; LOIOLA, 2015).

Em áreas degradadas, devido alterações das propriedades físicas, químicas e sedimentológicas do solo, além de haver redução e compactação do solo, impossibilitam a instalação de espécies florestais arbóreas, predominando espécies herbáceas (DE MELO JÚNIOR; AMORIM; DE OLIVEIRA, 2015). A presença de herbáceas nesses ambientes favorece ao longo do processo de restauração a estabilização de plantas arbóreas na área e a sucessão vegetal (LIMA; GANDOLFI, 2009).

2.4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Os fungos da Ordem Glomerales geralmente associam-se às raízes de plantas, formando simbioses mutualistas obrigatórias, pelo fato de os organismos coexistirem em um mesmo ambiente físico, raiz e solo, e mutualística, porque, em geral, ambos os simbiontes se beneficiam da associação (BERBARA et al., 2006). É considerada como mutualista nutricional, em que a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com nutrientes e água (SOUZA et al., 2008). Essa relação de simbiose mutualística entre fungos MA e plantas é denominada micorriza arbuscular (MA).

Devido ao seu caráter cosmopolita, por possuírem alta diversidade genética (MOREIRA, SIQUEIRA, 2006) essa simbiose tem sido considerada a mais importante de todas as que envolvem plantas.

Esses fungos são assexuados (MOREIRA, SIQUEIRA, 2006), e devido à formação dos esporos é possível à identificação das espécies, por exemplo, através de estruturas subcelulares e pelas características morfológicas dos esporos (MOREIRA; HUISING; BIGNELL, 2010). Essa identificação considera algumas características, como ornamentações da parede do esporo, parede germinativa e estrutura de germinação. No entanto, a identificação precisa dos esporos coletados em campo é problemática, uma vez que, geralmente, encontram-se deteriorados por hiperparasitas ou, então, em fases de desenvolvimento inadequadas para a identificação das estruturas diferenciais (MORTON et al., 2001). Para contornar tais problemas devido à dificuldade na identificação morfológica dos fungos MA, muitas vezes dificultando a sua identificação, tem-se recorrido às análises moleculares utilizando técnicas de sequenciamento do material genético para a sua identificação (HEMPEL; RENKER; BUSCOT, 2007).

O filo Glomeromycota é composto por quatro ordens, dez famílias, 21 gêneros e 245 espécies descritas (REDECKER et al., 2013) baseada em análise molecular (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

Filo:	Glomeromycota			
Classe:	Glomeromycetos			
Ordem:	Família	Gênero	Nº de espécies	
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>	91	
		<i>Dominikia</i>	04	
		<i>Funneliformis</i>	09	
		<i>Kamienskia</i>	02	
		<i>Rhizophagus</i>	12	
		<i>Sclerocystis</i>	11	
		<i>Septoglomus</i>	05	
Diversisporales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>	07	
	Gigasporaceae	<i>Dentiscutata</i>	02	
		<i>Gigaspora</i>	08	
		<i>Racocetra</i>	13	
		<i>Scutellospora</i>	05	
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	41
		Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	07
	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i>	09	
		<i>Otospora</i>	01	
		<i>Redeckera</i>	03	
Paraglomales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	04	
Archaeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>	01	
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>	08	
	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>	02	

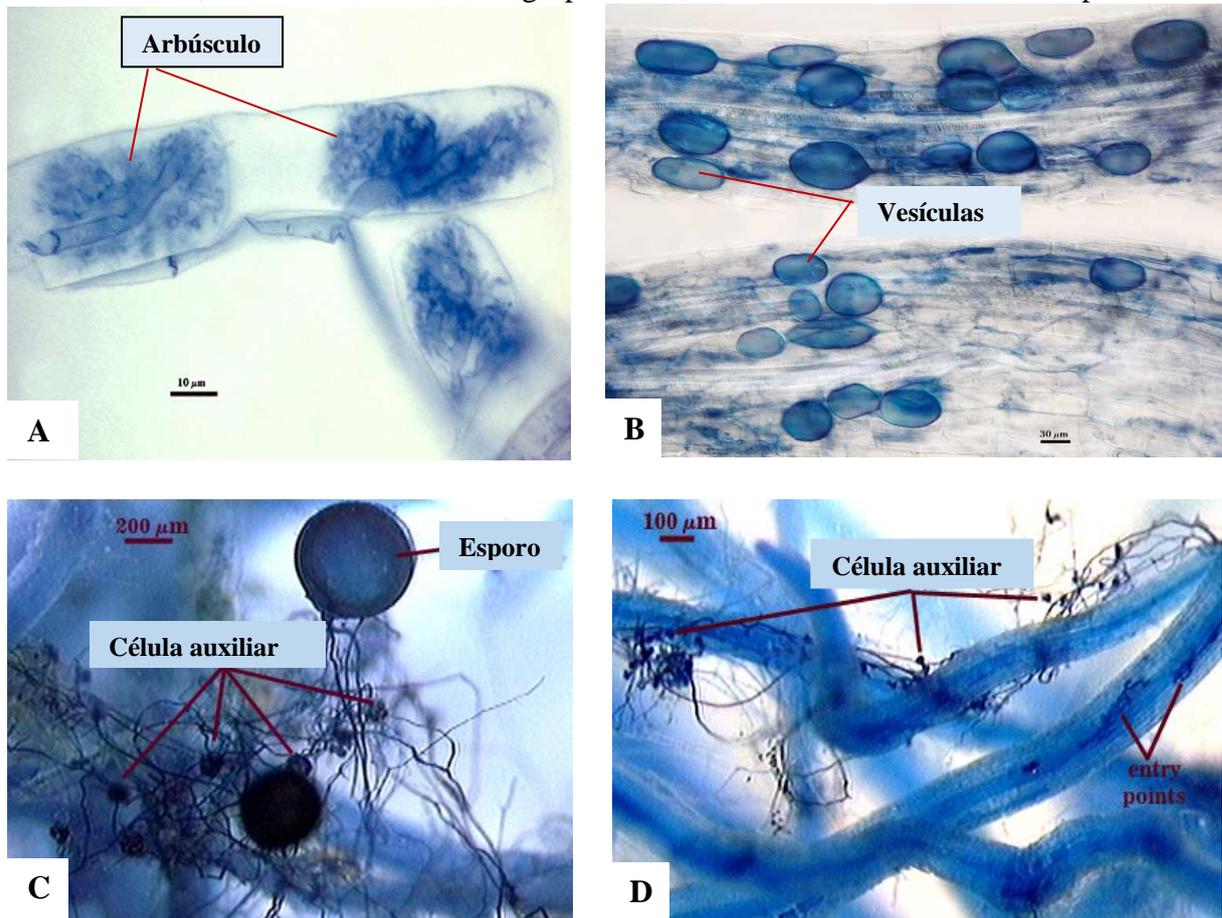
Fonte: Adaptado de Redecker et al. (2013).

A colonização das raízes pelos fungos MA se dá através de três possíveis fontes de inóculos: esporos, fragmentos de raízes colonizadas e hifas presentes no solo, sendo difícil distinguir qual a contribuição de cada um na colonização do sistema radicular (SMITH; READ, 2008). As hifas formam estruturas de penetração nas raízes do tipo apressório, onde através de uma degradação parcial da parede celular das células radiculares, ocorre a penetração das hifas, e posterior colonização das células do córtex, onde são formados os arbúsculos (Figura 1A), que são consideradas as estruturas responsáveis por suprir o fungo com o carbono 18 e os fotoassimilados da planta, e onde a planta obtém os nutrientes e a água retirados do solo pelo fungo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

As vesículas são estruturas globosas ou elípticas, que armazenam lipídeos e glicogênio, e servem como órgãos de reserva para o fungo, e podem ser formadas dentro ou entre as células do córtex das raízes (Figura 1B). Nas famílias de Gigasporaceae e

Scutelosporaceae (Figura 1C, 1D), existem as células auxiliares, que são também estruturas de armazenamento, porém são formadas externamente as raízes das plantas (SMITH; READ, 2008).

Figura 1- **A.** Arbúsculos no interior de célula radicular; **B.** Vesículas de fungos MA no interior da raiz; **C.** Célula auxiliar de Gigasporaceae; **D.** Célula auxiliar de Scutelosporaceae.



Fonte: INVAM (2015).

Algumas famílias de plantas parecem ter perdido a capacidade de formar associações com fungos MA. Como exemplo, podem-se mencionar as famílias Caryophyllaceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Juncaceae, Polygonaceae e Cyperaceae, (ALLEN et al., 2003). Segundo o mesmo autor, acredita-se que por motivos evolutivos a colonização é inibida devido à incompatibilidade genética, dificuldades estruturais de penetração na raiz, ou defesas químicas que impede o fungo de ultrapassar as primeiras camadas radiculares, como também as espécies pertencentes a essas famílias apresentam sistema radicular bem desenvolvido, com bastante raízes finas e pelos radiculares.

2.4.1 Fatores que afetam as comunidades de fungos MA

A ocorrência e o modo de atuação dos fungos MA são influenciados por diversos fatores (Tabela 2) além de dependerem dos tipos de culturas agrônomicas e dos tratos culturais como história da área, adubos e defensivos, manejo e irrigação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Nenhum desses fatores atua isoladamente, o que torna difícil identificar os que, numa situação específica, determinam a instalação e a permanência ou a exclusão de um fungo MA numa determinada área (POUYU-ROJAS et al., 2006).

Tabela 2 - Fatores que influenciam a formação e a ocorrência de fungos micorrízicos arbuscular.

Do solo	Da planta	Do ambiente
Tipo, textura e estrutura, qualidade e disponibilidade de nutrientes, pH, umidade, presença de elementos tóxicos, agregação, etc.	Espécie, variedade, idade, fase de ciclo, sistema radicular, exsudados, dependência à micorrização, etc.	Luz, temperatura, umidade, precipitação, entre outros.

Fonte: Moreira e Siqueira (2006).

2.4.2 Interação de fungos MA com plantas

Os fungos MA melhoram o estado nutricional e crescimento das plantas, através da formação de hifas, que agem como um prolongamento das raízes, favorecendo a captação de nutrientes como P, Zn, Cu e K (BRESSAN et al., 2001), nitrogênio (GUPTA et al., 2002), aquisição de fosfato e água (RAJKUMAR, et al., 2012), potencializando a associação microorganismo-planta. Nas plantas micorrizadas as hifas extraradiculares exploram grande volume do solo não acessível às raízes e influenciam a região do solo denominada micorrizosfera. Os fungos MA podem atuar ainda na proteção das plantas contra patógenos e excesso de metais pesados, minimizando o efeito negativo dos mesmos (SIQUEIRA et al., 1999; CARNEIRO et al., 2001; NOGUEIRA; CARDOSO, 2003). Além disso, o efeito da salinidade (HASHE et al., 2015) assim como melhora a relação entre a planta e a água, especialmente sob limitações nutricionais e, o micélio externo aumenta a estabilidade de agregados do solo (ALBUQUERQUE et al., 2005; PURIN, 2005). Os fungos micorrízicos

arbuscular, mediante efeitos diversos, nutricionais e não nutricionais, facilitam o crescimento vegetal, exercendo papel importante na revegetação de áreas degradadas (CARNEIRO; SIQUEIRA; MOREIRA, 2001). Além dos efeitos nutricionais, as micorrizas exercem outros papéis sobre a planta hospedeira, os quais são resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 – Principais efeitos promotores dos fungos MA no crescimento vegetal.

Efeitos nutricionais	Efeitos não nutricionais
Aumento na absorção de nutrientes	Favorecimento na relação planta água
Utilização de algumas formas de nutrientes não disponíveis no solo	Produção e acúmulo de substância de crescimento
Armazenamento temporário de nutrientes	Redução dos danos causados por patógenos
Favorecimento de microrganismos benéficos como fixadores de N ₂ e solubilizadores de fosfato	Maior tolerância a estresses ambientais e fatores fitotóxicos (ex: herbicidas e poluentes orgânicos e metais)
Amenização dos efeitos adversos do pH e excesso de metais na absorção de nutrientes	Melhoria na agregação do solo e maior acúmulo de substâncias bioativas

Fonte: Moreira e Siqueira (2006).

Hashe et al. (2015) investigando o efeito salino no crescimento de *Panicum turgidum* (Poaceae), observaram que as plantas com micorrizas são menos afetadas que as sem micorrizas. De acordo com Johnson et al. (1997) as diferentes respostas no crescimento das plantas a essa simbiose podem ser atribuídas à diversidade funcional de fungos MA, dependendo da interação fungos MA-planta-condições ambientais.

Algumas espécies de fungos MA são vantajosas para certas plantas hospedeiras que outras espécies (VAN DER HEIJDEN et al., 1998) até mesmo isolados de uma mesma espécie de fungos MA possuem diferentes efeitos de crescimento na mesma planta hospedeira (MUNKVOLD et al., 2004). Além disso, vários fungos frequentemente coexistem dentro da mesma raiz (VAN TUINEM, 1998; ALLEN, 2003). Assim, os custos de carbono e benefícios funcionais para as plantas com ligação para as redes de micélio são provavelmente específicos de fungos e, porque a variação na fisiologia de fungos MA e a especificidade do hospedeiro

são partilhadas equitativamente por todas as plantas de uma comunidade (LEAKE et al., 2004).

Van der Heijden et al. (1998) demonstraram que a diversidade e a identidade de fungos MA foram fatores determinantes da diversidade de plantas e produção de biomassa em experimento realizado em microcosmo. Eles descobriram que diferentes espécies de plantas, tais como *Centaureum erythraea*, *Hieracium pilosella*, *Lotus corniculatus*, *Prunella grandiflora*, *Prunella vulgaris*, *Sanguisorba officinalis* e *Trifolium pratense* respondem diferentemente a espécies de fungos MA, portanto, alterações na composição provocaram mudanças na estrutura e composição da comunidade vegetal.

Deste modo, está bem evidenciada a importância da associação entre plantas e fungos MA, onde a influência dos fungos MA tem papel fundamental na sobrevivência de plantas.

2.5 PROTEÍNA DO SOLO REALCIONADA A GLOMALINA

A glomalina é uma glicoproteína componente da parede celular das hifas de fungos micorrízicos arbusculares (WRIGHT et al., 1996), depositada no solo após decomposição das hifas por microrganismos edáficos (DRIVER et al., 2005). A glomalina é definida com base na sua extração em citrato de sódio a alta temperatura ou em sua reatividade com o anticorpo monoclonal (LOVERLOCK et al., 2004). As frações facilmente extraíveis (PSRG-F) que representam a frações recentemente depositadas que ainda não sofreu transformações bioquímicas no solo (WRIGHT et al., 1996) e são relacionadas com a atividade de fungos MA (KOIDE; PEOPLES, 2013). A glomalina total (PSRG-T) apresenta-se fortemente ligada às argilas e através da acumulação de PSRG-F aumenta os teores de PSRG-T (KOIDE; PEOPLES, 2013), sendo necessárias até sete extrações sequenciais para sua completa remoção em alguns solos (WRIGHT; UPADHYAYA, 1998).

A glomalina tem sido relacionada com diversos processos do solo, como biorremediação em solos contaminados com metais pesados (BALACHANDRAN; MISHRA, 2012; WU et al., 2014; BAN et al., 2015). Porém, grande parte dos trabalhos realizados com as frações de glomalina relaciona-se com a estabilidade de agregados e o estoque de carbono no solo (SILVA et al., 2012; FOKOM et al., 2013; MUNKVOLD et al., 2015). O estoque de carbono orgânico do solo pode atingir 1.45 t ha⁻¹ de C em florestas tropicais apenas nos 10 cm superficiais, o que sugere que a glomalina constitui um importante reservatório do C

(LOVELOCK et al., 2004; FOKON et al., 2012), contribuindo para a formação e estruturação de agregados do solo (WRIGHT et al., 1996; LEAKE et al., 2004).

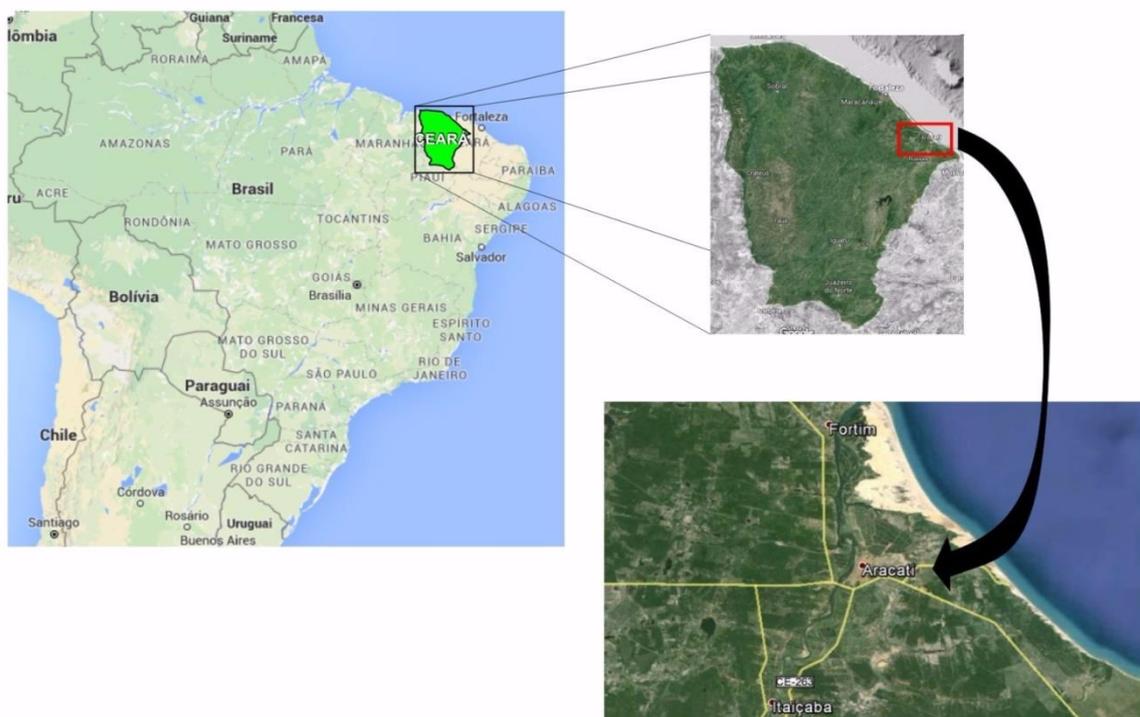
Foi observado em estudos sobre os padrões sazonais das frações de glomalina em diferentes fitofisionomias no bioma Caatinga, na Chapada do Araripe (CE) maiores valores de PSRG-F no período seco e menor no período com chuvoso (NOBRE et al., 2015). A fração de PSRG-T não mostrou sensibilidade à sazonalidade no mesmo estudo. Esses resultados indicam uma resposta dos fungos MA a situações de estresse, no qual seriam estimuladas a buscar nutrientes e água para manter o simbionte vegetal até que as condições ambientais se tornem favoráveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE ESTUDO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado em área da fazenda Belém (FZB) da Petrobrás no município de Aracati ($4^{\circ} 44'43.2''S$, $37^{\circ} 32'19.6''W$), Ceará, Brasil (Figura 2). O solo da área é classificado como Neossolo Quartzarênico e a vegetação como Floresta Tropical Sazonalmente Seca, conhecida popularmente como Caatinga (SAMPAIO, 1995).

