



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DO SOLO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**LUCAS RODRIGUES SIMÕES**

**INFLUÊNCIA DO BIOCHAR SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA EM  
SOLO DA CAATINGA AFETADO PELA DESERTIFICAÇÃO**

**FORTALEZA**

**2023**

LUCAS RODRIGUES SIMÕES

INFLUÊNCIA DO BIOCHAR SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLO  
DA CAATINGA AFETADO PELA DESERTIFICAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo. Área de concentração: Química, Fertilidade e Biologia do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S615i Simões, Lucas Rodrigues.  
INFLUÊNCIA DO BIOCHAR SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLO DA  
CAATINGA AFETADO PELA DESERTIFICAÇÃO / Lucas Rodrigues Simões. – 2023.  
70 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira.
1. biocarvão. 2. Caatinga. 3. desertificação. 4. ecologia microbiana. 5. semiárido. I. Título.  
CDD 631.4
-

LUCAS RODRIGUES SIMÕES

INFLUÊNCIA DO BIOCHAR SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLO  
DA CAATINGA AFETADO PELA DESERTIFICAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo. Área de concentração: Química, Fertilidade e Biologia do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Arthur Prudêncio de Araújo Pereira.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof. Dr. Paulo Furtado Mendes Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Kaio Gráculo Vieira Garcia  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Wardsson Lustrino Borges  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

À Deus, à Santíssima Virgem Maria, ao Castíssimo São José,  
aos meus amados Pais e à minha diletta irmã.

## AGRADECIMENTOS

**Ao Pai, ao Filho e ao Espírito Santo**, “que é um só Deus em pessoas três, agora e sempre e sem fim, amém.”, sem o qual nada pode realizar-se, pois: “Tudo foi feito por meio dele, e, de tudo o que existe, nada foi feito sem ele” (Jo 1, 3), pois “nele vivemos, nos movemos e somos” (At 17, 28a).

À **Santíssima Virgem Maria**, Sede da Sabedoria, por sua maternidade e realeza. “*Tuus totus ego sum, et omnia mea tua sunt; o Virgo gloriosa, super omnia benedicta, ponam te ut signaculum super cor meum, quia fortis est ut mors dilectio tua*” (Tratado da verdadeira devoção à Santíssima Virgem, 216).

Ao **Glorioso e Castíssimo São José**, modelo dos trabalhadores, por ser o instrumento da Divina Providência na minha vida e em toda a trajetória do mestrado, cuidando com maestria de cada detalhe, especialmente de todo trabalho manual, consagrado a ele.

Aos **meus pais**, Rozineide Rodrigues e Antônio Pereira, por serem meus cocriadores, me concedendo o dom da vida e por serem meus valiosos guias, exemplos e sustentáculos. A minha dileta **irmã** Livia Rodrigues, por estar comigo em todos os momentos. E a todos os meus familiares, que sempre me apoiaram, rezaram e torceram por mim.

Aos meus irmãos da **Comunidade Católica Shalom**, que me acolheram na Missão de Fortaleza, casa mãe, por todo apoio, acompanhamentos, convivências e retiros durante esses anos, em especial aos Grupos de Oração que por aqui passei: *Theotokos*, Esposa do Espírito Santo e Obra Nova.

Ao meu orientador, o **Prof. Dr. Arthur Prudêncio**, que com muita paciência, competência e profissionalismo me conduziu durante todo o tempo de mestrado, e me proporcionou muito crescimento, teórico e prático, no campo científico. E ao **Grupo de Estudo em Microbiologia e Biotecnologia do Solo** (GEMBioS), no qual construímos pontes, nos auxiliamos perante cada desafio e crescemos juntos.

Ao **Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo** (PPGCS/UFC), pela oportunidade de aqui alavancar mais um nível acadêmico, conquistando o grau de mestre, bem como a todos os professores e técnicos por seus ensinamentos indispensáveis, em especial ao Prof. Paulo Mendes e ao Dr. Kaio Gráculo, que de perto me acompanharam transmitindo valiosos ensinamentos.

Ao **CNPq** pela concessão da bolsa de mestrado que me proporcionou a permanência no curso.

Ao **Programa Cientista-chefe em Agricultura** (Convênio 14/2022 SDE/ADECE/FUNCAP e Processo 08126425/2020/FUNCAP) por todo apoio financeiro e científico para a realização da pesquisa, principalmente aos professores Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda e Dr<sup>a</sup> Mirian Cristina Gomes Costa.

À Financiadora de Estudos e Projetos (**FINEP**), processo 0122017200, especialmente aos professores Dr. Antônio Gomes de Souza Filho, Dr. Odair Pastor Ferreira e a Pós-Doutoranda Laís Gomes Fregolente.

A Central de Genômica e Bioinformática da UFC (**CeGenBio**), na pessoa da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Vânia Melo, pela parceria consolidada nos estudos de metagenômica.

A **Embrapa Agrobiologia**, na pessoa do Dr. Orivaldo Saggin Júnior, pela concessão dos inoculantes, e a **Embrapa Agroindústria Tropical**, na pessoa do Dr. Wardsson Lustrino Borges, por ter cedido toda a infraestrutura para a instalação e condução experimental.

Aos **colegas do PPGCS**, por esse tempo de estudos, pesquisas, trabalhos e parcerias, sendo apoios mútuos em todas as circunstâncias, essenciais para nosso crescimento conjunto. Em especial à colega de mestrado, Marta Moraes, que de forma muito solícita me acompanhou, auxiliando em cada etapa dessa trajetória.

Muito obrigado!

“Tudo concorre para o bem daqueles que amam a Deus”

Carta de São Paulo aos Romanos (Rm 8, 28a)

## RESUMO

O uso do biochar como condicionador de solo pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos da degradação na Caatinga. Porém, os efeitos de sua aplicação na diversidade do microbioma do solo permanecem pouco explorados. O objetivo foi avaliar o efeito da aplicação de biochar, com ou sem a inoculação de micro-organismos promotores de crescimento vegetal, nos atributos químicos do solo, no crescimento de plantas e na diversidade/atividade microbiológica de um solo degradado da Caatinga. O solo foi coletado no município de Irauçuba, estado do Ceará. O biochar foi obtido da carbonização hidrotérmica do bagaço do caju. O experimento foi implantado em ambiente protegido, com os seguintes tratamentos: (1) biochar (com e sem aplicação) e (2) inoculação (CONT: controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai* e CO: co-inoculação), com 4 repetições. Foram cultivados sabiá (90 dias) e milho (55 dias) e os vasos receberam uma dose 10 Mg ha<sup>-1</sup> de biochar. Foi quantificado o número de folhas, altura das plantas, diâmetro do caule, massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e das raízes (MMSRA). Foram determinadas as atividades enzimáticas da  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e urease, e suas relações estequiométricas. Foi extraído o DNA total do solo cultivado com sabiá e o gene 16S rRNA foi sequenciado por meio da plataforma Illumina NextSeq. A estrutura da comunidade microbiana foi demonstrada por meio da abundância de filos e gêneros, a diversidade alfa (riqueza de ASVs) e índice de diversidade de Shannon. A diversidade beta foi plotada em uma análise de coordenadas principais. No solo cultivado com sabiá, todos os tratamentos com biochar reduziram o pH e aumentaram a altura, a MMSPA, os teores de C, N, K<sup>+</sup> e H+Al, além da atividade da  $\beta$ -glicosidase, da fosfatase ácida, o comprimento e o ângulo dos vetores estequiométricos. Os filos mais abundantes foram Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria e Chloroflexi e os gêneros, *Rubrobacter*, *Streptomyces*, *Gaiella*, *Sphingomonas* e *Nocardioides*, sem diferenças significativas. Os índices de riqueza e diversidade foram reduzidos pela aplicação de biochar, porém esse efeito foi aliviado pela co-inoculação. No solo cultivado com milho, os tratamentos com biochar aumentaram o diâmetro do caule, o teor de C, K<sup>+</sup>, H+Al e a soma de bases, a MMSRA foi aumentada pelo tratamento com a BPCV, e Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e a CTC foram maiores nos tratamentos CONT e CO com biochar. Apenas a atividade da urease apresentou diferenças, com seu maior valor no tratamento de CO sem biochar, onde o ângulo do vetor foi menor. A adição do biochar melhorou o crescimento das plantas, os atributos químicos do solo e a atividade

enzimática da  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, entretanto, globalmente, reduziu os índices de riqueza e diversidade dos organismos procarióticos do solo.