Figura 2: Localização do município Aracati, Ceará, Brasil.



Fonte: Google Earth (2015).

A área foi cultivada em 2012 e 2013 com o girassol (*Helianthus annuus* L., cv. BRS 321), sob a irrigação com diferentes tipos de água (CRISÓSTOMO et al., 2015). A temperatura média do ar e a pluviosidade anual registradas em 2014 foram de $26^{\circ}C$ à $28^{\circ}C$ e 564,9 mm, respectivamente, sendo as chuvas frequentes nos meses de março a maio (FUNCEME, 2015).

As plantas de girassol, durante três ciclos sucessivos, foram irrigadas por gotejamento, utilizando-se lâminas adequadas de dois tipos de água produzida: a) água

produzida obtida por filtração e passagem por colunas de resina catiônica (APF), b) água produzida filtrada e tratada por osmose reversa (APO), mais o controle com água do subsolo captado do aquífero Açu (ACA). Todas as águas foram fornecidas pela Unidade de Operação da FZB da Petrobras. Os tratamentos de irrigação tinham três repetições (parcelas de 20 x 20 m) que foram distribuídas ao acaso na área experimental (Figura 3). As quantidades de água fornecidas às plantas durante três ciclos vegetativos (1,124 mm de APF, 1,060 mm de APO e 1,033 mm de ACA) foram estimadas por minilísimetros de coluna (0,4 m de diâmetro por 0,6 m de profundidade) instalados nas diferentes parcelas, levando-se em conta as taxas de evapotranspiração da cultura e as perdas de água por drenagem no perfil do solo (CRISÓSTOMO et al., 2015).

Figura 3 - Layout da unidade experimental na fazenda Belém, Aracati, Ceará, Brasil.

						APO
	ACA			APF		
APO						
	APF					ACA
						ACA
		APO	APF			

Fonte: Próprio autor.

3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS HERBÁCEAS SUCESSORAS

Aos cinco meses da última colheita de girassol (junho de 2014) foram demarcadas subáreas retangulares (1m x 2 m) nas diferentes parcelas experimentais. Para a demarcação das subáreas estabeleceu-se uma linha diagonal nas parcelas, de modo a obterem-se amostras de plantas representativas das áreas previamente cultivadas. O período de coleta das plantas sucessoras coincidiu com seu estágio de floração e produção de sementes, facilitando a

separação de grupos em campo e a identificação das espécies de vegetais. O aspecto visual das plantas em sucessão ao cultivo do girassol pode ser observado na Figura 4.

Figura 4- Aspecto visual das plantas herbáceas em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com **A.** Irrigação com água captada do aquífero Açu (ACA); **B.** água produzida filtrada (APF) e **C.** Água tratada por osmose reversa (APO).



Fonte: Próprio autor.

As plantas das áreas demarcadas (2 m²) foram cuidadosamente coletadas, separadas em grupos e quantificadas. Representantes dos grupos estabelecidos em campo foram separados, e partes contendo estruturas reprodutivas foram etiquetadas e colocadas em prensas e conduzidas ao Laboratório de Taxonomia de Angiospermae da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza. Após secagem e triagem foram confeccionadas exsiccatas e incluídas no Herbário Prisco Bezerra - EAC (acrônimo conforme THIERS, 2015)

da UFC. Para a identificação das espécies de herbáceas foram utilizadas chaves taxonômicas, bibliografia disponível no Herbário EAC, comparações com imagens disponíveis no sítio Lista de espécies da flora do Brasil, do JBRJ- Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

3.3 AVALIAÇÃO DA COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE HERBÁCEAS

As raízes de plantas herbáceas prevalentes nas parcelas subordinadas aos diferentes tratamentos de irrigação foram separadas para posterior análise. As porções intermediárias das raízes frescas e finas (< 0,2 mm) foram colocadas em frascos contendo uma solução alcoólica (ácido acético a 5% e álcool etílico a 90%) para sua conservação até a avaliação da colonização micorrízica, no Laboratório de Solos da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza/CE.

Para determinar a colonização por fungos MA, porções de 1 g das raízes finas foram clareadas em solução básica de KOH 10%, em autoclave a 121°C durante 12 min, seguindo-se Philips e Hayman (1970). Após esse procedimento, as raízes foram lavadas com água e cobertas com solução de água oxigenada (H₂O₂ a 1,25%), durante 20 min. Em seguida, as raízes foram lavadas em solução ácida (HCl a 1%), durante 4 min, coradas com azul de anilina (875 mL de ácido láctico, 63 mL de glicerina, 0,5 g do corante e 62 mL de água destilada), durante uma noite. Um total de 20 segmentos das raízes coradas de cada amostra foi montado em lâminas de vidro. Os segmentos foram cobertos com solução lacto-glicérica e lamínulas para a observação ao microscópio (100 a 400 x) da presença de micélio, vesículas e outras estruturas características dos fungos MA no interior das raízes. Na Figura 5, observam-se fragmentos colonizados de raiz de herbáceas, vistos ao microscópio (400x).

3.4 COLETA DO SOLO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Amostras compostas do solo formadas de dez amostras simples das subáreas demarcadas, foram coletadas na camada superficial (até 0,1 m de profundidade), colocadas em sacolas devidamente etiquetadas, para posterior análise na Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza. Em seguida, essas amostras foram secas ao ar livre e passadas em peneira com 2 mm de abertura de malha, para posterior análises. Para a determinação do pH em água (proporção 1:2,5) e extração dos elementos P, K, Na, Fe, Cu, Mn, Zn (Merlich 1), Ca, Mg (solução KCl 1 mol) e carbono orgânico seguiu-se os procedimentos de Silva (2009).

Estas análises serviram para caracterizar o solo na ocasião da sua coleta em junho 2014 (Tabela 4), após a irrigação e o cultivo com plantas de girassol.

Tabela 4- Valores de pH, carbono orgânico (CO) e nutrientes do solo (camada de 0-10 cm) em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com diferentes águas.

Água	pH	CO	Ca	Mg	K	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
		g/kg	mmol/cm ³				mg/cm ³				
APF	7,30	5,30	20,90	12,70	2,40	6,30	206,60	3,80	4,80	25,30	3,20
APO	7,20	5,30	25,10	13,80	2,20	2,00	240,50	4,20	6,80	25,50	3,20
ACA	7,80	6,20	20,80	21,10	2,10	3,00	241,70	4,90	7,00	38,00	4,70

APF: irrigação com água produzida filtrada; APO: tratada por osmose reversa; ACA: água captada do aquífero Açú (ACA).

Fonte: Próprio autor.

3.5 EXTRAÇÃO DE ESPOROS E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS MA

Para a contagem de esporos de fungos MA foi empregado o método de peneiramento úmido proposto por Sieverding (1991), seguido de centrifugação e flutuação em sacarose. A amostra de solo (100 g) foi suspensa em 1 L de água e agitada vigorosamente para permitir a suspensão das partículas e a desagregação dos agregados maiores do solo. Em seguida, foi feita a decantação por aproximadamente 2 min, para as partículas maiores que os esporos possam sedimentar. O sobrenadante foi passado através de peneiras de 0,2 mm de abertura de malha e lavada na peneira de n° 400 (0,036 mm). Os esporos retidos na peneira de n° 400 foram transferidos para um tubo de centrífuga com capacidade para 100 mL, sendo completado o volume com água e centrifugado por 5 min a 1750 rpm.

Em seguida o sobrenadante foi cuidadosamente descartado e adicionado solução de sacarose (50%) nos tubos de centrífuga, seguindo de uma nova centrifugação na mesma rotação durante 60 segundos. O sobrenadante foi vertido numa peneira n° 400, lavando em água corrente para eliminação do açúcar. Depois, a suspensão foi colhida em frasco, para estimar o número total de esporos de fungos MA ao microscópio óptico (40 a 100 x), utilizando-se uma placa de Petri riscada a intervalos de 0,5 cm. Após sua extração do solo, os esporos de fungos MA foram quantificados, separados por tamanho, cor e forma para confeccionar lâminas com representantes de cada grupo de esporos. Na montagem dos esporos utilizou-se PVLG (álcool polivinílico em lactoglicerol) e PVLG/reagente de Melzer (1:1 v/v), para posterior identificação das espécies fúngicas, seguindo os procedimentos do

manual de identificação de Schenck e Pérez (1990) e descrições fornecidas na página da International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM.

3.6 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE GLOMALINA

Duas frações de PSRG (glomalina facilmente extraível-GF; glomalina total-GT) foram distinguidas em função das condições de extração e do método de quantificação (RILLIG, 2004; WRIGHT; UPDAHYAYA, 1998). A proteína do solo relacionada à glomalina facilmente extraível (PSRG-F) foi obtida a partir da extração em autoclave, utilizando-se 1 g de solo e 8 ml de solução de citrato de sódio 20 mM (pH 7,4), a uma temperatura de 121 °C por 1 hora. Posteriormente à autoclavagem, foi realizada centrifugação a 5.000 rpm por 15 min, onde o sobrenadante foi armazenado em tubos de penicilina. O sobrenadante foi medido para quantificar a proteína. A quantidade de proteína do solo relacionada à glomalina total (PSRG-T) foi obtida utilizando-se 1 g de solo e 8 ml de citrato de sódio 50 mM, com pH 8,0 a 121°C, por 60 min. Para extração desta fração, foram necessários três ciclo de autoclavagem, até que a amostra atingisse a cor amarelo-clara (Figura 5). Em ambas as frações, posteriormente à autoclavagem, foi realizada centrifugação a 5000 X g por 20 min, onde o sobrenadante foi removido para posterior quantificação da proteína. A quantificação da glomalina foi realizada pelo método Bradford (1976) modificada por Wright et al., (1996), usando como padrão soro-albumina bovina. As concentrações da glomalina, para ambas as frações, foram corrigidas para mg g⁻¹ de solo, considerando-se o volume total de sobrenadante e a massa seca do solo.

Figura 5 - Aparência das amostras após 3 ciclos de extração, sendo a coloração mais escura os ciclos iniciais e mais clara os ciclos finais.



Fonte: Próprio autor.

3.7 CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

Para determinação de COT, foi adotado o método descrito por Silva (2009), com algumas adaptações, através da oxidação do carbono do solo pelo dicromato em meio ácido e aquecido, sendo o dicromato (Cr^{6+}), remanescente da oxidação, titulado com sulfato ferroso amoniacal. Cada amostra de solo, 0,5 g previamente macerado e peneirado, foram transferidas para Erlenmeyer de 250 mL e adicionados 10 mL de dicromato de potássio (0,167M) e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Foi acoplado um condensador na boca de cada frasco e, em seguida, os mesmos foram levados a uma chapa aquecedora a 150 °C. Depois que todos os condensadores começaram a gotejar, marcou-se o tempo de 5 minutos de aquecimento, retirando-se as amostras da chapa aquecedora e aguardando para resfriarem. Posteriormente foram adicionados 80 mL de água destilada, 2 mL de ácido ortofosfórico concentrado e 3 gotas de difenilamina para realizar a titulação com sulfato ferroso amoniacal.

3.8 ANÁLISE DE DADOS

Para análise das espécies de plantas e fungos MA foram utilizadas as combinações da abundância relativa e a frequência relativa das espécies, conforme foi proposto por Dufrene, Legendre (1997); e a significância de espécies indicadoras dos diferentes tratamentos foi feita por testes de permutação (DUFRENE; LEGENDRE, 1997). Na avaliação, as espécies que apresentaram valor de indicação (IndVal) > 0,6; frequência > 3; $p \leq 0,05$ foram consideradas válidas para este estudo. Merece ressaltar que esta análise de espécies indicadoras (IndVal), mostra a maior tendência de uma espécie ocorrer com maior frequência e abundância em um ambiente, e que deveria ser considerado em solos contaminados por sais ou outros constituintes químicos e orgânicos.

O efeito dos tratamentos de irrigação sobre abundância e a riqueza de espécies vegetais e de fungos MA, os teores de glomalina total e facilmente extraível, de colonização micorrízicas das plantas herbáceas foram avaliados utilizando o Modelo Linear Generalizado (GLM), modelado através da distribuição de Poisson. Antes da avaliação, os dados de colonização de raízes por fungos MA foram transformados em arco sen $(x+1/100)^{0.5}$ para sua normalização. As médias dos tratamentos das diferentes variáveis foram comparadas, utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade e o *software* SAS (versão 9.2) (SAS INSTITUTE, 2008).

4 RESULTADOS

4.1 COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA

Na área experimental avaliada, foram identificadas um total de 2390 plantas, representadas por 10 famílias e 18 espécies (Tabela 5). Os indivíduos dominantes pertencem à espécie *Dactyloctenium aegyptium*, seguida de *Eragrostis tenella*, *Mollugo verticillata*, *Croton glandulosus*, *Waltheria americana* e *Croton hirtus*.

Tabela 5 - Populações de comunidades de herbáceas e respectivas famílias, n° de indivíduos e frequência (F%) em sucessão ao cultivo de girassol sob diferentes tratamentos na fazenda Belém, Aracati, Ceará, Brasil.

(Continua)

Família/ Espécie	Tratamentos de irrigação							
	ACA		APF		APO			EAC
	Indivíduos	F (%)	Indivíduos	F (%)	Indivíduos	F (%)		
Aizoaceae								
<i>Trianthema portulacastrum</i> (L.)	9,00	1,04	0,00	0,00	0,00	0,00	56092	
Amaranthaceae								
<i>Froelichia humboldtiana</i> (Schult.) Seub.	1,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	56103	
Convolvulaceae								
<i>Merremia aegyptia</i> (L.) Urb.	3,00	0,35	0,00	0,00	7,00	1,89	56100	
Euphobiaceae								
<i>Croton hirtus</i> (L.'Hér)	0,00	0,00	0,00	0,00	61,00	16,44	56094	
<i>Croton glandulosus</i> (L.'Hér)	16,00	1,84	1,00	0,09	10,00	2,70	56097	
<i>Jatropha ribifolia</i> (Pohl) Baill.	1,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	56086	
Fabaceae								
<i>Mimosa candollei</i> R.Grether	1,00	0,12	0,00	0,00	1,00	0,27	56095	
<i>Tephrosia purpurea</i> (L.) Pers. subesp. <i>purpurea</i> .	1,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	56084	
Malvaceae								
<i>Waltheria americana</i> (L.)	19,00	2,19	4,00	0,35	25,00	6,74	56106	
<i>Pavonia cancellata</i> (L.) Cav.	7,00	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00	56099	
<i>Herissanthia tiubae</i> (R.Schum.) Brizicky.	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,27	56087	
Moluginaceae								
<i>Mollugo verticillata</i> (L.)	48,00	5,52	12,00	1,04	20,00	5,39	56107	
Nyctaginaceae								
<i>Boerhavia difusa</i> Cham. & Schltldl.	4,00	0,46	1,00	0,09	0,00	0,00	56098	
Poaceae								
<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.)	495,00	56,96	1130	98,26	212,00	57,14	56105	

Willd.								
<i>Eragrostis tenella</i> (L.) P.Beauv. ex Roem. & Schult.	258,00	29,69	2,00	0,17	16,00	4,31	56108	
<i>Panicum sp.</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	6,00	1,62	56102	
Rubiaceae								
<i>Borreria scabiosoides</i> Cham. & Schltl.	6,00	0,69	0,00	0,00	4,00	1,08	56109	
<i>Diodella apiculata</i> (Willd ex. Roem. & Schuldt.) Delprete	0,00	0,00	0,00	0,00	8,00	2,16	56090	
Total	869,00	1150,00			371,00			

Irrigação com água captada do aquífero Açu (ACA), água produzida filtrada (APF) e tratada por osmose reversa (APO). Frequência (F) = 100 (Nº de indivíduos da espécie /Total de indivíduos da parcela), EAC= Registro no herbário Prisco Bezerra (EAC).

Fonte: Próprio autor.