**Palavras-chave:** biocarvão; Caatinga; desertificação; ecologia microbiana; semiárido.

## ABSTRACT

The use of biochar as a soil conditioner can be an alternative to minimize the effects of degradation in the Caatinga biome. However, the effects of its application on soil microbiome remain poorly understood. Our aim was to evaluate the effect of biochar application, with or without the inoculation of plant growth-promoting microorganisms, on soil chemical attributes, plant growth properties, and microbial diversity/activity in degraded Caatinga soil. The soil was collected in the municipality of Irauçuba, state of Ceará, Brazil. The biochar was obtained from the hydrothermal carbonization of cashew bagasse. The experiment was conducted in a greenhouse, following treatments: (1) biochar (with and without application) and (2) inoculation (CONT: control, AMF: *Gigaspora margarita*, PGPM: *Bacillus aryabhattai*, and CO: co-inoculation), with 4 replicates. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) (90 days) and maize (*Zea mays*) (55 days) were grown, and the pots received a dose of 10 Mg ha<sup>-1</sup> of biochar. The number of leaves, plant height, stem diameter, aboveground dry matter (ADM), and root dry matter (RDM) were quantified. Enzymatic activities of  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase, and urease, as well as their stoichiometric, were determined. Total DNA was extracted from the soil cultivated with Sabiá, and the 16S rRNA gene was sequenced using the Illumina NextSeq platform. The abundance of phyla and genera, alpha diversity (ASV richness), and Shannon diversity index demonstrated the microbial community structure. Also, beta diversity was plotted in a principal coordinates analysis. In the Sabiá-cultivated soil, all biochar treatments reduced pH and increased plant height, ADM, C, N, K<sup>+</sup> and H+Al contents, as well as  $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase activity, and the length and angle of stoichiometric vectors. The most abundant phyla were Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, and Chloroflexi, and the genera *Rubrobacter*, *Streptomyces*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, and *Nocardioides*, with no significant differences. Biochar application reduced the richness and Shannon indexes, but this effect was alleviated by co-inoculation. In the corn-cultivated soil, biochar treatments increased stem diameter, C, K<sup>+</sup>, H+Al, and sum of bases, while RDM was increased by BPCP treatment, and Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and CEC were higher in CONT and CO treatments with biochar. Only urease activity showed differences, with the highest value in the CO treatment without biochar, where the vector angle was smaller. Biochar addition improved plant growth, soil chemical attributes, and enzymatic activity of  $\beta$ -glucosidase and acid phosphatase. However, overall, it reduced richness and diversity indexes of soil prokaryotic organisms.