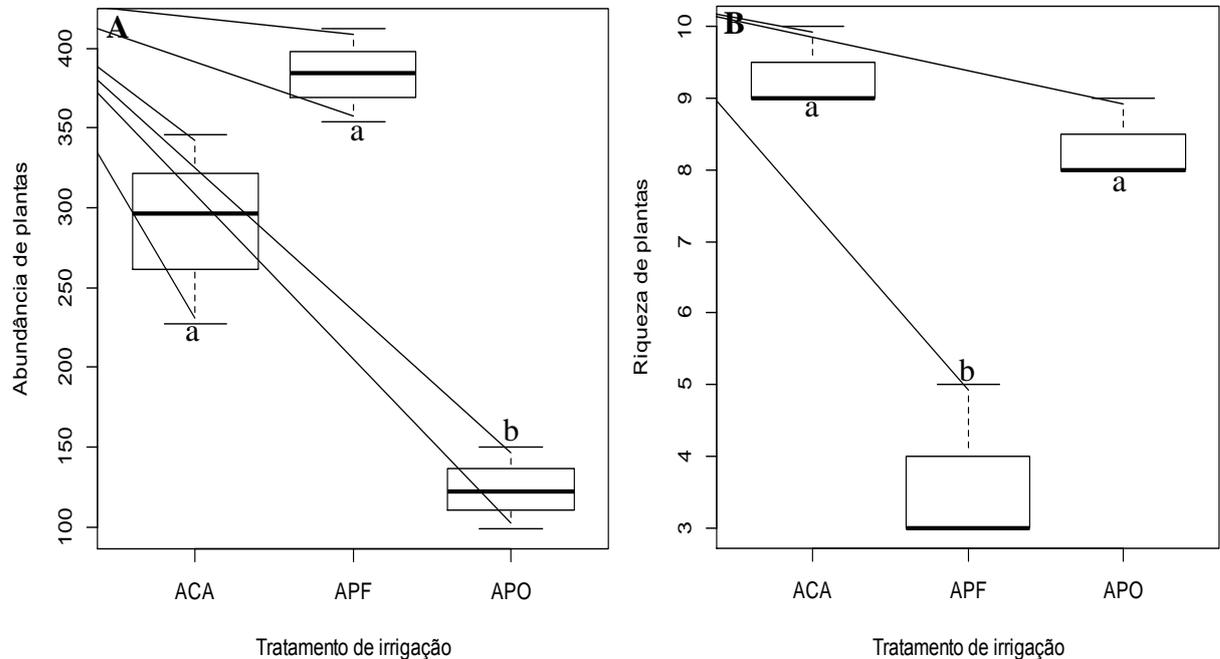
A diversidade de plantas foi reduzida para 14 espécies no tratamento previamente irrigado com ACA (controle); para 12 espécies vegetais em tratamento como APO, e 6 espécies em parcelas que receberam APF, onde o teor de Na era mais elevado (Tabela 4). Vale observar que APF passou por processo de filtração e colunas de resina catiônica na indústria antes da sua aplicação no solo, demonstrando o impacto de AP sobre a vegetação espontânea em sucessão à cultura de girassol.

Das dezoito espécies de herbáceas identificadas na área experimental, *Dactyloctenium aegyptium* esteve relacionada com o uso de APF ($IndVal = 0,62$; $p = 0,04$), *Panicum sp.* ($IndVal = 1,00$; $p = 0,04$) *Diodella apiculata* ($IndVal = 1,00$; $p = 0,04$) com o uso de APO, *Trianthema portulacastrum* ($IndVal = 1,00$; $p = 0,04$) e *Eragrostis tenella* ($IndVal = 0,93$; $p = 0,04$) com o tratamento que recebeu ACA.

A abundância das plantas observadas no tratamento com APF pode ser associada à proliferação da espécie *Dactyloctenium aegyptium*. Esta espécie contribuiu para maior dominância nas parcelas irrigadas com APF. Já nos demais tratamentos o número de indivíduos variou menos para as diferentes espécies de plantas.

A maior abundância de herbáceas (1.132 plantas) ocorreu no tratamento com APF ($p = 0,031$) e a menor foi observada em parcelas irrigadas com APO ($p = 0,003$), conforme se evidencia na Figura 6A. Por sua vez, a riqueza de espécies herbáceas foi menor nas parcelas tratadas com APF ($p = 0,005$) em relação aos demais tratamentos de irrigação (Figura 6B).

Figura 6- Abundância (A) e riqueza relativa (B) de herbáceas em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com água captada do aquífero Açu (ACA); água produzida filtrada (APF) e água tratada por osmose reversa (APO). Letras idênticas indicam que os tratamentos não foram significativamente diferentes ($p < 5\%$).



Fonte: Próprio autor.

4.2 MICORRIZAÇÃO DE HERBÁCEAS PREVALENTES EM ÁREAS IRRIGADAS COM ÁGUA PRODUZIDA

Todos os indivíduos de *Dactyloctenium aegyptium*, *Eragrostis tenella* (ambas pertencentes a família Poaceae), *Waltheria americana* (Malvaceae) e *Mollugo verticillata* (Moluginaceae) estavam micorrizadas, porém a intensidade de colonização das raízes por fungos MA não foi influenciada significativamente pelos tratamentos de irrigação (Tabela 6). Outras espécies como *Croton hirtus* (Euphorbiaceae), frequente em APO, e a espécies *Borreria scabiosoides* (Rubiaceae) presente em algumas parcelas irrigadas com APO e ACA, igualmente estavam micorrizadas. Em geral, a colonização de raízes por fungos MA variou de 19 a 35% para *Waltheria americana*, 22 a 30 % para *Dactyloctenium aegyptium*, 55% para *Croton hirtus*, 10 a 35 % para *Borreria scabiosoides*, 11 % a 20% para *Eragrostis tenella* e 13% a 15% para *Mollugo verticillata*.

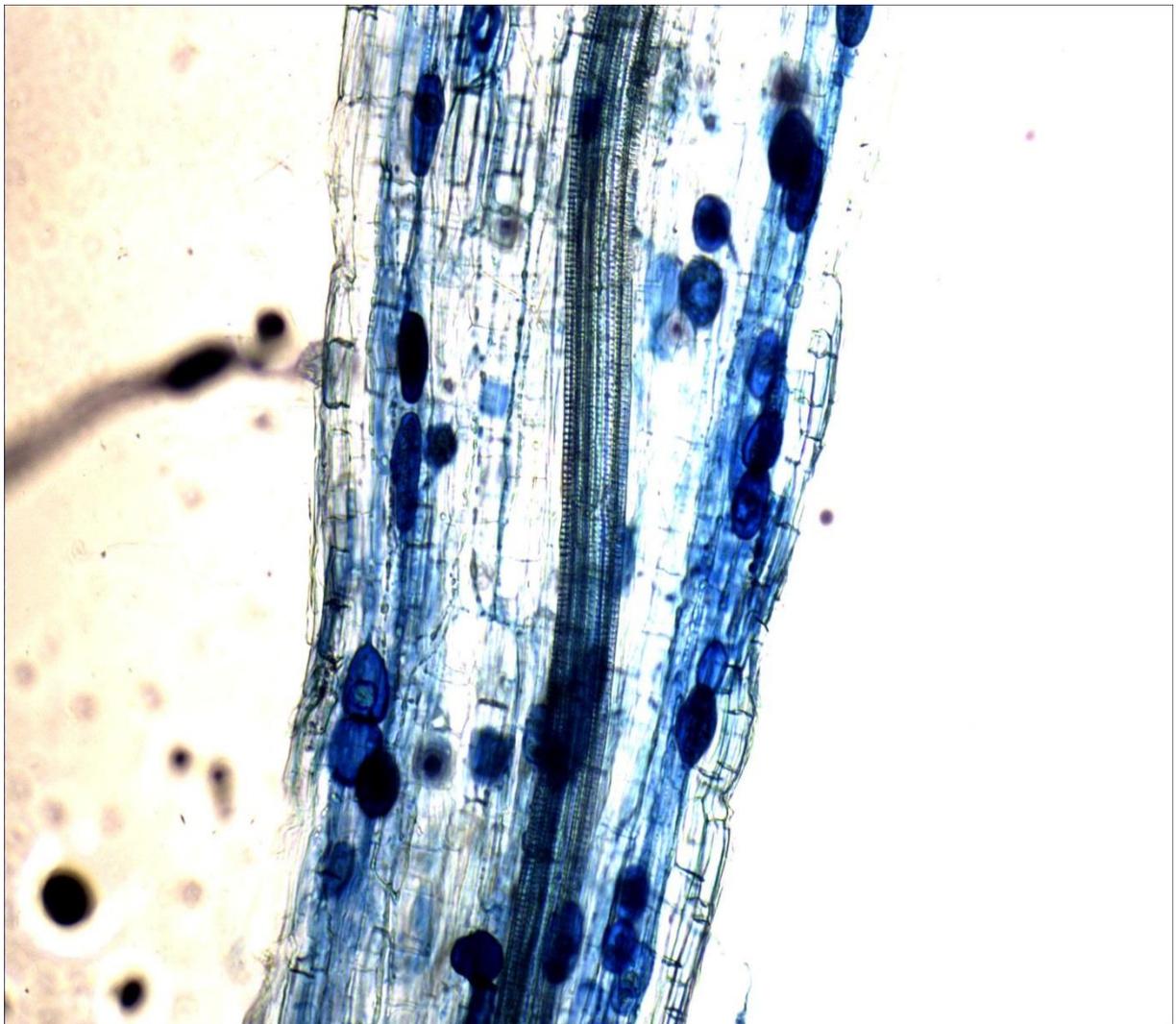
Tabela 6 - Colonização micorrízica das herbáceas frequentes em parcelas experimentais previamente cultivadas com girassol irrigado com diferentes águas.

Tratamento	Plantas			
	<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	<i>Waltheria americana</i>	<i>Mollugo verticillata</i>	<i>Eragrostis tenella</i>
ACA	22,10 ns	35,80 ns	13,30 ns	20,00 ns
APF	30,50 ns	19,50 ns	15,70 ns	11,70 ns
APO	28,00 ns	34,80 ns	14,20 ns	16,20 ns

Água captada do aquífero Açú (ACA), irrigação com água produzida filtrada (APF) e tratada por osmose reversa (APO). Colonização foi transformada em arco seno $(x+1/100)^{0.5}$. NS* não significativa pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Próprio autor.

Figura 7– Fragmento colonizado da raiz de *Dactyloctenium aegyptium* por fungos MA.



Fonte: Próprio autor.

4.3 DIVERSIDADE DE FUNGOS MA NO SOLO IRRIGADO COM ÁGUA PRODUZIDA

Em amostras do solo da área experimental foram identificados esporos de dez espécies de fungos MA (Tabela 7), sendo quatro pertencentes à família Acaulosporaceae, duas à Gigasporaceae e uma espécie fúngica para as seguintes famílias: Ambisporaceae, Diversisporaceae, Glomeraceae e Paraglomeraceae.

Tabela 7- Populações de comunidades de esporos de fungos micorrízicos arbusculares do solo (nº por 100 g de solo) e respectivas famílias em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes tratamentos de irrigação na fazenda Belém, Aracati, Ceará.

Família/ Espécies	Tratamentos de irrigação					
	ACA		APF		APO	
	Esporos	F %	Esporos	F %	Esporos	F %
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora</i> aff. <i>bireticulata</i> F.M. Rothwell & Trappe	43,00	7,72	19,00	7,20	46,00	8,30
<i>Acaulospora</i> aff. <i>excavata</i> Ingleby & Walker	0,00	0,00	151,00	57,00	239,00	43,30
<i>Acaulospora</i> sp.1	227,00	40,75	0,00	0,00	32,00	5,80
<i>Acaulospora</i> sp.2	98,00	17,59	0,00	0,00	0,00	0,00
Ambisporaceae						
<i>Ambispora fennica</i> C. Walker, Vestberg & A. Schüßler	34,00	6,10	12,00	4,50	22,00	4,00
Diversisporaceae						
<i>Diversispora aurentia</i> (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & Schüßler	48,00	8,62	56,00	21,10	53,00	9,60
Gigasporaceae						
<i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall	35,00	6,28	0,00	0,00	68,00	12,30
<i>Racocetra castanea</i> (C. Walker) Oehl, F. A. Souza & Sieverd	35,00	6,28	22,00	8,30	28,00	5,10
Glomeraceae						
<i>Funneliformis geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & A. Schüßler	37,00	6,64	5,00	1,90	32,00	5,80
Paraglomeraceae						
<i>Paraglomus</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	32,00	5,80
Total	557		265		552	

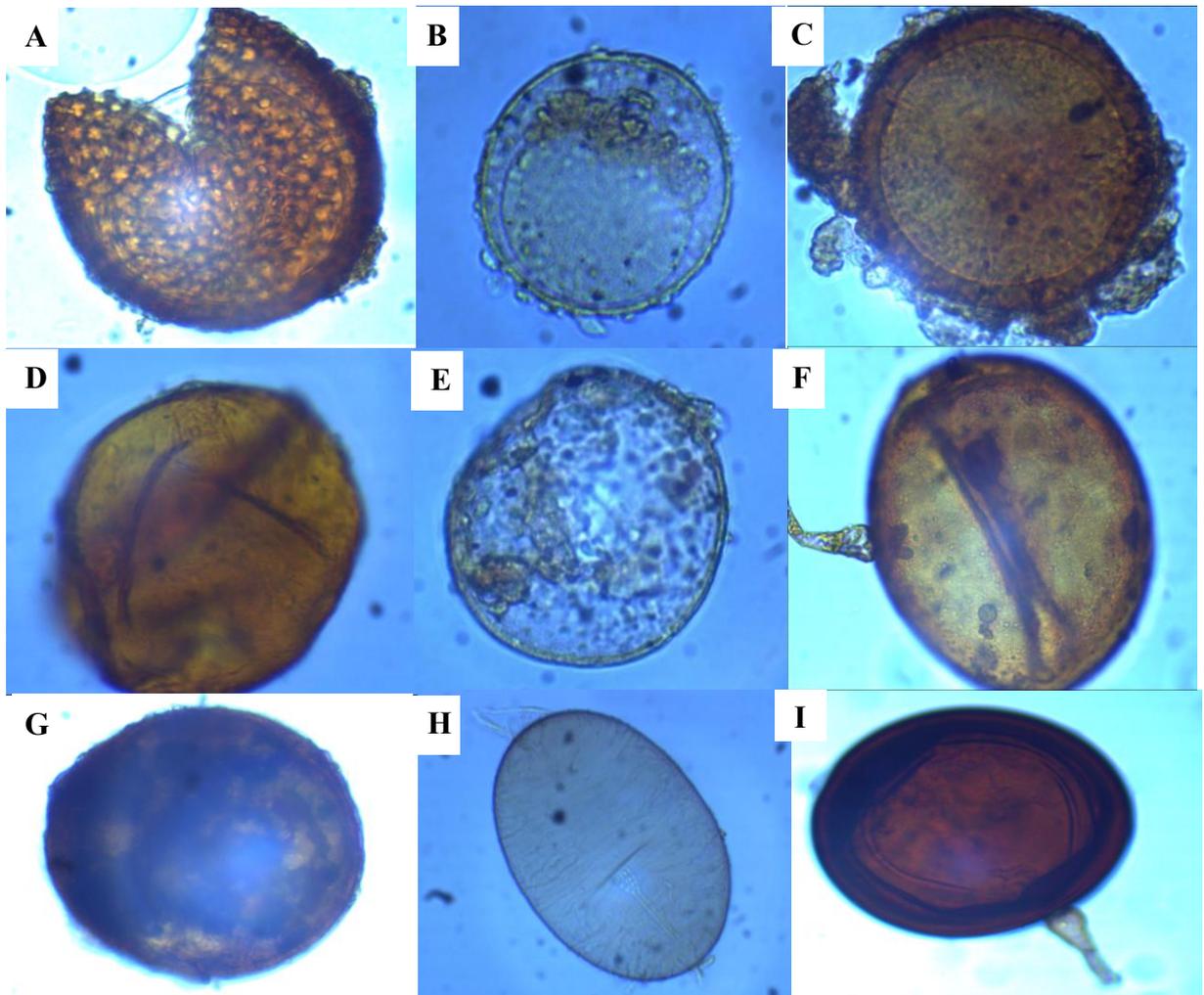
Irrigação com água captada do aquífero Açú (ACA); água produzida filtrada (APF) e tratada por osmose reversa (APO). Frequência de esporos (F%).

Fonte: Próprio autor.

A diversidade de morfotipos de esporos e espécies de fungos MA foi significativamente reduzida pela irrigação com APF, onde houve a perda de quatro espécies

fúngicas em relação ao tratamento APO (*Acaulospora* sp1, *Acaulospora* sp2, *Gigaspora margarita* e *Paraglomus* sp.). Mas, vale destacar que a espécie *Paraglomus* sp. também não foi detectada no solo irrigado com ACA. A presença de *Paraglomus* pode estar associada à ocorrência de *Panicum* sp., *Croton hirtus*, *Diodella apiculata* ou a ausência de *Boerhavia difusa* no solo que recebeu APO (Tabela 5). As características morfológicas dos fungos MA podem ser observadas na Figura 8 e na Tabela 8.

Figura 8- Morfortipos de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas na fazenda Belém, Aracati, Ceará. **A)** *Acaulospora bireticulata* F.M. Rothwell & Trappe, **B)** *Acaulospora excavata* Ingleby & Walker, **C)** *Ambispora fênica* C. Walker, Vestberg & A. Schüßler, **D)** *Acaulospora* sp.1, **E)** *Acaulospora* sp.2, **F)** *Gigaspora margarita* Becker & Hall, **G)** *Funneliformis geosporum* (Nicol. & Gerd.) Walker & A. Schüßler, **H)** *Paraglomus* sp., **I)** *Racocetra castânea* (C. Walker).



Fonte: Próprio autor.

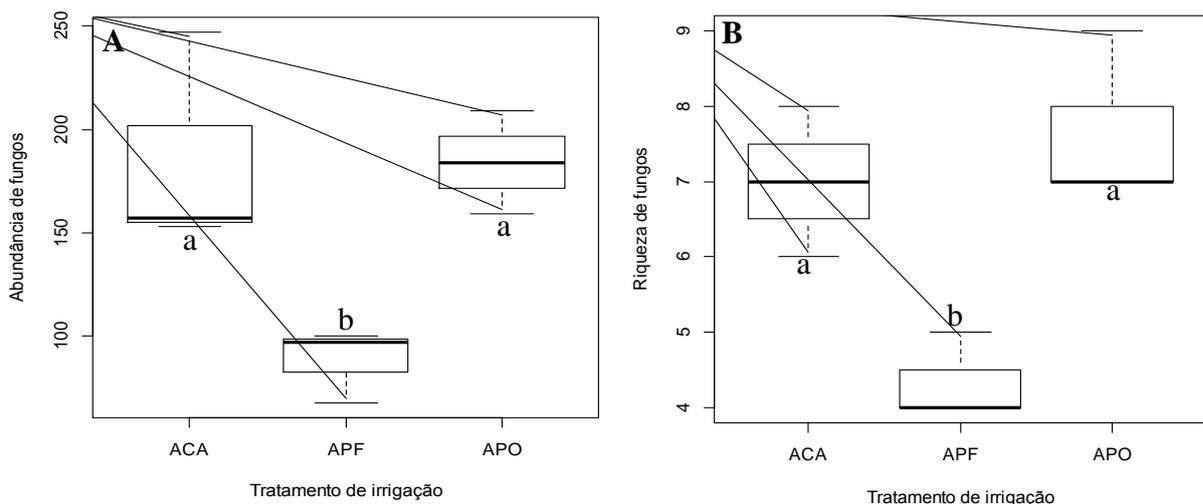
Tabela 8- Descrição morfológica de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas na fazenda Belém, Aracati, Ceará.

Nº	Gênero	Cor	Tamanho	Formato/Similaridade	Superfície	Características morfológicas	Espécie
1	<i>Acaulospora</i>	Amarelo	120-180 µm	Redondo	Rugoso	Parede ornamentada	<i>A. aff. bireticulata</i> F.M. Rothwell & Trappe
2	<i>Acaulospora</i>	Amarelo	100 µm	Oval	Liso		<i>A. aff. excavata</i> Ingleby & Walker
3	<i>Ambispora</i>	Amarelo		Oval/Desuniforme	Rugoso	Parede ornamentada	<i>A. fennica</i> C. Walker, Vestberg & A. Schüßler
4	<i>Acaulospora</i>	Roxo		Oval/Alongado	Rugoso		<i>Acaulospora</i> sp.1
5	<i>Acaulospora</i>	Marrom		Oval	Rugosa	Parede ornamentada	<i>Acaulospora</i> sp.2
6	<i>Diversispora</i>	Amarelo brilhante		Oval	Liso	Esporo pequeno	<i>D. aurentia</i> (Błaszk. Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & Schüßler
7	<i>Gigaspora</i>	Alaranjado	250 - 375µm	Redondo	Liso	Presença de bulbo	<i>G. margarita</i> Becker & Hall
8	<i>Funneliformis</i>	Amarelo/marrom	120-240 µm	Redondo	Liso	2 paredes	<i>F. geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & A. Schüßler
9	<i>Paraglomus</i>	Laranja		Redondo	Liso		<i>Paraglomus</i> sp.
10	<i>Racocetra</i>	Marrom claro/avermelhado	240-350 µm	Oval	Liso		<i>R. castanea</i> (C. Walker)

Fonte: Próprio autor.

Em termos de abundância de esporos de fungos MA, não se detectou variações entre os tratamentos com ACA e com APO, mas houve redução significativa dos esporos fúngicos no tratamento que recebeu APF ($p = 0,015$) (Figura 9A), bem como a menor riqueza de espécies de fungos MA (Figura 9B). Da mesma forma que foi reduzida a diversidade florística do estrato herbáceo (Tabela 5) houve redução na esporulação de fungos MA em solo que recebeu APF, o que pode ser atribuído ao elevado o teor de Na disponível neste tratamento de irrigação (Tabela 4), e que em longo prazo pode afetar o potencial produtivo do agrossistema.

Figura 9- Abundância (A) e riqueza relativas (B) de fungos MA em sucessão ao cultivo de girassol irrigado com água captada do aquífero Açú (ACA); água produzida filtrada (APF) e água tratada por osmose reversa (APO). Letras idênticas indicam que os tratamentos não foram significativamente diferentes ($p < 5\%$).



Fonte: Próprio autor.

4.4 TEOR DE GLOMALINA DO SOLO

Os teores das frações de proteínas relacionadas à glomalina (PSRG-F, PSRG-T) foram superiores no solo irrigado com ACA (Tabela 9); já os menores valores de PSRG-F oriunda do micélio de fungos MA foram detectados no solo irrigado com APO. No processo de tratamento esta água recebeu glutaraldeído, um biocida que visa impedir filme bacteriano nas membranas filtrantes usadas na indústria do petróleo. Por sua vez, a fração PSRG-T foi mais estável no solo, sendo indiferentes os teores da variável para os tratamentos como APO e APF.

Tabela 9- Teor de proteínas relacionadas à glomalina total (PSRG -T) e facilmente extraível (PSRG-FE) do solo, em sucessão ao cultivo de plantas de girassol irrigado com diferentes águas.

Variáveis	Unidade		Tratamentos de irrigação		
			ACA	APF	APO
PCRG-T	mg seco	g-1 solo	1,40 a	0,94 b	1,07 b
PCRG-F	mg seco	g-1 solo	0,63 a	0,45 b	0,28 c

Irrigação com água captada do aquífero Açu (ACA); água produzida filtrada (APF) e água tratada por osmose reversa (APO). Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Próprio autor.

5 DISCUSSÃO

A irrigação da cultura de girassol com AP teve um impacto na diversidade de plantas herbáceas sucessoras e nos grupos funcionais de fungos MA do solo. A redução na diversidade de plantas e de fungos MA pode estar associada a presença de sais, sendo detectados até 6,3 mmol Na por cm³ de solo do tratamento com APF. De acordo com Yang et al. (2015), o excesso de Na propicia um menor crescimento das plantas. Entretanto, o nível de concentração de sais no solo pode afetar diferentemente as espécies vegetais (BAÑUELOS, 2015). Segundo Heinze et al. (2015) fatores bióticos, tais como competição, microorganismos patogênicos, parasitas e interações mutualísticas e fatores abióticos de acordo com Sproull et al. (2015) como temperatura, umidade e incidência de luz, também podem influenciar na estrutura da comunidade de plantas.

No tratamento com APF houve alta presença de *Dactyloctenium aegyptium* (Poaceae), espécie possivelmente mais tolerante ao estresse salino do solo. Esta gramínea não é halofítica, mas possui boa capacidade adaptativa em ambientes diversos (ADU et al., 1994). Algumas espécies da família Poaceae produzem sementes em grande quantidade, o que aumenta consideravelmente a disseminação em ambientes com condições diversas (HOLM et al., 1991).

Outras espécies de herbáceas como *Panicum* sp., *Diodella apiculata* foram indicadoras do tratamento com APO, enquanto as espécies *Trianthema portulacastrum* e *Eragrostis tenella* foram associadas ao tratamento controle que recebeu ACA. Vale ressaltar que *Panicum* sp. não foi detectado em parcelas irrigadas com APF, resultado que vem a corroborar as observações feitas por Koyro et al. (2013). Estes pesquisadores demonstraram que representantes do gênero *Panicum* apresentam pouca tolerância à salinidade do solo.

A espécie *Trianthema portulacastrum* foi indicadora do controle ACA e sua frequência pode estar associada ao potencial em produzir substâncias que inibem a germinação de outras plantas, conforme relataram Mubarik et al. (2015). Já as espécies *Diodella apiculata* e *Eragrostis tenella* pertencentes às famílias Rubiaceae e Poaceae, respectivamente, comumente ocorrem no componente herbáceo do semiárido brasileiro (MACHADO et al., 2015).

A colonização micorrízica arbuscular de herbáceas mais frequentes foi indiferente aos tratamentos de irrigação. Porém, as taxas de colonização das raízes por fungos MA variaram na seguinte ordem decrescente: *Waltheria americana* > *Dactyloctenium aegyptium* > *Croton hirtus* > *Borreria scabiosoides* > *Eragrostis tenella* > *Mollugo verticillata*. Mesmo

com as baixas taxas de micorrização, as plantas podem ter se beneficiado da associação com os fungos MA. Observa-se que havia alto nível de fósforo no solo, 206,6 mg P por cm³ de solo irrigado com APF e mais de 240 mg P por cm³ de solo irrigado com APO e ACA, o que pode ter restringido a atividade de fungos MA associados às herbáceas. Menores taxas de micorrização das plantas têm sido observadas em solo com elevado teor de nutrientes disponíveis, como fósforo (PROPSTER; JOHNSON, 2015). Estudando o efeito do P sobre a micorrização do abacaxizeiro, De Siqueira, Zambolim e Cardoso (2015), observaram que maiores doses de P diminuiu a colonização radicular de fungos MA. Indicando a necessidade de teores mínimos de P no solo para que sejam colonizadas pelos fungos MA. Ademais, nas parcelas irrigadas com APF detectou-se alto teor de Na trocável no solo, de acordo com vários autores (SAINT-ETIENNE et al., 2006; GUO; GONG, 2014; KRISHNAMOORTHY et al., 2014; BENCHERIF, 2015) a presença deste elemento reduz a colonização micorrízica e podendo afetar o crescimento, e a produção de sementes das plantas.

O impacto da irrigação com APF foi evidenciado nas populações de esporos de comunidades de fungos MA do solo. Mas, o crescimento micelial e a consequente esporulação de fungos MA também é afetada pela condição ambiental. No presente trabalho, as amostras foram coletadas ao final da época chuvosa, e os sistemas com solo úmido comportam baixas populações de esporos de fungos MA (PAGANO et al., 2013; SOUSA et al., 2014). Embora os teores de P no solo sejam considerados elevados, mais de 240 mg P por cm³ de solo irrigado com APO e ACA e 206,6 mg P por cm³ de solo irrigado com APF (Tabela 4), a produção de glomerosporos parece não sofrer influência desse nutriente. De Siqueira, Zambolim e Cardoso (2015), observaram que somente em valores acima de 600mg de P/dm³, a população de glomerosporos decresce, parecendo não haver correlação entre a produção de esporos e a porcentagem de colonização, indicando a independência entre as variáveis, comprovando os resultados obtidos nesse trabalho. A produção de glomerosporos é característica para as espécies de fungos MA (STÜRMER; SIQUEIRA, 2011), e pode ser afetada pelas plantas e os fatores do ambiente, sendo que alguns tipos de manejo, tais como sistemas de integração lavoura-pecuária, sistema de plantio direto pode levar a redução da esporulação de fungos MA no solo (CORDEIRO et al., 2007).

O estágio de sucessão das herbáceas e a pouca diversidade de plantas observadas em parcelas irrigadas com APF podem ter desfavorecido a proliferação de fungos MA, onde as espécies da família Poaceae dominam a vegetação. Em uma sucessão vegetal mais avançada tem-se observado maior riqueza de fungos MA (SOUSA et al., 2014), e no presente trabalho a diversidade das plantas e de fungos MA foi maior em parcelas irrigadas com APO

e ACA, observando-se maior número de espécies. Em estudos realizados por Hashe et al. (2015), observaram que fungos MA melhoraram o impacto negativo da salinidade sobre membros da família Poaceae, garantindo um melhor crescimento sob condições de estresse. Também foi observado, segundo Soares et al. (2012) que a associação micorrízica proporcionou melhoria no crescimento vegetativo e nutrição espécies da família Rubiaceae. O estudo demonstrou também que geralmente existe seletividade do hospedeiro por determinadas espécies de fungos MA, e esta seletividade não é para eficiência e sim, para sobrevivência. Algumas espécies das famílias Malvaceae e Euphorbiaceae foram observadas em estudo realizado por Souza et al. (2003) com bom percentual de colonização e presença de esporos de fungos MA na rizosfera, confirmando-se a importância dos fungos MA no estabelecimento das plantas, e na manutenção de ecossistemas. No presente estudo as famílias Euphorbiaceae, Malvaceae, Poaceae e Rubiaceae foram às famílias com maior número de espécies, sugerindo que a riqueza de plantas desempenha papel importante na diversidade e na abundância de fungos MA e a presença de fungos MA garante a sobrevivência e crescimento das plantas.

Dentre os morfotipos de esporos das dez espécies fúngicas identificadas, quatro pertencem ao gênero *Acaulospora*. A diversidade deste gênero pode ser associada à diversidade de herbáceas e as características do solo. Mafaziya e Madawala (2015) também observaram em áreas degradadas uma maior frequência de esporos do gênero *Acaulospora* e maior número de espécies da família Poaceae. A frequência de algumas espécies do gênero *Acaulospora* pode estar relacionado com o pH do solo (STÜRMER et al., 2006; SHENG et al., 2008), sendo que no presente trabalho houve a variação de pH 7,2 em solo irrigado com APO a pH 7,8 em parcelas que receberam ACA. As condições do solo podem ter favorecido a proliferação de algumas espécies, sendo que o gênero *Acaulospora* é comumente observado nos períodos de maior pluviosidade no norte (CAPRONI et al., 2003) e sudeste do Brasil (AIDAR et al., 2004). De outro modo, tem-se o estresse salino do solo como fator limitante na proliferação de fungos MA. Certamente os fatores como rizosfera e diversidade florística afetam a proliferação de fungos MA no solo, mas este resultado não parece ser suficiente para considerar a especificidade de herbáceas com *Paraglomus* sp. Algumas espécies como *Acaulospora* sp.1 e *Gigaspora margarita* estavam ausentes no tratamento com APF, e o gênero *Gigaspora* tem sido observado com frequência em solos de baixa salinidade (BENCHERIF et al., 2015).

Algumas outras espécies fúngicas como *Acaulospora bireticulata*, *Ambispora fenica*, *Racocetra castanea* e *Funneliformis geosporum* estavam presentes nas diferentes

parcelas, indicando uma possível adaptação às condições edáficas e climáticas. A diversidade de fungos MA e sua simbiose com as plantas possivelmente afetaram as comunidades de plantas dominantes na área. Püschel et al. (2007) demonstraram que fungos MA interferem na estrutura de comunidade e na sucessão vegetal. Neste contexto, as espécies fúngicas mais frequentes poderiam ser testadas em trabalhos futuros envolvendo o manejo a cultura do girassol irrigado com água residuária.

Em termos de glomalina, na fração protéica facilmente extraível do solo, houve variação na seguinte ordem: ACA > APF > APO. Esta fração foi mais sensível aos tratamentos de irrigação quando comparada ao teor de glomalina total do solo. A redução de ambas as frações é uma evidência do impacto negativo da água produzida (APF e APO) sobre o micélio de fungos MA depositado no solo. O baixo teor da fração proteica facilmente extraível, a qual foi recentemente depositada no solo e ainda não sofreu transformações bioquímicas (WRIGHT et al., 1996) pode ser devida a presença de glutaraldeído, um biocida adicionado no processo industrial de purificação da AP e detectado na saída do tratamento de APO (0,198 mg/L) (MELO et al., 2010) que possivelmente, afeta a síntese da glomalina e a extensão do micélio de fungos MA no solo. Esse biocida atua no metabolismo das células microbianas (LEUNG, 2001) e é usado para evitar a formação de filme bacteriano nas membranas usadas na purificação da água. Na mesma área do presente estudo, porém durante o primeiro ciclo da cultura do girassol, Lopes et al. (2014) também observaram redução na proliferação de bactérias e fungos cultiváveis do solo irrigado com APO. Ademais, o glutaraldeído altera os grupos da mesofauna (FERREIRA et al., 2015) que naturalmente se alimentam do micélio fúngico e outras estruturas da microbiota edáfica. Esse fato pode ter propiciado um desequilíbrio na biota a teia trófica do solo irrigado com APO. Já o efeito negativo da irrigação com APF sobre a glomalina pode ser devida ao Na trocável do solo. Sais de Na tem impacto negativo na produção de proteínas relacionadas à glomalina (KRISHNAMOORTHY et al., 2014).

6 CONCLUSÕES

A diversidade de plantas herbáceas e fungos micorrízicos arbusculares é reduzida em sucessão à cultura do girassol irrigada com água produzida obtida por simples filtração em comparação com água do aquífero.

A aplicação de água produzida e tratada por osmose reversa diminui significativamente no curto prazo, a fração de glomalina que é facilmente extraível do solo.

Plantas do componente herbáceo e fungos MA do solo respondem de forma diferente aos estresses induzidos pela irrigação com água produzida. Isto leva a mudanças na estrutura das comunidades de plantas e de fungos micorrízicos no agrossistema irrigado com água produzida.

REFERÊNCIAS

- ADU, A. A.; YEO, A. R.; OKUSANYA, O. T. The response to salinity of a population of *Dactyloctenium aegyptium* from a saline habitat in southern Nigeria. **Journal of Tropical Ecology**, v. 2, p. 219-228, 1994.
- AIDAR, M. P. M.; CARRENHO, R.; JOLY, C. A. Aspects of arbuscular mycorrhizal fungi in an Atlantic Forest chronosequence in Parque Estadual Turístico do Alta Ribeira (PETAR), SP. **Biota Neotropica**, v. 4, p. 1-15, 2004.
- ALBUQUERQUE, J.A.; MAFRA, A.L.; FONTOURA, S.M.V.; BAYER, C.; PASSOS, J.F.M. Avaliação de sistemas de preparo e calagem em um Latossolo Bruno Alumínico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 6, p. 963-975, 2005.
- AL-HADDABI, M.; AHMED, M. Land disposal of treated saline oil production water: impacts on soil properties. **Desalination**, v. 212, n. 1, p. 54-61, 2007.
- ALLEN, E.B.; ALLEN, M.E.; EGERTON-WARBURTON, L.; CORKIDI, L.; GOMEZ-POMPA A. Impacts of early- and late-seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. **Ecological Applications**, v. 13, n. 6, p. 1701-1717, 2003.
- ALZHRANI, S.; MOHAMMAD, A. W.; HILAL, N.; ABDULLAH, P.; JAAFAR, O. Comparative study of NF and RO membranes in the treatment of produced water Part I: Assessing water quality. **Desalination**, v. 315, p. 18-26, 2013.
- ANDRADE, P. M. **Estrutura do estrato herbáceo de trecho da Reserva Biológica Mata do Jambreiro, Nova Lima, MG**. 1992. 84f. Dissertação (Mestrado em Biologia vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1992
- ARTHUR, J.D.; LANGHUS, B.G.; PATEL C. **Technical summary of oil & gas produced water treatment technologies**. All Consulting, LLC, Tulsa, OK, 53 p, 2005.
- BALACHANDRAN, S.; MISHRA, S. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi (am fungi) and glomalin in the rhizosphere of heavy metal polluted mangrove forest. **Environmental Sciences**, v. 1, n. 4, p. 392-401, 2012.
- BAN, Y.; XU, Z.; ZHANG, H.; CHEN, H.; TANG, M. Soil chemistry properties, translocation of heavy metals, and mycorrhizal fungi associated with six plant species growing on lead-zinc mine tailings. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 503-515, 2015.
- BAÑUELOS, S. G. Coping with naturally-high levels of soil salinity and boron in the westside of central California. **Perspectives in Science**, v. 3, p. 4-6, 2015.
- BENCHERIF, K.; BOUTEKRABT, A.; FONTAINE, J.; LARUELLE, F.; DALPÈ, Y.; ANISSA, L. H. S. Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas. **Science of the Total Environment**, v. 533, p. 488-494, 2015.

BERBARA, R.L.L.; SOUZA, F.A.; FONSECA, H.M.A.C. **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição**. In: FERNANDES, M.S. (ed). Nutrição mineral de plantas. Viçosa; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. cap. 3, p. 53-88.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.

BRASIL. **Conselho nacional de meio ambiente**, resolução n° 393 de 8 de agosto 2007. Dispões sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 9 de agosto de 2007.