**Keywords:** biochar; Caatinga; desertification, microbial ecology, semiarid.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1 Geral.....	15
2.2 Específicos.....	15
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
3.1 O bioma Caatinga .....	16
3.2 Mudanças climáticas e desertificação .....	17
3.3 Aplicações do biochar .....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
4.1 Coleta de solo.....	22
4.2 Obtenção e caracterização do biochar .....	23
4.3 Instalação, condução e delineamento experimental.....	24
4.4 Inoculações dos micro-organismos.....	25
4.5 Análises biométricas .....	26
4.6 Análises do solo .....	27
4.6.1 Análises químicas .....	27
4.6.2 Análises enzimáticas .....	27
4.6.3 Sequenciamento do gene 16S rRNA .....	29
4.6.4 Análises de bioinformática.....	29
4.7 Análise estatística .....	30
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
5.1 Experimento 1 - <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> Benth .....	31
5.1.1 Biometria e biomassa .....	31
5.1.2 Química do solo .....	33
5.1.3 Atividade enzimática.....	34
5.1.4 Sequenciamento do gene 16S rRNA .....	36
5.2 Experimento 2 - <i>Zea mays</i> .....	42
5.2.1 Biometria e biomassa .....	42
5.2.2 Química do solo .....	44
5.2.3 Atividade enzimática.....	45
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>48</b>
6.1 Biochar e o crescimento de plantas e química do solo.....	48
6.2 Biochar e a atividade enzimática do solo .....	50
6.3 Biochar e a estrutura comunidade microbiana do solo.....	52
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>56</b>
<b>APÊNDICE A - FOTOS DA CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS</b> .....	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Na região Nordeste do Brasil predomina o clima semiárido, o qual é caracterizado por baixos índices pluviométricos, temperaturas elevadas, solos pouco intemperizados e tem a Caatinga como principal bioma (DA SILVA et al., 2021; SILVA et al., 2021). Extensos períodos de seca expõe essa região a uma série de perturbações naturais que, somadas às ações antrópicas, aceleram processos de degradação e impactam a vegetação nativa (SILVA et al., 2020, 2021).

Esses fatores, associados com às mudanças climáticas, resultam em perturbações ecossistêmicas e podem desencadear o processo de desertificação (VIEIRA et al., 2020). Esse fenômeno foi definido pela Convenção das Nações Unidas para o Combate à Desertificação (UNCCD) como a degradação das terras secas (*Drylands*), ou seja, em áreas de clima árido, semiárido e subúmido seco, resultante de uma série de fatores naturais e antrópicos que reduzem a cobertura vegetal e a produção agropecuária (UNCCD, 2019).

A desertificação causa danos diretos à qualidade do solo e reduz a produção de biomassa e a deposição de matéria orgânica. Por consequência, a ciclagem de nutrientes e a diversidade da microbiota do solo são afetadas, pois estas dependem da interação solo-planta (DA SILVA et al., 2021; TOMASELLA et al., 2018). Nesse sentido, práticas que promovam um maior aporte de matéria orgânica no solo são urgentemente necessárias. Uma dessas alternativas pode ser a utilização de materiais carbonáceos funcionais, como os biocarvões (ou *Biochar*).

O biochar é um produto rico em carbono, de granulometria fina e resistente à decomposição, oriundo da conversão termoquímica, em altas temperaturas e ausência de oxigênio, de resíduos vegetais, animais ou inorgânicos, por via pirolítica ou hidrotérmica (JOSEPH et al., 2009). Essa transformação de resíduos em biochar confere ao produto a presença de componentes mais estáveis e lábeis, compostos voláteis, conteúdo mineral, e outras propriedades funcionais capazes de promover melhorias nos atributos do solo (DAS, GHOSH e AVASTHE, 2021).

A versatilidade do biochar o torna capaz de intervir nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo, tais como: no aumento da capacidade de retenção de água, no incremento de disponibilidade dos nutrientes, no sequestro de carbono, entre outros (DAS, GHOSH e AVASTHE, 2021). Esses *inputs* tornam-se ainda mais imprescindíveis

quando se trata de solos pouco desenvolvidos e em regiões com restrições hídricas, como na Caatinga (MEDEIROS et al., 2020).

Outro aspecto relevante e sensível às mudanças ambientais são as respostas do microbioma do solo, em consequência do fornecimento de energia por meio dos incrementos de carbono e da disponibilidade de nichos pela estrutura microporosa do biochar (JABBOROVA et al., 2021; LUIS MORENO et al., 2022; MEDEIROS et al., 2020). Porém, a influência da aplicação de biochar e seu efeito no microbioma do solo ainda é pouco documentado para a Caatinga, principalmente em solos afetados pela desertificação.

Assim, esta pesquisa se propôs a estudar a influência do uso de biochar hidrotérmico, oriundo de resíduos da cadeia produtiva do cajueiro, como estimulante à atividade/diversidade microbiana de solo da Caatinga em processo de desertificação. Nós hipotetizamos que a adição de biochar hidrotérmico, oriundo do bagaço de caju, aumenta a atividade/diversidade do microbioma do solo em áreas da Caatinga em avançado processo de desertificação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar o efeito da aplicação de biochar, com ou sem a inoculação de micro-organismos promotores de crescimento vegetal, no incremento da diversidade/atividade microbiológica de um solo degradado da Caatinga, assim como os parâmetros químicos e de crescimento de plantas.