BRESSAN, W.; SIQUEIRA, J. O.; VASCONCELLOS, C. A.; PURCINO, A. A. C. Fungos micorrízicos e fósforo, no crescimento, nos teores de nutrientes e na produção do sorgo e soja consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 250-260, 2001.

ÇAKMAKCI, M.; KAYAALP, N.; KOYUNCU, I. Desalination of produced water from oil production fields by membrane processes. **Desalination**, v. 222, p. 176-186, 2008.

CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, R. L. L. Capacidade infectiva de fungos micorrízicos arbusculares em áreas reflorestadas após mineração de bauxita no Pará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 937-945, 2003.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1443-1452, 2001.

CHAVES, E. **Composição florística e descrição morfológica das espécies herbáceo-arbustivas de uma mata de galeria em Alto Paraíso, Goiás, Brasil**. 2006. 136 f., il. Dissertação (Mestrado em Botânica)-Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

CORDEIRO, M. A. S.; CARNEIRO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; JUNIOR, O. J. S. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 3, p. 147-153, 2007.

COSTA, F.R.C. Structure and composition of the ground-herb community in a terra-firme Central Amazonian forest. **Acta amazônica**, v. 34, n. 1, p. 53-59, 2004.

CRISÓSTOMO, L. A.; WEBER, O. B.; MIRANDA, F. R.; ARAGÃO, F. A. Z.; OLIVEIRA M. E. B. **Irrigação com água produzida: efeitos sobre características químicas e microbiológicas do solo e a produção do girassol**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza (Brasil), 24 p. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (In Press), 2015.

DAS, R.; ALI, M. E.; HAMID, S. B. A.; RAMAKRISHNA, S.; CHOWDHURY, Z. Z. Carbon nanotube membranes for water purification: a bright future in water desalination. **Desalination**, v. 336, p. 97-109, 2014.

- DE MELO JÚNIOR, J. C. F.; AMORIM, M. W.; Severino, A. L.; DE OLIVEIRA, T. M. N.; Barros, V. G. Diversidade e estrutura comunitária da vegetação em regeneração natural em uma área de lixão desativado. **Acta Biológica Catarinense**, n. 2, v. 1, p. 32-47, 2015.
- DE SIQUEIRA, D. L.; ZAMBOLIM, L.; CARDOSO, A. A. Crescimento vegetativo do abacaxizeiro, associado a fungos micorrízicos, com diferentes doses de fósforo. **Ceres**, v. 43, n. 248, p. 409-420, 2015.
- DRIVER, J. D.; HOLBEN, W. E.; RILLIG, Matthias C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 1, p. 101-106, 2005.
- DUFRENE, M.; LEGENDRE, P. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. **Ecological Monographs**, v. 67, p. 345-366, 1997.
- FERREIRA, R.; WEBER, O. B.; CRISÓSTOMO, L. A. Produced water irrigation changes the soil mesofauna community in a semiarid agroecosystem. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, p. 1-9, 2015.
- FIGUEREDO, K. S. L.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; TEIXEIRA, A. B. R.; PINHO, A. L. S.; VIVACQUA, C. A.; SILVA, D. R. Study of produced water using hydrochemistry and multivariate statistics in different productions zones of mature fields in the Potiguar Basin – Brazil. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 116, p. 109-114, 2014.
- FLORES, C. Respuesta micorrízica de siete especies leñosas pertenecientes a diferentes etapas sucesionales del bosque nublado de altos de pipe, Venezuela. **Interciencia**, v. 35, p. 11, 2010.
- FOKOM, R.; ADAMOU, S.; TEUGWA, M. C.; BOYOGUENO, A. B.; NANA, W. L.; NGONKEU, M. E. L.; ZOLLO, P. A. Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. **Soil and Tillage Research**, v. 120, p. 69-75, 2012.
- FOKOM, R.; TEUGWA MOFOR, C.; NANA WAKAM, L.; NGONKEU MEGAPCHE, E. L.; TCHAMENI, S.; NWAGA, D.; AMVAM ZOLLO, P. H. Glomalin, carbon, nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use changes in the humid forest zone in south cameroon. **Applied ecology and environmental research**, v. 11, n. 4, p. 581-592, 2013.
- FUHRO, D.; VERGAS, D.; LAROCCA, J. Levantamento florístico das espécies herbáceas, arbustivas e lianas da Floresta de encosta da Ponta do Cego, Reserva Biológica do Lami (RBL), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Pesquisas Botânicas, Leopoldo: **Instituto Anchieta de Pesquisas**, v. 56, p. 239-256. 2005.
- FUNCEME - **Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos**. <<http://www.funceme.br/>>. Acesso em: 05 Jun. 2015.
- GREGORY, K. B.; VIDIC, R. D.; DZOMBAK, D. A. Water management challenges associated with the production of shale gas by hydraulic fracturing. **Elements**, v. 7, n. 3, p. 181-186, 2011.

GRIME, J. P.; MACKEY, J. M. L.; HILLIER, S. H.; READ, D. J. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. **Nature**, v. 328, p. 420–422, 1987.

GUERRA, K.; DAHM, K.; DUNDORF, S. Oil and gas produced water management and beneficial use in the western United States. Colorado: U.S. **Department of the Interior Bureau of Reclamation Technical Service Center Water and Environmental Resources Division Water Treatment Engineering Research**, 129p. 2011.

GUO, X.; GONG, J. Differential effects of abiotic factors and host plant traits on diversity and community composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungi in a salt-stressed ecosystem. **Mycorrhiza**, v. 24, n. 2, p. 79-94, 2014.

GUPTA, M. L.; PRASAD, A.; RAM, M.; KUMAR, S. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. **Bioresource Technology**, v.81, p.77-79, 2002.

HART, S. A.; CHEN, H. Y. H. Fire, logging, and overstory affect understory abundance, diversity, and composition in boreal forest. **Ecological Monographs**, v. 78, p. 123-140, 2008.

HASHE, A.; ALLAH, E. F. A.; ALQARAWI, A. A.; ALDUBISE, A.; EGAMBERDIEVA, D. Arbuscular mycorrhizal fungi enhances salinity tolerance of *Panicum turgidum* Forssk by altering photosynthetic and antioxidant pathways. **Journal of Plant Interactions**, p. 1-35, 2015.

HEINZE, J.; BERGMANN, J.; RILLIG, M. C.; JOSHI, J. Negative biotic soil-effects enhance biodiversity by restricting potentially dominant plant species in grasslands. Perspectives in Plant Ecology, **Evolution and Systematics**, v. 17, n. 3, p. 227-235, 2015.

HEMPEL, S.; RENKER, C.; BUSCOT, F. Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 9, p. 1930-1938, 2007.

HOLM LG.; PANCHO, J. V.; HERBERGER, J. P.; PLUCKNETT, D. L. **The world's worst weeds – distribution and biology**. 2nd ed. Krieger Publishing Company, Malabar, USA, 609 p, 1991.

HONG, A.; FANE, A.G.; BURFORD, R. Factors affecting membrane coalescence of atable oil-in-water emulsions. **Journal of Membrane Science**, v. 222, p. 19-39, 2003.

IGUNNU, E. T.; CHEN, G. Z. **Produced water treatment technologies**. **International Journal of Low-Carbon Technologies**, cts049, 2012.

INÁCIO, C. D.; JARENKOW, J. A. Relações entre a estrutura da sinúsia herbácea terrícola e a cobertura do dossel em floresta estacional no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 1, p. 41-51, 2008.

INVAM - **International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus**. <<http://www.invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em: 06 maio. 2015.

JACINTO JUNIOR, A.; SAMPAIO, A.C.; SILVA, A.F.; CHRISTIANO, F.P.; FREIRE, N.O. PEREIRA JUNIOR, O.A. **Tratamento da água produzida do campo de fazenda Belém (PETROBRAS, UN/RNCE) para remoção de sílica.** In: RIO OIL & GAS EXPO AND CONFERENCE, 2008, Rio de Janeiro, RJ. Proceedings. Rio de Janeiro [s.n.].

JBRJ - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Jabot - Banco de Dados da Flora Brasileira.** <<http://www.jbrj.gov.br/jabot>>. Acesso em: 05 Jun. 2014.

JOHNSON, N.C.; GRAHAM, J.H.; SMITH, F.A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. **New Phytol**, v. 135, p. 575-585, 1997.

KOIDE, R. T.; PEOPLES, M. S. Behaviour of Bradford-reactive substances is consistent with predictions for glomalin. **Applied Soil Ecology**, v. 63, n. 1, p. 8-14, 2013.

KOYRO, H. W.; HUSSAIN, T.; HUCHZERMEYER, B.; KHAN, M. A. Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 91, p. 22-29, 2013.

KOZERA, C.; RODRIGUES, R. R. E.; DITTRICH, V. A. de O. Composição florística do sub-bosque de uma floresta Ombrófila Densa Montana, Morretes, PR, BRASIL. **Floresta**, v. 39, p. 323-334, 2008.

KRISHNAMOORTHY, R.; KIM, K.; KIM, C.; SA, T. Changes of arbuscular mycorrhizal traits and community structure with respect to soil salinity in a coastal reclamation land. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 72, p. 1-10, 2014.

LAMEGO, F. P.; CARATTI, F. C.; REINEHR, M.; GALLON, M.; SANTI, A. L.; BASSO, C. J. Potencial de supressão de plantas daninhas por plantas de cobertura de verão. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 1, p. 97-105, 2015.

LEAKE, J. R.; JOHNSON, D.; DONNELLY, D. P.; MUCKLE, G. E.; BODDY, L.; READ, D. J. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 1016-1045, 2004.

LEUNG, H. W. Ecotoxicology of glutaraldehyde: review of environmental fate and effects studies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 49, n. 1, p. 26–39, 2001.

LIMA, R. A. F.; GANDOLFI, S. Structure of the herb stratum under different light re-gimes in the Submontane Atlantic rain forest. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 289-296, 2009.

Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em :05 Out. 2014.

LLAMAS, J. **Hidrología general: Principios y aplicaciones**, 1993.

LOPES, O. D. R.; WEBER, O. B.; CRISOSTMO, L. A.; MATTOS, E. P. N. B. Short-term effects of produced water on microbial activity in semiarid soil. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.3, n. 2, p. 295-403, 2014.

- LOVELOCK, C.E.; WRIGHT, S.F.; NICHOLS, K.A. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil. **Soil Biol. Biochem**, v. 36, p. 1009-1012, 2004.
- MACHADO FILHO, H. O.; COUTO, E.; BEZERRA, C.; MELO, J. Composition and similarity of flora associated with anthropogenic sites in the city of João Pessoa-Paraíba. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 57-66, 2015.
- MAFAZIYA, F.; MADAWALA, S. Abundance, richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and semi-natural land use types at upper Hantana. **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)**, v. 44, n. 1, p. 25-34, 2015.
- MARECOS DO MONTE, H.; ALBUQUERQUE, A. Reutilização de águas residuais, 2010. MELO, M.V.; SCHÜTER, H. E.; FERREIRA, J.; MAGDA, R.; JÚNIOR, A.; AQUINO, O. Advanced performance evaluation of a reverse osmosis treatment for oilfield produced water aiming reuse. **Desalination**, v. 250, p. 1016-1018, 2010.
- MENDES, K. F.; REIS, R. M.; DOS REIS, M. R.; DA SILVA, R. R.; DE ALMEIDA, W. L.; INOUE, M. H. Dinâmica de plantas daninhas após aplicação de oxadiazon com simulação de lâminas d'água e incorporação de material orgânico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 9, n. 1, p. 65-71, 2014.
- MIRANDA, J.C.C. **Cerrado: micorriza arbuscular – ocorrência e manejo**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 169 p. 2008.
- MOREIRA, F. M. de S.; HUISING, E. J.; BIGNELL D. E. **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**.Lavras: UFLA, 368 p. 2010.
- MOREIRA, F.M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo-** 2º Ed. UFLA, 729p, 2006.
- MORTON, J.B.; REDECKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. **Mycorrhiza**, New York, v. 93, p. 181–195, 2001.
- MOTTA, A. R. P.; BORGES, C. P.; KIPERSTOK, A.; ESQUERRE, K. P.; ARAUJO, P. M.; BRANCO, L. P. N. Tratamento de água produzida de petróleo para remoção de óleo por processos de separação por membranas: revisão. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 15-26, 2013.
- MUBARIK, S.; KHAN, I.; MEMON, R. A.; SHAHEEN, G. Allelopathic effects of important weeds on germination and growth of maize (*Zea mays* L.). **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 21, n. 2, p. 173-180, 2015.
- MÜLLER, S. C.; WAECHTER, J.L. Estrutura sinusal dos componentes herbáceo e arbustivo de uma floresta costeira subtropical. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p. 395-406, 2001.
- MUNKVOLD, L.; KJØLLER, R.; VESTBERG, M.; ROSENDAHL, S.; JAKOBSEN, I. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 164, p. 357–364. 2004.

MURCIA, C. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 10, p. 58-62, 1995.

NAMAZY, E.; PAZIRA, E.; HOSSEINI, Y.; SAMSAMPOUR, D. Effect of recycled municipal wastewater on soil properties. **Peer Reviewed Journals**, v. 4, p. 2319–5037, 2015.

NOBRE, C. P.; LÁZARO, M. L.; SANTO, M. M. E.; PEREIRA, M. G.; BERBARA, R. L. L. Agregação, glomalina e carbono orgânico na chapada do Araripe, Ceará, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, p. 138-147, 2015.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Mycorrhizal effectiveness and manganese toxicity in soybean as affected by soil type and endophyte. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 329-335, 2003.

NWAUGO, V. O.; ONYEAGBA, R. A.; AZU, N.; NWORIE, O. Petroleum produced (formation) water induced changes in bacterial quality and soil enzymatic activities in a farmland in Egbema, Southern Nigeria. **Estudios Biologia**, v. 29, n. 66, p. 89-97, 2007.

ONOJAKE, M. C.; ABANUM, U. I. Evaluation and Management of Produced Water from Selected Oil Fields in Niger Delta, Nigeria. **Archives of Applied Science Research**, v. 4, n. 1, p. 39-47, 2012.

PAGANO, M. C.; ZANDAVALLI, R. B.; ARAÚJO, F. S. Biodiversity of arbuscular mycorrhizas in three vegetational types from the semiarid of Ceará State, Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 67, p. 37-46, 2013.

PALLAVICINI, Y.; ALDAY, J. G.; MARTÍNEZ-RUIZ, C. Factors affecting herbaceous richness and biomass accumulation patterns of reclaimed coal mines. **Land Degradation & Development**, v. 26, n. 3, p. 211-217, 2015.

PALMA, C. B.; INÁCIO, C. D.; JARENKOW, J. A. Florística e estrutura da sinúsia herbácea terrícola de uma floresta estacional de encosta no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 6, p. 151-158. 2008.

PATEL, D.; SARAF, M. Influence of soil ameliorants and microflora on induction of antioxidant enzymes and growth promotion of *Jatropha curcas* L. under saline condition. **European Journal of Soil Biology**, v. 55, p. 47–54, 2013.

PEACOCK, P. Beneficial use of produced water in the Indian basin field: Eddy County, NM. Midland: Marathin Oil Company. Presented at the Ground Water Protection Council Produced Water Conference, **Colorado Springs**, p. 16-17, 2002.

PHILIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 55, p. 158-161, 1970.

- PORCEL, R.; AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 181–200, 2012.
- POULSEN, A. D.; TUOMISTO, H. **Small-scale to continental distribution patterns of neotropical pteridophytes: the role of edaphic preferences**. In: CAMUS, J.M.; GIBBY, M. & JOHNS, R.J. (eds.). *Pteridology in Perspective*. Kew, Royal Botanic Gardens. p. 551-561. 1996.
- POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, J. G. D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista brasileira de ciências do solo**, v. 30, p. 413-424, 2006.
- PROPSTER, J. R.; JOHNSON, N. C. Uncoupling the effects of phosphorus and precipitation on arbuscular mycorrhizas in the Serengeti. **Plant and Soil**, v. 388, n. 1-2, p. 21-34, 2015.
- PURIN, S. **Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã**. Florianópolis, Universidade do Estado de Santa Catarina, 147p. (Dissertação de Mestrado), 2005.
- PÜSCHEL, D.; RYDLOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. Mycorrhiza influences plant community structure in succession on spoil banks. **Basic and Applied Ecology**, v. 8, n. 6, p. 510-520, 2007.
- QUEIROZ, R. T.; MORO, M. F.; LOIOLA, M. I. B. Evaluating the relative importance of woody versus non-woody plants for alpha-diversity in a semiarid ecosystem in Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, v. 148, n. 3, p. 361-376, 2015.
- QIAN, Z.; LIU, X.; YU, Z.; ZHANG, H.; JÜ, Y. A Pilot-scale Demonstration of Reverse Osmosis Unit for Treatment of Coal-bed Methane Co-produced Water and Its Modeling. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 20, p. 302-311, 2012.
- RAJKUMAR, M.; SANDHYA, S.; PRASAD, M. N. V.; Freitas, H. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 1562–1574, 2012.
- REDECKER, D. A.; SCHÜBLER, H.; STOCKINGER, S.; STÜRMER, J.; MORTON, J. B.; WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). **Mycorrhiza**, v. 23, n. 7, p. 515-531, 2013.
- RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 84, n. 4, p. 355-363, 2004.
- SAINT-ETIENNE, L.; PAUL, S; IMBERT, D.; DULORMNE, M.; MULLER, F.; TORIBIO A.; BÂ, A. M. Arbuscular mycorrhizal soil infectivity in a stand of the wetland tree *Pterocarpus officinalis* along a salinity gradient. **Forest Ecology and Management**, v. 232, n. 1, p. 86-89, 2006.
- SAMPAIO, E. V. S. B. In SH BULLOCK, H A MOONEY, E MEDINA (Eds.), *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1995.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: User's guide version 9.2 (software)**. Cary, 2008.

SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3 ed. Synergistic Publications**, Gainesville, 286 p, 1990.

SCHREINER, R. P. Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. **Applied Soil Ecology**, v. 36, n. 02, p. 205-215, 2007.

SHENG, M.; TANG, M.; CHAN, H.; YANG, B.; ZHANG, F.; HUANG, Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. **Mycorrhiza**, v. 18, p. 287-296, 2008.

SIEBEL, H.N.; BOUWMA, I.M. The occurrence of herbs and woody juveniles in a hardwood floodplain forest in relation to flooding and light. **Journal of Vegetation Science**, v. 9, p. 623-630, 1998.

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation. Eschborn: Federal Republic of Germany**, 317 p, 1991.

SILVA, C. F. D.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; SILVA, E. M. R. D.; PEREIRA, M. G.; FREITAS, M. S. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MARTINS, M. A. "Fungos micorrízicos arbusculares e proteína do solo relacionada à glomalina em área degradada por extração de argila e revegetada com eucalipto e acácia". **Ciência Florestal**, v. 22, n. 4. p. 749-761, 2012.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2nd edição revisada e ampliada. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília**, 227 p, 2009.

SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. **Efeito da formononetina (7 Hidroxi,4. metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas**, v. 23, p. 571-577, 1999.

SMITH, S.E.; READ, J. D. **Mycorrhizal symbiosis**, 3 ed. Academic Press, London, 2008.
SOARES JR., R.C.; ALMEIDA JR.; E.B.; PESSOA, L.M.; PIMENTEL, R.M.M.; ZICKEL, C.S. Flora do estrato herbáceo em um fragmento urbano de floresta Atlântica, PE. **Revista de Geografia**, v. 25, p. 57-66, 2008.

SOARES, A. C. F.; SOUSA, C. S.; GARRIDO, M. D. S.; LIMA, F. D. S. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 47-54, 2012.

SOUSA, C. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E.V. S. B.; LIMA, F. S.; MAIA, L. C.; OEHL, F. Arbuscular mycorrhizal fungi in successional stages of Caatinga in the semi-arid region of Brazil. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 137-148, 2014.

SOUZA, F. A.; SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. **Fungos Micorrízicos Arbusculares: muito mais Diversos do que se Imagina**. IN: MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O.;

- BRUSSAARD, L. (Lijbert). Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras: Ed. UFLA, 2008, 768 p.
- SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 49-60, 2003.
- SPROULL, G. J.; QUIGLEY, M. F.; SHER, A.; GONZÁLEZ, E. Long-term changes in composition, diversity and distribution patterns in four herbaceous plant communities along an elevational gradient. **Journal of Vegetation Science**, v. 26, n. 3, p. 552-563, 2015.
- STEWART, M.; ARNOLD, K.; ARNOLD, K. **Produced Water Treatment Field Manual**. Part 1- Produced Water treating Systems, p. 1-134, 2011.
- STÜRMER, S. L.; KLAUBERG FILHO, O.; QUEIROZ, M. H. D.; MENDONÇA, M. M. D. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soils of early stages of a secondary succession of Atlantic Forest in South Brazil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 3, p. 513-521, 2006.
- STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. **Mycorrhiza**, v. 21, p. 255-267, 2011.
- TABATABAEI, S. H.; NAJAFI, P. Effects of irrigation with treated municipal wastewater on soil properties in arid and semi-arid regions. **Irrigation and Drainage**, v. 58, n. 5, p. 551-560, 2009.
- THIERS, B. [continuously updated]. Index Herbariorum: **A global directory of public herbaria and associated staff**. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acesso em: 26 de Jan. 2015.
- TRAVIS, M. J.; WEISBROD, N.; GROSS, A.; Decentralized wetland-based treatment of oil-rich farm wastewater for reuse in an arid environment. **Ecological Engineering**, v. 39, p. 81-89, 2012.
- UTVIK, T. I. R. **Composition and characteristics of produced water in the North Sea**. **Produced Water Workshop Aberdeen, Scotland**, p. 26-27, 2003.
- VAN DER HEIDJAN, M. G. A.; KLIRONOMOS, J. N.; URSIC, M. M. P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKMAN, A.; SANDERS, L. R. Mycorrhizal fungal diversity plants biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, London, v. 396, p. 69-72, 1998.
- VAN TUINEN, D.; JACQUOT, E.; ZHAO, B.; GOLLOTTE, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA targeted nested PCR. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 879-887, 1998.
- WANG, J.; GE, Y.; CHEN, T.; BAI, Y.; QIAN, B. Y.; ZHANG, C. B. Facilitation drives the positive effects of plant richness on trace metal removal in a biodiversity experiment. **PloS one**, **PloS one**, v. 9, p. 1-9, 2014.

WRIGHT, S. F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J. B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, v. 181, n. 2, p. 193-203, 1996.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and soil**, v. 198, n. 1, p. 97-107, 1998.

WU, Z.; MCGROUTHER, K.; HUANG, J.; WU, P.; WU, W.; WANG, H. Decomposition and the contribution of glomalin-related soil protein (GRSP) in heavy metal sequestration: field experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 68, p. 283-290, 2014.

YANG, Q.; LI, B.; SIEMANN, E. The effects of fertilization on plant-soil interactions and salinity tolerance of invasive *Triadica sebifera*. **Plant and Soil**, v. 394, n. 1-2, p. 1-9, 2015.

ZHANG, J. L.; FLOWERS, T. J.; WANG, S. M. Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plants. **Plant and Soil**, v. 326, p. 45-60, 2010.

ZHU, Y. G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. **Trends Plant Science**, v. 8, p. 407-409, 2003.

ZOETE, T. Variation in the vegetation of *Melaleuca quinquenervia* dominated forested wetlands of the Moreton region. **Plant Ecology**, v. 152, p. 29-57, 2001.

APEÊNDICE

APEÊNDICE A- ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA SYMBIOSIS

Incidence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and successor herbaceous plants in an agro-system irrigated with produced water

Denis Juvenço Andrade¹ Olmar Baller Weber^(1,2) Cristiane Figueira da Silva³ Maria Iracema Bezerra Loiola⁴ Aline Silva Quaresma⁵ Raimundo Nonato Costa Ferreira⁶ Marcela Claudia Pagano⁷ Lindbergue Araújo Crisóstomo⁸ Orivaldo José Saggin Júnior⁹

¹Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE

²Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

³Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

^{4,5,6}Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

⁷Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG,

⁸Embrapa Agroindústria Tropical Fortaleza,

⁹Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ

¹Autor correspondente: olmar.weber@embrapa.br

Abstract The objective of this work was to evaluate the diversity of herbaceous plants and arbuscular mycorrhizal fungi following the cultivation of sunflowers irrigated with produced water. The sunflower plants were irrigated during three successive cycles with three different types of water: firstly, produced water obtained through simple filtration (PWSF), and secondly, produced water treated by reverse osmosis (PWRO), and the control with groundwater from the aquifer Açú (WCA). In June 2014, five months after the final harvest, the treatments were evaluated in terms of the diversity of successor plants and their roots colonized by arbuscular mycorrhiza (AM); and samples of soil, in which the following were measured: the spore populations of AM fungi, the levels of glomalin in easily extractable glomalin (GRSP-EEG) and in total glomalin (GRSP-TG). Of a total of eighteen species of herbaceous plants which were identified in the experimental field, *Dactyloctenium aegyptium* was related with the use of PWSF, *Panicum* sp. and *Diodella apiculata* with the use of PWRO, and *Trianthema portulacastrum* and *Eragrostis tenella* with the control WCA. The diversity of AM fungi was affected by irrigation with PWSF, in which two species of *Acaulospora*, one species of *Gigaspora* and one species *Paraglomus* were absent, compared to the treatment with PWRO. *Acaulospora* sp1. was related with the WCA control as an indicator species. The use of produced water which had undergone reverse osmosis had a short-term effect on the amount of glomalin which is easily extractable from the soil but did not change the mycorrhization of the plants. These results enable us to infer that irrigation with produced water leads to a reduction in the diversity of herbaceous plants and of

arbuscular mycorrhizal fungi in the soil, confirming the importance of monitoring agro-systems which are irrigated with residual water.

Keywords Wastewater. Plant succession. Mycorrhizal activity. Environmental microbiology.

1 Introduction

Agricultural production in semi-arid regions constitutes a challenge when there are problems with water distribution or a scarcity of drinking water, so it has been suggested that alternative sources, such as residual water, should be used for irrigation (Namazy et al. 2015). One of these alternative sources of water is produced water which is obtained when oil is extracted (Motta et al. 2013). In the Northeastern Brazil up to 90% of the liquid extracted from oil wells is produced water (Melo et al. 2010). However, this water contains constituents (Melo et al. 2010) and residues of the chemical additives used in the process of separating out the oil (Figueredo et al. 2014), which makes the treatment of the produced water essential if it is to be re-used industrially.

Notwithstanding this, the treatments of produced water include the filtration and passing of water through ion-exchange resin (Qian et al. 2012), and nanofiltration followed by reverse osmosis treatment, which aims to remove toxic constituents (Alzahrani et al. 2013), among other methods of treating residual water (Igunnu and Chen 2012; Gregory et al. 2013; Das et al. 2014), which justifies its monitoring for re-use in industry or use in rural areas. The water residue from oil is brackish (Tabatabaei and Najafi 2009; Travis et al. 2012) and its use in the environment can lead to the salinization of the soil (Al-Haddabi and Ahmed 2007). In turn, high levels of salt interfere with the characteristics of the soil (Onojake et al. 2012) and with the biological activity of functional groups (Nwaugo et al. 2007), reducing the activity of arbuscular mycorrhizal fungi (Saint-Etienne et al. 2006; Bencherif 2015), which is reflected in plant growth (Yang et al. 2015). Nevertheless, the concentration of salts determining this reduction varies according to the species of plant, and this fact could be related to the tolerance of salinity of each species (Bañuelos 2015).

The agricultural use of treated produced water has been suggested (Melo et al. 2010), but the irrigation of sunflower plants (*Helianthus annuus* L.) and castor-oil plants (*Ricinus communis* L.) has led, in a short time, to changes in the proliferation and activity of fungi and cultivable bacteria (Lopes 2014) and in the structure of mesofauna communities in the soil (Ferreira et al. 2015), reinforcing the need to monitor biotic and abiotic factors in soil which has been irrigated with the residual water from oil extraction.

Herbaceous plants are sensitive to changes in the environment and contribute to the formation of a microclimate, changing the soil's properties (Wang et al. 2014). They also establish associations with AM fungi in their roots. So too, these micro-symbionts are indicators of environmental impacts due to their use as a biotechnological input in degraded areas (Schreiner 2007), and can serve as a biological indicator of soil salinity (Flores 2010). An increase in the concentration of salts affects sporulation, selecting species of AM fungi which are saline resistant, (Sheng et al. 2008) and also the mycorrhization of plants (Saint-Etienne et al. 2006; Guo and Gong 2014; Bencherif 2015).

In light of the paucity of research work related to the impact of produced water on the vegetation in agro-systems, this research was undertaken in order to determine the diversity of herbaceous plants and AM fungi in the soil after sunflowers had been grown using produced water for irrigation.

2 Materials and methods

2.1 Study area and experimental approach used

This research was carried out on the Belém plantation (FZB) belonging to Petrobrás in the municipality of Aracati, Ceará, Brasil (4° 44'43.2"S, 37° 32'19.6"W). The soil is classified as Typic Quartzipsamment and the vegetation as semi-arid (seasonal), known as Caatinga (Sampaio1995). In the years 2012 and 2013 the area was planted with sunflowers (*Helianthus annuus* L., cv. BRS 321), and irrigated by different types of water (Crisóstomo et al. 2015). The average air temperature registered in 2014 was between 26°C and 28°C and the annual rainfall was 564.9 mm with frequent periods of rain between March and May (Funceme 2015).

The sunflower plants were irrigated by means of a drip-irrigation system for three successive life-cycles, using adequate blades of water and two different types of produced water: a) produced water which was obtained through filtering and passing through columns of cation resin (PWSF), b) produced water which was filtered and treated by reverse osmosis (PWRO), in addition to the control which was water from the subsoil captured in an Açu aquifer (WCA). All types of water were supplied by the Operations Unit of the FZB belonging to Petrobras. All the irrigation treatments were repeated three times (in plots of land measuring 20 m x 20 m) which were randomly assigned within the experimental area. The amounts of water given to the plants during the three life-cycles (1,124 mm of PWSF, 1,060 mm of PWRO and 1,033 mm of WCA) were calculated using the column mini-lysimeters (0.4

m diameter by 0.6 m depth) which had been installed in the different plots, taking into consideration the rates of evapotranspiration of the plant, and water loss through drainage in the soil profile (Crisóstomo et al. 2015).

2.2 Collection and identification of successor herbaceous plants

In June 2014, five months after the last harvesting of sunflowers, rectangular sub-areas (1m x 2 m) were marked out in the different experimental plots. In order to demarcate the sub-areas, a diagonal line was drawn through the plots, in order to obtain samples of plants which would be representative of the areas which had previously been cultivated. The period in which the successor plants were collected coincided with their flowering and seed production stage, making the separation into groups possible there in the field and the identification of species of vegetation easier.

The plants in the demarcated areas (2 m²) were carefully collected, separated into groups and quantified. Representatives of the groups identified in the field were separated out and the parts containing reproductive structures were labelled, placed in presses and taken to the Laboratory of Angiospermae Taxonomy at the Universidade Federal do Ceará (UFC), in Fortaleza. After drying and screening they were exsiccated and donated for inclusion in the EAC Herbarium (acronym according to Tiers 2015) at UFC. In order to identify the herbaceous species, taxonomic keys were used together with the bibliography available at the EAC Herbarium, and by making comparisons with the images provided by the Institute of Research Botanical Garden of Rio de Janeiro –JBRJ and the list of Brazilian flora species.

2.3 Evaluation of the mycorrhizal colonization of the herbaceous plants

The roots of the herbaceous plants prevalent in the plots of land which had undergone different irrigation treatments were kept in separate batches. The intermediate sections of fresh, fine roots (< 0.2 mm) were placed in small bottles containing an alcohol solution (5% acetic acid and 90% ethyl alcohol) in order to conserve them until their mycorrhizal colonization could be evaluated, in the Lab of Soils at the Embrapa Tropical Agroindustry, in Fortaleza.

To determine AM association in plants, 1g pieces of fine roots were placed in a KOH 10% basic solution in an autoclave at 121°C for 12 minutes, as described by Philips and Hayman (1970). Following this procedure, the roots were washed with tap water and covered

with a solution of hydrogen peroxide (H_2O_2 at 1.25%), for 20 minutes. Immediately afterwards, the roots were washed in an acidic solution (HCl at 1%), for 4 minutes, and soaked in aniline blue (875 mL of lactic acid, 63 mL of glycerine, 0.5 g of dye and 62 mL of distilled water), overnight. A total of 20 segments of dyed roots from each sample were mounted onto sheets of glass. The segments were covered with a lacto-glycerol solution and placed on glass slides so that observation through the microscope could be made (100x to 400x) looking for the presence of mycelium, vesicles and other structures characteristic of AM fungi, inside the roots.

2.4 Collection of soil, chemical evaluation and microbiological analysis

Soil samples composed of ten simple samples from the demarcated sub-areas were collected from the topsoil (up 0.1 m depth), and placed in properly labelled bags, for analyses to be carried out later at Embrapa Agroindústria Tropical, in Fortaleza. These samples were dried straightaway in the open air and then passed through a sieve with a 2 mm mesh, for subsequent analysis. For the determination of pH in water (proportion 1:2.5) and the extraction of the elements P, K, Na, Fe, Cu, Mn, Zn (Merlich 1), Ca, Mg (solution KCL 1 mol) and the determination of organic carbon, the procedures described by Silva (2009) were followed. These analyses made it possible to describe the composition of the soil at the time it was collected in June 2014 (Table 1), after the irrigation and the cultivation of the sunflower plants.

Other parts of the soil samples were used for the extraction of the spores of AM fungi and the determination of the levels of glomalin. For the extraction of fungal spores, the humid-sieving technique was used, followed by centrifusion and sucrose gradient fluctuation, as described by Sieverding (1991). The different morphotypes spore of AM fungal communities quantified with a stereo microscope (up to 100x). Examples of the typical spores from each group were mounted on glass slides in PVLG solutions (polyvinyl alcohol in lacto-glycerol) and PVLG/ Melzer's reagent (1:1 v/v) (Sieverding 1991), for subsequent identification of the fungal species based on the color of the spores, the ornamentation of the surface and the structure of the wall as set out in the Identification Manual of Schenck and Pérez (1990). Descriptions on the site belonging to the International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM, were also consulted, together with original descriptions.

Other fractions of the soil samples were also analyzed to determine the level of proteins related to glomalin in the soil in easily extractable glomalin (GRSP-EEG) and total glomalin

(GRSP-TG), following the procedures adopted by Rillig (2004) and Wright and Updadyaya (1998), with modifications in the extraction of proteins through the use of sodium citrate (20 mM in pH 7.4 GRSP-EEG and 50 mM pH 8.0 for GRSP-TG), and the quantification of both fractions followed Bradford (1976) adapted by Wright et al. (1996). The concentrations of both fractions were corrected for each mg g^{-1} of soil, taking into consideration the total volume of supernatant and dry matter in the soil.

2.5 Analysis of the data

For the analysis of plant species and AM fungi, combinations of relative abundance and frequency relative to the species were used, as suggested by Duf r ne and Legendre (1997); and the calculation of the significance of indicator species in the different treatments was carried out through permutation tests (Duf r ne and Legendre 1997). In the evaluation, species which had an indicator value (IndVal) > 0.6 ; frequency > 3 ; $p \leq 0.05$ were considered valid for this study. It should be pointed out that this study of indicator species (IndVal) shows a tendency for a species to occur with greater frequency in one environment, and this should be considered in soils contaminated by salts or other chemical and organic constituents.

The effect of the different irrigation treatments on the abundance and diversity of species of vegetation and AM fungi, the levels of total and easily extractable glomalin and the intensity of mycorrhizal colonization of herbaceous plants, were evaluated using the general Linear Model (GLM) based on the Poisson distribution. Before the evaluation, the data on the root colonization by AM fungi were arcsine transformed $(x+1/100)^{0.5}$ for normalization. The treatment averages were compared in terms of the different variables, using Tukey's test at 5% probability and the SAS software (Release 9.2) (SAS Institute 2008).