### **2.2 Específicos**

Avaliar o efeito do biochar, com e sem inoculação de micro-organismos promotores de crescimento, nos parâmetros biométricos (crescimento inicial) de plantas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e milho (*Zea mays*) cultivadas em solos degradados da Caatinga, assim como as características químicas do solo;

Avaliar os efeitos da aplicação de biochar, com e sem inoculação de micro-organismos promotores de crescimento, sobre o microbioma do solo em áreas afetadas pelo processo de desertificação, com ênfase na sua riqueza, abundância, diversidade e funções (atividade enzimática do solo e suas relações estequiométricas).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O bioma Caatinga

As terras secas (*Drylands*), que compreende as terras áridas, semiáridas e subúmidas secas, ocupam uma área equivalente a aproximadamente 41% do globo terrestre (VIEIRA et al., 2015). Essas áreas são, naturalmente, susceptíveis a processos de degradação, o que pode resultar em reduções na biodiversidade e na produtividade agrícola (HUANG et al., 2020).

Localizada sob o predomínio do bioma Caatinga, a região semiárida no Brasil é considerada a maior região semiárida do mundo (DA SILVA et al., 2017, 2021). A região abrange 982.566 km<sup>2</sup>, que corresponde a 18,2% do território nacional e cerca de 63% da região Nordeste, incluindo parte do norte do estado de Minas Gerais, compreendendo um total de 1.133 municípios e abrigando uma população de aproximadamente 28,6 milhões de habitantes (SOUZA et al., 2017).

O clima semiárido brasileiro é caracterizado pelo baixo índice pluviométrico, com uma média anual de 400 a 800 mm, concentrados nos meses de fevereiro a abril, e períodos de seca que podem se estender de 7 a 10 meses durante o ano, além de uma elevada evapotranspiração (DA SILVA et al., 2017, 2021; MAMEDE; DE ARAÚJO, 2008). Tais condições acarretam restrições hídricas para as atividades agropecuárias, sendo este um dos principais fatores limitantes para o desenvolvimento agrícola na região.

O semiárido brasileiro está inserido em quase sua totalidade sob o domínio ecológico da Caatinga, um bioma exclusivamente brasileiro. A etimologia da palavra “Caatinga” vem do Tupi-Guarani, que significa “floresta branca” devido a característica caducifólia da vegetação nativa, como forma de adaptação às restrições hídricas. Forma-se então um cenário de árvores desfolhadas durante a estação seca (PRADO, 2003).

Historicamente, a Caatinga tem sido um bioma extremamente explorado e degradado por práticas agropecuárias intensivas. Desde a década de 1970, mudanças drásticas em sua paisagem vêm sendo observadas, devido a remoção da vegetação nativa para a implantação de cultivos agrícolas e para produção pecuária. Parte da vegetação nativa da Caatinga têm sido removida para plantios de pastagens milho, feijão, mandioca, além de monoculturas de algodão, cana de açúcar, caju e outras frutíferas (OLIVEIRA; SALES, 2015). O extrativismo, o uso exaustivo do solo e a não adoção de práticas sustentáveis tem comprometido a resiliência desse ecossistema, chegando muitas vezes a

exceder sua capacidade, como é o caso do sobrepastejo (DA SILVA et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2021).

Diante do uso exaustivo dos solos da Caatinga e da baixa adoção de práticas conservacionistas e sustentáveis, o bioma pode ter sua resiliência afetada. Nos últimos tempos, alguns esforços têm sido empregados para recuperação desses solos, como o plantio de gramíneas, leguminosas e a exclusão do pastoreio (ARAÚJO et al., 2013; PEREIRA et al., 2021). Essas técnicas têm se mostrado eficientes na recuperação da fertilidade e da sustentabilidade do solo, bem como na regulação da riqueza e da diversidade bacteriana, principalmente pela disponibilização de recursos provenientes da matéria orgânica do solo (OLIVEIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2021, 2022).