3 Results

3.1 Floristic composition

A total of 2,390 plants were identified in the experimental area evaluated, representing a dozen families and 18 species (Table 2). The most prevalent individuals belonged to the *Dactyloctenium aegyptium* species, followed by *Eragrostis tenella*, *Mollugo vecticilata*, *Croton glandulosus*, *Waltheria americana* and *Croton hirtus*. The diversity of plants was reduced to 14 species in the treatment previously irrigated with WCA (control); to 12 vegetation species treated with PWRO, and to 6 species in the plots which were irrigated with

PWSF, where the levels of Na were higher (Table 1). It is worth pointing out that the PWSF passed through a sand filtering process and columns of ion-exchange resin before being used on the soil, demonstrating the impact that produced water has on spontaneous vegetation following sunflower cultivation.

Of the eighteen herbaceous species identified in the experimental area, *Dactyloctenium aegyptium* was related to the use of PWSF ($IndVal = 0.62$; $p = 0.04$), *Panicum* sp. ($IndVal = 1.00$; $p = 0.04$) and *Diodella apiculata* ($IndVal = 1.00$; $p = 0.04$) with the use of PWRO, and *Trianthema portulacastrum* ($IndVal = 1.00$; $p = 0.04$) and *Eragrostis tenella* ($IndVal = 0.93$; $p = 0.04$) with the treatment which received WCA. The greatest abundance of herbaceous plants (1,132) occurred with the PWSF treatment ($p = 0.031$) and the smallest was observed in the plots irrigated with PWRO ($p = 0.003$), as can be seen in Figure 1. Otherwise the diversity of herbaceous species was lower in the plots irrigated with PWSF ($p = 0.005$) compared to the other kinds of water used for irrigation (Figure 1). The abundance of plants observed after treatment with PWSF could be associated with the proliferation of the species *Dactyloctenium aegyptium*. This species had the greatest dominance in the plots irrigated with PWSF. In the other treatments, the number of individuals belonging to different species varied a lot less.

3.2 Mycorrhization of the herbaceous plants prevalent in areas irrigated with produced water

All the individual plants belonging to *Dactyloctenium aegyptium*, *Eragrostis tenella* (both of these belong to the Poaceae), *Waltheria americana* (Malvaceae) and *Mollugo vecticulata* (Moluginaceae) supported mycorrhizal association, although the colonization of their roots by AM fungi was not significantly affected by the type of irrigation treatment (Table 3). Other species, such as *Croton hirtus* (Euphorbiaceae), frequent with PWRO, and the species *Borreria scabiosoides* (Rubiaceae) present in some plots irrigated with PWRO and WCA, showed similarly a symbiotic association with AM fungi. In general, the root colonization by AM fungi varied between 19 and 35% for *Waltheria americana*, 22 and 30 % for *Dactyloctenium aegyptium*, it was 55% for *Croton hirtus*, between 10 and 35 % for *Borreria scabiosoides*, 11 % and 20% for *Eragrostis tenella* and 13% and 15% for *Mollugo vecticulata*.

3.3 Diversity of AM fungi in soil irrigated with produced water

Spores from ten species of AM fungi were identified in soil samples from the experimental area (Table 4), of which four belonged to the family Acaulosporaceae, two to the family Gigasporaceae and just one species of fungus belonging to the following families: Ambisporaceae, Diversisporaceae, Glomeraceae and Paraglomeraceae. The diversity of morphotypes spore of AM fungal communities was significantly reduced when PWSF was used for irrigation, where there was a loss of four species of fungi compared to the PWRO treatment (*Acaulospora* sp1, *Acaulospora* sp2, *Gigaspora margarita* and *Paraglomus* sp.). It is worth pointing out, however, that the species *Paraglomus* sp. was not detected in the soil irrigated with WCA either. The presence of this genus of fungi could be associated with the occurrence of *Panicum* sp., *Croton hirtus*, *Diodella apiculata* and the absence of *Boerhavia diffusa* in the soil which was irrigated with PWRO (Table 2).

With regard to the abundance of morphotypes spore of AM fungal communities, no difference was found between two of the treatments, that with WCA and that with PWRO, but there was a significant reduction in fungal spores in the PWSF treatment ($p = 0.015$) (Figure 2), as well as a smaller number of species of AM fungi (Table 4). Just as floristic diversity was reduced in the herbaceous stratum (Table 2), there was also a reduction in the sporulation of AM fungi in the soil which had been irrigated with PWSF, which may be attributed to the elevated level of Na present in this type of water (Table 1), and which, in the long-term, could affect the productive potential of the agro-system.

3.4 Level of glomalin in the soil

The levels of protein fractions related to glomalin (GRSP-EEG, GRSP-TG) were higher in the soil irrigated with WCA (Table 5); the lowest levels of GRSP-EEG derived mainly from the mycelium of AM fungi were detected in the soil which had been irrigated with PWRO. During the treatment process, this water received Glutaraldehyde, a biocide that prevents the formation of bacterial biofilms on the membrane filters used in the oil industry. On the other hand, the GRSP-TG fraction was more stable in the soil, regardless of the levels of the variables in the PWRO and PWSF treatments.

4. Discussion

Irrigating sunflower plantations with produced water had an impact on the diversity of successor herbaceous plants and functional groups of AM fungi in the soil. The reduction in the diversity of plants and AM fungi could be linked to the levels of salts, which were found

to be as high as 6.3 mmol Na for each cm³ of soil in the PWSF treatment. According to Yang et al. (2015), an excess of Na can lead to smaller plant growth. However, the level of concentration of salts in the soil affects plants in different ways, according to the species (Bañuelos 2015). According to Heinze et al. (2015) biotic factors, such as competition, pathogenic micro-organisms, parasites and mutualistic interactions, along with abiotic factors, such as temperature, humidity, and the incidence of light, as mentioned by Sproull et al. (2015) can also affect the plant community structure. In the PWSF treatment, there was a high level of *Dactyloctenium aegyptium* (Poaceae), a species which may possibly be more tolerant of saline stress in the soil. This grass is not halophytic, but it does have a good capacity to adapt to different environments (Adu et al. 1994). Some species of the Poaceae family produce large quantities of seeds and this significantly increases dissemination in different environments and conditions (Holm et al. 1991).

Other herbaceous species, such as *Panicum* sp., *Diodella apiculata* were indicators of PWRO treatment, while the *Trianthema portulacastrum* and *Eragrostis tenella* species were associated with the control treatment which used WCA. It should be noted that *Panicum* sp. was not found in the plots irrigated with PWSF, an outcome which corroborates the observations made by Koyro et al. (2013). These researchers demonstrated that representatives of the *Panicum* genus have low levels of tolerance to soil salinity.

The species *Trianthema portulacastrum* was an indicator of the WCA control and its frequency may be linked to the potential to produce substances which inhibit the germination of other plants, as mentioned by Mubarik et al. (2015). The species *Diodella apiculata* and *Eragrostis tenella*, (which belong, respectively, to the families Rubiaceae and Poaceae), are common herbaceous components of the semiarid regions of Brazil (Machado et al. 2015).

The arbuscular mycorrhizal colonization of the most common herbaceous plants was not affected by the types of irrigation. However, the rates of root colonization by AM fungi decreased in the following order: *Waltheria americana* > *Dactyloctenium aegyptium* > *Croton hirtus* > *Borreria scabiosoides* > *Eragrostis tenella* > *Mollugo vecticulata*. Even with low levels of mycorrhization, the plants plants possibly benefit from mycorrhizal symbiosis. It was observed that there was a high level of phosphorus in the soil, 206.6 mg P per dm³ of soil irrigated with PWSF and more than 240 mg P per dm³ of soil irrigated with PWRO and WCA, and this might have restricted the mycorrhizal activity in the herbaceous plants. Lower levels of plant mycorrhization have been observed in soil which has high levels of available nutrients, such as phosphorus (Propster and Johnson 2015). In addition, a high level of exchangeable Na was detected in the soil belonging to the plots irrigated with PWSF, and

according to various authors (Saint-Etienne et al. 2006; Guo and Gong 2014; Krishnamoorthy et al. 2014; Bencherif 2015) the presence of Na reduces mycorrhizal colonization and can affect plant growth and seed production.

The impact of irrigation with PWSF was shown in the morphotypes spore of AM fungal communities in the soil. However, mycelium growth and the consequent AM fungi sporulation are also affected by environmental conditions. In this research, the samples were collected at the end of the rainy season, and the systems with humid soil can support only small populations of AM fungi spores (Pagano et al. 2013; Sousa et al. 2014). The production of glomerospores is characteristic of AM species of fungi (Stürmer and Siqueira 2011), and can be affected by plants and other environmental factors, given that some types of activity, such as systems which integrate crop cultivation and livestock-raising or which use direct planting can lead to a reduction in AM fungi sporulation in the soil (Cordeiro et al. 2007).

The stage of herbaceous succession and the low levels of diversity of the plants observed in the plots irrigated with PWSF could have been unfavourable for the proliferation of AM fungi, where the grasses of the Poaceae family dominate the vegetation. In a more advanced plant succession, a richer presence of AM fungi has been observed (Sousa et al. 2014), and in the present research the diversity of plants and AM fungi was greater in plots irrigated with PWRO and WCA, suggesting that the diversity of plants plays an important role in the diversity and abundance of AM fungi.

Among the morphotypes spore of AM fungal communities of the ten fungus species identified, four belong to the genus *Acaulospora*. The diversity of this genus can be linked to the diversity of herbaceous plants and characteristics of the soil. Mafaziya and Madawala (2015) also observed a greater frequency of spores from the *Acaulospora* genus and a larger number of species from the Poaceae family in degraded areas. The frequency of some species of the *Acaulospora* genus may be related to the pH of the soil (Stürmer et al. 2006; Sheng et al. 2008), given that in the present study there was a variation between pH 7.2 in soil irrigated with PWRO and pH 7.8 in the plots which were given WCA. The conditions of the soil could have favored the proliferation of some species, since the *Acaulospora* genus is usually observed in periods of greater rainfall in both North and Southeastern Brazil (Caproni et al. 2003; Aidar et al. 2004). The saline stress of the soil can also be a limiting factor for the proliferation of AM fungi. Certainly, factors such as the rhizosphere and floristic diversity affect the proliferation of AM fungi in the soil, but this outcome may not be enough to consider the specificity of herbaceous plants with *Paraglomus* sp. Some species, such as *Acaulospora* sp.1 and *Gigaspora margarita* were absent when the soil was irrigated with

PWSF, and the *Gigaspora* genus has frequently been observed in soils with low levels of salinity (Bencherif et al. 2015).

Some other species of AM fungi, such as *Acaulospora bireticulata*, *Ambispora fenica*, *Racocetra castanea* and *Funneliformis geosporum* were present in all the different plots, indicating a possible adaptation to soil and local climate conditions. The diversity of AM fungi and their symbiosis with plants may have affected the communities of dominant plants in the area. Püschel et al. (2007) have shown that AM fungi interfere with the community structure and vegetation succession. In this context, the most frequent fungal species could be tested in future research involving the management of sunflower cultivation with residual water.

With regard to glomalin, the protein fraction easily extractable from the soil decreased in the following order: WCA > PWSF > PWRO. This protein fraction was more sensitive to the irrigation treatment than that of total glomalin content in the soil. The reduction in both protein fractions is evidence of the negative impact of produced water (PWSF and PWRO) on the mycelium of AM fungi deposited in the soil. The low levels of the easily extractable protein fraction, which was recently deposited in the soil and had not yet undergone biochemical transformations (Wright et al. 1996), could be due to the presence of glutaraldehyde, a biocide added during the industrial process when purifying produced water. This biocide can be detected even after it has been treated with PWRO (0.198 mg/L) (Melo et al. 2010), and may possibly affect the synthesis of glomalin and the spread of AM fungal mycelium in the soil. This biocide acts on the metabolism of microbial cells (Leung 2001) and is used to prevent the formation of bacterial film on the membranes used in water purification. During research carried out in the same area as the present study, although with reference to the first cultivation cycle of sunflowers, Lopes et al. (2014) also observed a reduction in the proliferation of culturable bacteria and fungi in soil irrigated with PWRO. In addition, glutaraldehyde alters the groups of mesofauna (Ferreira et al. 2015) which naturally feed on the fungal mycelium and other microbes. This could have led to disequilibrium in the biota and food web in soil irrigated with PWRO. The negative effect of PWSF irrigation on glomalin could be due to the exchangeable Na in the soil. Na-salts have a negative impact on the production of proteins related to glomalin (Krishnamoorthy et al. 2014).

5 Conclusions

The diversity of herbaceous plants and arbuscular mycorrhizal fungi which succeed sunflower cultivation is reduced to a greater degree when irrigation has been carried out using produced water obtained by simple filtration than when irrigated with water from an aquifer.

The use of produced water which has been treated by reverse osmosis significantly reduces, in the short term, the fraction of glomalin which is easily extractable from the soil.

Plants with an herbaceous component and AM fungi in the soil both react in different ways to the stresses induced by irrigation with produced water. This leads to changes in the structure of plant communities and functional groups of mycorrhizal fungi in agro-systems irrigated with residual water.

Acknowledgments This study was financially supported by PETROBRAS. The authors thank FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and Embrapa Agroindústria Tropical.

References

- Adu AA, Yeo AR, Okusanya OT (1994) The response to salinity of a population of *Dactyloctenium aegyptium* from a saline habitat in southern Nigeria. *Journal of Tropical Ecology* 2: 219-228. doi: 10.1017/S0266467400007860- 10
- Aidar MPM, Carrenho R, Joly CA (2004) Aspects of arbuscular mycorrhizal fungi in an Atlantic Forest chronosequence in Parque Estadual Turístico do Alta Ribeira (PETAR), SP. *Biota Neotropica* 4:1-15. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032004000200005>
- Al-Haddabi M, Ahmed M (2007) Land disposal of treated saline oil production water: impacts on soil properties. *Desalination* 212(1), 54-61. doi:10.1016/j.desal.2006.09.019
- Alzahrani S, Mohammad AW, hilal N, Abdullah P, Jaafar, O (2013) Comparative study of NF and RO membranes in the treatment of produced water Part I: Assessing waterquality. *Desalination* 315:18-26. doi: 10.1016/j. desal. 2012. 12. 004
- Bañuelos SG (2015) Coping with naturally-high levels of soil salinity and boron in the westside of central California. *Perspectives in Science* 3: 4-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.>
- Bencherif K, Boutekrabt A, Fontaine J, Laruelle F, Dalpè, Y, Anissa LHS (2015) Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas. *Science of the Total Environment* 533: 488-494. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.007
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72(1), 248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3

Caproni AL, Franco AA, Berbara RLL (2003) Capacidade infectiva de fungos micorrizicos arbusculares em áreas reflorestadas após mineração de bauxita no Pará. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38 (8): 937-945. doi: 10.1590/S0100-204X2003000800006 · Source: DOAJ

Cordeiro MAS, Carneiro MAC, Paulino HB, Junior OJS (2007) Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos do cerrado sob diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)* 35(3), 147-153.

Crisóstomo LA, Weber OB, Miranda FR, Aragão FAZ, Oliveira MEB (2015) Irrigação com água produzida: efeitos sobre características químicas e microbiológicas do solo e a produção do girassol. *Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza (Brazil), 24 p. Bulletin of Research and Development (In Press).*

Das R, Ali ME, Hamid SB. A, Ramakrishna S, Chowdhury ZZ (2014) Carbon nanotube membranes for water purification: a bright future in water desalination. *Desalination* 336: 97-109. doi:10.1016/j.desal.2013.12.026

Dufrêne M, Legendre P (1997) Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* 67: 345-366.

Ferreira R, Weber OB, Crisóstomo LA (2015) Produced water irrigation changes the soil mesofauna community in a semiarid agroecosystem. *Environ. Monit. Assess* 187: 1-9. doi: 10.1007/s10661-015-4744-7

Figueredo KSL, Martínez-Huitle CA, Teixeira ABR, Pinho ALS, Vivacqua CA, Silva DR (2014) Study of produced water using hydrochemistry and multivariate statistics in different productions zones of mature fields in the Potiguar Basin – Brazil. *Journal of Petroleum Science and Engineering* 116: 109-114. doi: 10.1016/j.petrol.2013.10.018

Flores C (2010) Respuesta micorrízica de siete especies leñosas pertenecientes a diferentes etapas sucesionales del bosque nublado de altos de pipe, Venezuela. *Interciencia* 35: 11.

FUNCEME - Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. <http://www.funceme.br/>. Accessed 05 June 2015.

Guo X, Gong J (2014) Differential effects of abiotic factors and host plant traits on diversity and community composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungi in a salt-stressed ecosystem. *Mycorrhiza* 24(2): 79-94. doi: 10.1007/s00572-013-0516-9

Gregory KB, Vidic RD, Dzombak DA (2011) Water management challenges associated with the production of shale gas by hydraulic fracturing. *Elements*, 7(3), 181-186. doi: 10.2113/gselements.7.3.181

Heinze J, Bergmann J, Rillig MC, Joshi J (2015) Negative biotic soil-effects enhance biodiversity by restricting potentially dominant plant species in grasslands. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 17 (3): 227-235. doi:10.1016/j.ppees.2015.03.002

Holm LG, Pancho JV, Herberger, JP, Plucknett DL (1991) The world's worst weeds – distribution and biology. 2nd ed. Krieger Publishing Company, Malabar, USA, p 609.

Igunnu ET, Chen GZ (2012) Produced water treatment technologies. *International Journal of Low-Carbon Technologies*, cts049, 0: 1-21 doi: 10.1093/ijlct/cts049

INVAM - International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. <http://www.invam.caf.wvu.edu>. Accessed 06 May 2015.

JBRJ - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Jabot - Banco de Dados da Flora Brasileira. <http://www.jbrj.gov.br/jabot>. Accessed 05 June 2014.

Koyro HW, Hussain T, Huchzermeyer B, Khan MA (2013) Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. *Environmental and Experimental Botany* 91: 22-29. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.02.007

Krishnamoorthy R., Kim K, Kim C, Sa T (2014) Changes of arbuscular mycorrhizal traits and community structure with respect to soil salinity in a coastal reclamation land. *Soil Biology and Biochemistry* 72: 1-10. doi: 10.1016/j.soilbio.2014.01.017

Leung, HW (2001) Ecotoxicology of glutaraldehyde: review of environmental fate and effects studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49(1), 26–39. doi:10.1006/eesa.2000.2031. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Accessed 05 Oct 2014.

Lopes ODR, Weber OB, Crisostmo LA, Mattos EPNB (2014) Short-term effects of produced water on microbial activity in semiarid soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(2): 295-403.