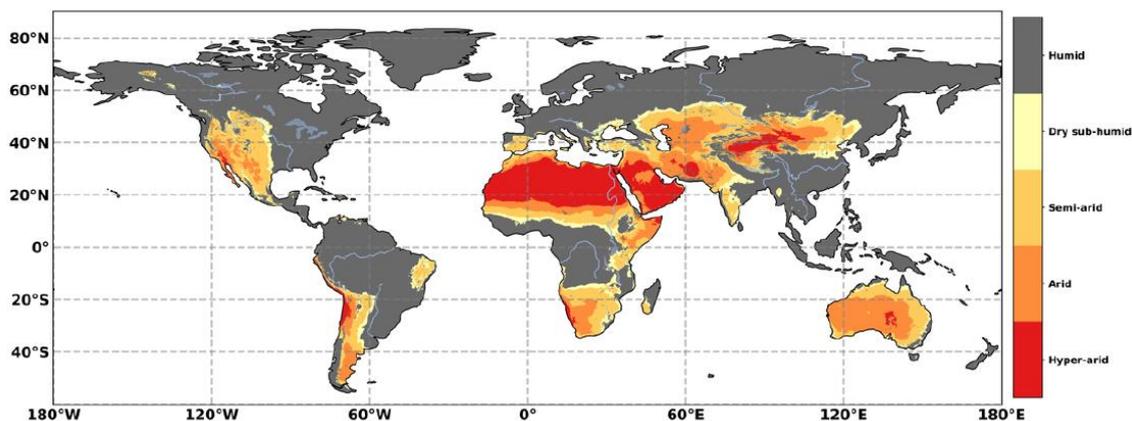
Dentre os atributos do solo, as propriedades biológicas são as mais sensíveis frente às mudanças ambientais, sendo boas indicadoras da qualidade do solo. Por exemplo, a atividade biológica dos solos degradados foi significativamente inferior, quando comparados aos solos em recuperação natural, em processos de restauração ou com vegetação nativa (PEREIRA et al., 2021, 2022). O fator chave para o entendimento dessas respostas é a deposição de matéria orgânica no solo, favorecida pelas plantas de cobertura, como principal fator modulador da estrutura microbiana do solo (ARAÚJO et al., 2013).

Porém, é necessário entender melhor como a degradação e as técnicas de recuperação influenciam nas propriedades microbianas de um solo altamente degradado, bem como surge a necessidade do desenvolvimento de técnicas viáveis para mitigar efeitos deletérios e estimular a diversidade microbiana, como a aplicação de biochar e a utilização de micro-organismos promotores do crescimento de plantas.

### **3.2 Mudanças climáticas e desertificação**

A desertificação, compreendida como a degradação das terras secas, é resultante de uma série de fatores perturbadores do ecossistema, como a redução ou a perda da produtividade biológica e/ou econômica das terras cultivadas, nos mais diversos sistemas de produção, seja irrigado ou de sequeiro, em pastagens ou florestas plantadas, resultante de diversos processos derivados das atividades humanas (VIEIRA et al., 2020), e afeta diretamente uma população de 250 milhões de pessoas no mundo (HUANG et al., 2020). Além disso, a UNCCD (2019) estima que pelo menos 12 milhões de hectares de terra são perdidos todos os anos pela desertificação (Figura 1).

Figura 1 – Distribuição geográfica das *Drylands* de acordo com o índice de aridez.



Fonte: MIRZABAEV et al., 2019.

Dentro do território brasileiro, 15% das terras são classificadas como suscetíveis à desertificação. Essas áreas foram agrupadas em núcleos de desertificação, cujo processo de degradação está mais avançado e mais preocupante, são eles: Irauçuba-CE, Seridó-RN e PB, Cabrobó-PE e Gilbués-PI (VIEIRA et al., 2015). Em Irauçuba, o processo de desertificação encontra-se acelerado principalmente pela prática da pecuária extensiva, com a criação de ovinos e caprinos, bem como de bovinos.