Machado Filho HO, Couto, E, Bezerra C, Melo J (2015) Composition and similarity of flora associated with anthropogenic sites in the city of João Pessoa-Paraíba. *Planta Daninha* 33(1):57-66.

Mafaziya F, Madawala S (2015) Abundance, richness and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and semi-natural land use types at upper Hantana. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 44:25-34. doi: <http://dx.doi.org/10.4038/cjsbs.v44i1.7338>

Melo MV, Schüter HE, Ferreira J, Magda R, Júnior A, Aquino O (2010) Advanced performance evaluation of a reverse osmosis treatment for oilfield produced water aiming reuse. *Desalination* 250:1016-1018. doi: 10.1016/j.desal.2009.09.095

Motta ARP, Borges CP, Kiperstok A, Esquerre KP, Araujo, PM, Branco LPN (2013) Tratamento de água produzida de petróleo para remoção de óleo por processos de separação por membranas: revisão. *Engenharia Sanitária Ambiental* 18(1):15-26.

Mubarik S, Khan I, Memon RA, Shaheen G (2015) Allelopathic effects of important weeds on germination and growth of maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Weed Science Research* 21(2): 173-180.

Namazya E, Pazira E, Hosseini Y, Samsampour D (2015) Effect of recycled municipal wastewater on soil properties. Peer Reviewed Journals 4: 2319–5037. <http://hdl.handle.net/10183/87929>. Accessed 04 Oct 2015.

Nwaugo VO, Onyeagba RA, Azu N, Nworie O (2007) Petroleum produced (formation) water induced changes in bacterial quality and soil enzymatic activities in a farmland in Egbema, Southern Nigeria. *Estudios Biologia* 29 (66), 89-97.

Onojake MC, Abanum UI (2012) Evaluation and Management of Produced Water from Selected Oil Fields in Niger Delta, Nigeria. *Archives of Applied Science Research* 4(1), 39-47.

Pagano MC, Zandavalli RB, Araújo FS (2013) Biodiversity of arbuscular mycorrhizas in three vegetational types from the semiarid of Ceará State, Brazil. *Applied Soil Ecology* 67: 37-46. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.02.007

Philips JM, Hayman DS. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161. doi: 10.1016/S0007-1536(70)80110-3

Propster JR, Johnson NC (2015) Uncoupling the effects of phosphorus and precipitation on arbuscular mycorrhizas in the Serengeti. *Plant and Soil* 388(1-2): 21-34. doi: 10.1007/s11104-014-2369-1

Püschel D, Rydlová J, Vosátka M (2007) Mycorrhiza influences plant community structure in succession on spoil banks. *Basic and Applied Ecology* 8(6), 510-520. doi:10.1016/j.baae.2006.09.002

Qian Z, Liu X, Yu Z, Zhang H, Jü Y (2012) A Pilot-scale Demonstration of Reverse Osmosis Unit for Treatment of Coal-bed Methane Co-produced Water and Its Modeling. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 20: 302-311. doi: 10.1016/S1004-9541(12)60392-9

Rilling MC (2004) Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 84: 355-363. doi: 10.4141/cjps2013-146

Saint-Etienne L, Paul S, Imbert D, Dulorme M, Muller F, Toribio A, Bâ AM (2006) Arbuscular mycorrhizal soil infectivity in a stand of the wetland tree *Pterocarpus officinalis* along a salinity gradient. *Forest Ecology and Management* 232(1): 86-89. doi: 10.1016/j.foreco.2006.05.046

Sampaio, EVSB (1995) In S. H. Bullock, H. A. Mooney, & E. Medina (Eds.), *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press. Cambridge. doi:10.1017/CBO9780511753398

SAS INSTITUTE. SAS/STAT: User's guide version 9.2 (software). Cary, 2008.

Schenck NC, Pérez Y (1990) *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. 3 ed. Synergistic Publications, Gainesville.

- Schreiner RP (2007) Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. *Applied Soil Ecology* 36(02): 205-215. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.03.002
- Sheng M, Tang M, Chan H, Yang B, Zhang F, Huang Y (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287-296. doi: 10.1007/s00572-008-0180-7
- Sieverding E (1991) Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation. Eschborn: Federal Republic of Germany 317 p.
- Silva FC (2009) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2nd edição revisada e ampliada. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília pp 227.
- Sousa CS, Menezes RSC, Sampaio EVSB, Lima, FS, Maia LC, Oehl F (2014) Arbuscular mycorrhizal fungi in successional stages of Caatinga in the semi-arid region of Brazil. *Ciência Florestal* 24(1): 137-148.
- Sproull G J, Quigley MF, Sher A, González E (2015) Long-term changes in composition, diversity and distribution patterns in four herbaceous plant communities along an elevational gradient. *Journal of Vegetation Science* 26(3): 552-563. doi: 10.1111/jvs.12264
- Stürmer SL, Klauberg Filho O, Queiroz MHD, Mendonça MMD (2006) Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in soils of early stages of a secondary succession of Atlantic Forest in South Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 20(3): 513-521. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062006000300002>
- Stürmer SL, Siqueira JO (2011) Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza* 21: 255-267. doi: 10.1007/s00572-010-0330-6
- Tabatabaei SH, Najafi P (2009) Effects of irrigation with treated municipal wastewater on soil properties in arid and semi-arid regions. *Irrigation and Drainage* 58(5): 551-560. doi: 10.1002/ird.449.
- Thiers B. [continuously updated]. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. Accessed 26 Jan 2015.
- Travis MJ, Weisbrod N, Gross A (2012) Decentralized wetland-based treatment of oil-rich farm wastewater for reuse in an arid environment. *Ecological Engineering* 39: 81-89. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.11.008.
- Wang J, Ge Y, Chen, T, Bai Y, Qian BY, Zhang CB (2014) Facilitation drives the positive effects of plant richness on trace metal removal in a biodiversity experiment. *PloS one*, 9: 1-9, e93733. doi: 10.1371/journal.pone.0093733
- Wright SF, Franke-Snyder M, Morton JB, Upadhyaya A (1996) Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and Soil* 181(2), 193-203. doi: 10.1007/BF00012053

Wright SF, Upadhyaya A (1998) A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and soil* 198(1): 97-107
doi: 97-107. 10.1023/A:1004347701584

Yang Q, Li B, Siemann E (2015) The effects of fertilization on plant-soil interactions and salinity tolerance of invasive *Triadica sebifera*. *Plant and Soil* 394(1-2): 1-9.
doi:10.1007/s11104-015-2520-7.

Table .1 Values of pH, organic carbon (OC) and nutrients from the soil (up to 0.1m depth), after the cultivation of sunflowers irrigated with different types of water the Belém plantation, in Aracati, Ceará (Brazil).

Irrigation treatment	pH	OC	Ca	Mg	K	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
		g/kg	mmol/cm ³					mg/cm ³			
PWRO	7.20	5.30	25.10	13.80	2.20	2.00	240.50	4.20	6.80	25.50	3.20
PWSF	7.30	5.30	20.90	12.70	2.40	6.30	206.60	3.80	4.80	25.30	3.20
WCA	7.80	6.20	20.80	21.10	2.10	3.00	241.70	4.90	7.00	38.00	4.70

Produced water treated by simple filtration (PWSF) and by reverse osmosis (PWRO), and groundwater from Açú Aquifer (WCA).

Table .2 Populations of communities of herbaceous plants after the cultivation of sunflowers irrigated with different types of water on the Belém plantation, Aracati, Ceará.

Code EAC	Family/ Species	Irrigation treatment					
		PWRO		PWS F		WCA	
		Indi- viduals	F (%)	Indi- vidu- als	F (%)	Indi- viduals	F (%)
	Aizoaceae						
56092	<i>Trianthema portulacastrum</i> (L.)	0.00	0.00	0.00	0.00	9.00	1.04
	Amaranthaceae						
56103	<i>Froelichia humboldtiana</i> (Schult.) Seub.	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.12
	Convolvulaceae						
56100	<i>Merremia aegyptia</i> (L.) Urb.	7.00	1.89	0.00	0.00	3.00	0.35
	Euphobiaceae						
56094	<i>Croton hirtus</i> (L.)	61.00	16.44	0.00	0.00	0.00	0.00
56097	<i>Croton glandulosus</i> (L.)	10.00	2.70	1.00	0.09	16.00	1.84
56086	<i>Jatropha ribifolia</i> (Pohl) Baill.	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.12
	Fabaceae						
56095	<i>Mimosa candole</i> R.Grether	1.00	0.27	0.00	0.00	1.00	0.12
56084	<i>Tephrosia purpurea</i> (L.) Pers. subesp. <i>purpurea</i> .	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.12
	Malvaceae						
56106	<i>Waltheria americana</i> (L.)	25.00	6.74	4.00	0.35	19.00	2.19
56099	<i>Pavonia cancellata</i> (L.) Cav.	0.00	0.00	0.00	0.00	7.00	0.81
56087	<i>Herissanthia tiubae</i> (R.Schum.) Brizicky.	1.00	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00
	Moluginaceae						
56107	<i>Mollugo verticilata</i> (L.)	20.00	5,39	12.00	1.04	48.00	5.52
	Nyctaginaceae						
56098	<i>Boerhavia difusa</i> Cham. & Schltld.	0.00	0.00	1.00	0.09	4.00	0.46
	Poaceae						
56105	<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd.	212.00	57.14	1130	98.26	495.00	56.96
56108	<i>Eragrostis tenella</i> (L.) P.Beauv. ex Roem. & Schult.	16.00	4.31	2.00	0.17	258.00	29.69
56102	<i>Panicum sp.</i>	6.0.00	1.62	0.00	0.0	0.00	0.00
	Rubiaceae						
56109	<i>Borreria scabiosoides</i> Cham. & Schltld.	4.00	1.08	0.00	0.00	6.00	0.69
56090	<i>Diodella apiculata</i> (Willd ex. Roem. & Schuldt.) Delprete	8.00	2.16	0.00	0.00	0.00	0.00
	Total	371		1150		869	

Produced water treated by simple filtration (PWSF) and by reverse osmosis (PWRO), and groundwater from Açú Aquifer (WCA). Frequency (F) = 100 (Number of individuals of the species/ Total individuals of the plot). Code EAC= voucher specimen.

Table .3 Arbuscular mycorrhizal colonization rates of frequent herbaceous plants in the experimental plots previously cultivated with sunflowers which had been irrigated with different types of water on the Belém plantation, Aracati, Ceará.

Irrigation treatment	Plants			
	<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	<i>Waltheria americana</i>	<i>Mollugo verticilata</i>	<i>Eragrostis tenella</i>
PWRO	28.00 ns	34.80 ns	14.20 ns	16.20 ns
PWSF	30.50 ns	19.50 ns	15.70 ns	11.70 ns
WCA	22.10 ns	35.80 ns	13.30 ns	20.00 ns

Produced water treated by simple filtration (PWSF) and by reverse osmosis (PWRO), and groundwater from Açu Aquifer (WCA). Root colonization rates were transformed into arc sine $(x+1/100)^{0.5}$. Means followed by the same letter on the line do not differ by 5% Tukey test.

Table .4 Populations of morphotypes spore of AM fungal communities in the soil (n° per 100 g dry soil) and frequency (F, %) of species and families following cultivation of sunflowers irrigated with different types of water on the Belém plantation, Aracati, Ceará.

Family/ Species	Irrigation treatment					
	PWRO		PWSF		WCA	
	Fungal spores	F (%)	Fungal spores	F (%)	Fungal spores	F (%)
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora</i> aff. <i>bireticulata</i> F.M. Rothwell & Trappe	46.00	8.30	19.00	7.20	43.00	7.72
<i>Acaulospora</i> aff. <i>excavata</i> Ingleby & Walker	239.00	43.30	151.00	57.00	0.00	0.00
<i>Acaulospora</i> sp.1	32.00	5.80	0.00	0.00	227.00	40.75
<i>Acaulospora</i> sp.2	0.00	0.00	0.00	0.00	98.00	17.59
Ambisporaceae						
<i>Ambispora fennica</i> C. Walker, Vestberg & A. Schüßler	22.00	4.00	12.00	4.50	34.00	6.10
Diversisporaceae						
<i>Diversispora aurentium</i> (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & Schüßler	53.00	9.60	56.00	21.10	48.00	8.62
Gigasporaceae						
<i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall	68.00	12.30	0.00	0.00	35.00	6.28
<i>Racocetra castanea</i> (C. Walker) Oehl, F. A. Souza & Sieverd	28.00	5.10	22.00	8.30	35.00	6.28
Glomeraceae						
<i>Funneliformis geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & A. Schüßler	32.00	5.80	5.00	1.90	37.00	6.64
Paraglomeraceae						
<i>Paraglomus</i> sp.	32.00	5.80	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	552.00		265.00		557.00	

Produced water treated by simple filtration (PWSF) and by reverse osmosis (PWRO), and groundwater from Açu Aquifer (WCA). Fungal spores represent the sum of three composite soil samples.

Table .5 Levels of proteins related to total glomalin (GRSP-TG) and easily-extractable glomalin (GRSP-EEG) in the soil, following the cultivation of sunflowers irrigated with different types of water on the Belém plantation, Aracati, Ceará.

Variables	Unit	Irrigation treatment		
		PWRO	PWSF	WCA
PCRG-T	mg g ⁻¹ dry soil	1.07 b	0.94 b	1.40 a
PCRG-F	mg g ⁻¹ dry soil	0.28 c	0.45 b	0.63 a

Produced water treated by simple filtration (PWSF) and by reverse osmosis (PWRO), and groundwater from Açu Aquifer (WCA). Means followed by the same letter on the line do not differ by 5% Tukey test.

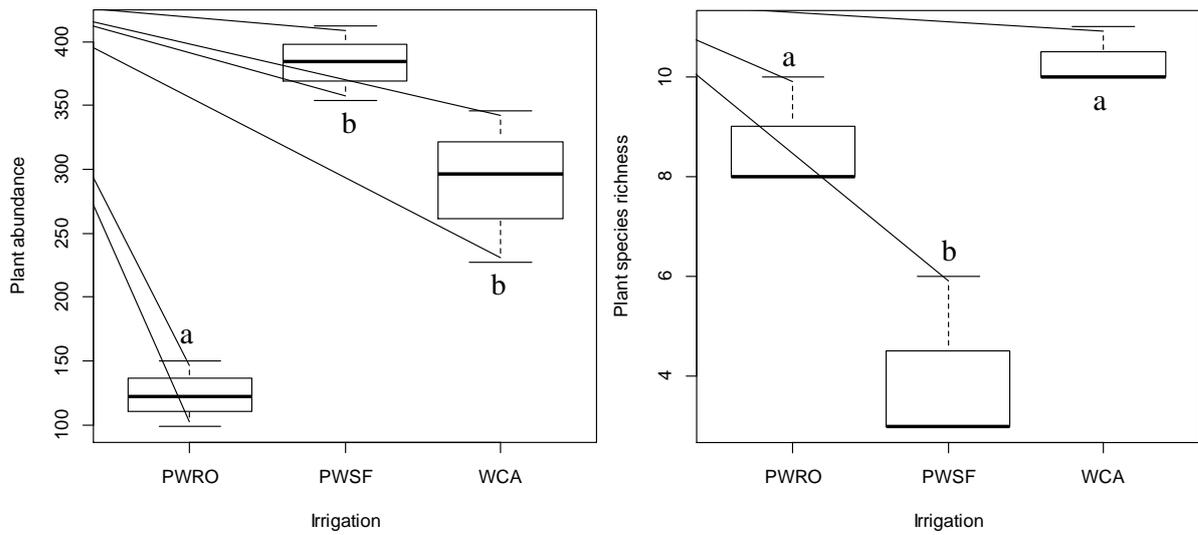


Figure .1 Abundance and richness of herbaceous plants in succession to irrigated sunflower crop with produced water treated by reverse osmosis (PWRO), produced water obtained through simple filtration (PWSF), and groundwater from Açu Aquifer (WCA). Identical letters indicate that the treatments were not significantly different ($p < 5\%$).

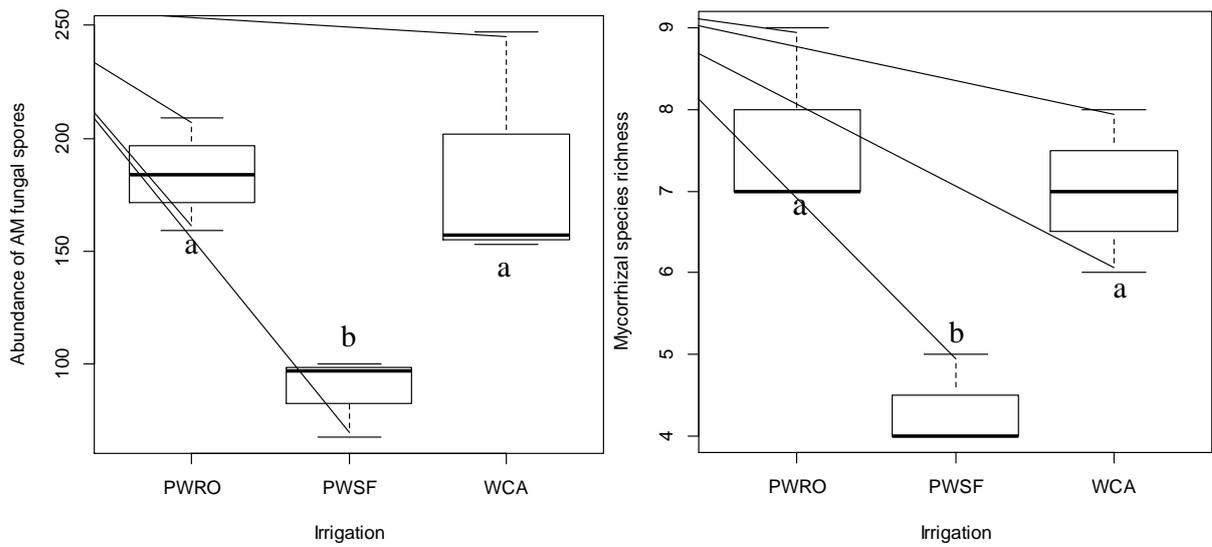


Figure .2 Abundance and richness of morphotypes spore of AM fungal communities in succession to irrigated sunflower crop with produced water treated by reverse osmosis (PWRO), produced water obtained through simple filtration (PWSF), and groundwater from Açu Aquifer (WCA). Identical letters indicate that the treatments were not significantly different ($p < 5\%$).