O sobrepastejo configura-se como a ação mais deletéria ao ecossistema local, pois reduz drasticamente a vegetação nativa e conseqüentemente, a deposição de matéria orgânica e os teores de nutrientes do solo. Logo, com a atividade biológica reduzida, a ciclagem de nutrientes é afetada, gerando impactos negativos para as plantas, animais e seres humanos (OLIVEIRA FILHO et al., 2019; PEREIRA et al., 2021, 2022).

A matéria orgânica do solo figura como um dos principais fatores moduladores da microbiota, e sua perda pode afetar diretamente a composição, diversidade e funcionalidade das comunidades microbianas. Por conseguinte, os micro-organismos são indicadores eficientes para mensurar o avanço do processo de desertificação, pois desempenham papéis importantes nos ciclos biogeoquímicos, estruturação do solo, supressão de fitopatógenos e promoção de crescimento vegetal (OLIVEIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2021, 2022).

Alguns estudos abordam os impactos da desertificação no bioma da Caatinga, sobre os impactos sociais, econômicos e ecológicos, avaliando sobretudo a flora e os atributos edáficos (OLIVEIRA FILHO et al., 2019; SILVA et al., 2020). Poucos estudos avaliam os impactos do sobrepastejo nas comunidades microbianas (OLIVEIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2021, 2022), sendo necessário investigações acerca de como

técnicas alternativas de adição de fontes de matéria orgânica ao solo podem atuar como atenuadoras dos efeitos danosos à microbiota.

### 3.3 Aplicações do biochar

O biochar é um produto sólido derivado da pirólise de biomassas, rico em carbono, de granulometria fina e elevada porosidade e superfície específica, sendo um composto eficiente e versátil por dispor de propriedades físicas e químicas que o configuram como condicionante de solo (AAMER et al., 2020; SANI et al., 2020; WEBER e QUICKER, 2018).

A versatilidade de suas propriedades proporciona diversas empregabilidades nos agroecossistemas, como no sequestro de carbono (YANG et al., 2021; YIN et al., 2022), no aumento da capacidade de retenção de água de solos arenosos (ALGHAMDI; ALKHASHA; IBRAHIM, 2020; AMOAKWAH et al., 2017), no incremento de fertilidade do solo e na maior disponibilidade de nutrientes através do aumento do pH do solo (AAMER et al., 2020; GIAGNONI et al., 2019; MASUD et al., 2020), na estruturação do solo, na diversidade microbiana (AHMAD et al., 2022; ZHANG et al., 2021), entre outros.

Seus efeitos têm sido averiguados de diversas formas, sejam em experimento em condições controladas (MASUD et al., 2020; ZHANG et al., 2021), em campo (IBRAHIM et al., 2022; YIN et al., 2022), com culturas de ciclo curto (MASUD et al., 2020; SANI et al., 2020), perenes (BONIN et al., 2018; GIAGNONI et al., 2019; WANG et al., 2019), em sistemas de rotação de cultura (HU et al., 2021), além da sua aptidão como veículo de inoculantes biológicos (MEDEIROS et al., 2020). As propriedades físico-químicas do biochar já foram extensivamente estudadas, entretanto os efeitos da sua aplicação nas funções biológicas do solo são pouco compreendidos, principalmente ao se tratar de solos degradados. Tendo em vista que o solo é o compartimento da biosfera que mais abriga micro-organismos, é importante desvendar a interação do biochar com as comunidades microbianas (YU et al., 2019).

Esses micro-organismos são os responsáveis por conferir a funcionalidade do solo, onde habitam, estando envolvidos em diversas funções como ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, estruturação do solo, síntese de compostos promotores de crescimento vegetal, degradação de contaminantes orgânicos e supressão de pragas e doenças de plantas (KIRCHMAN, 2018).

O biochar dispõe de alguns mecanismos que propiciam a vida microbiana no solo, como a capacidade de aliviar a acidez do solo e, conseqüentemente, a deficiência de nutrientes e toxicidade de metais, além de promover melhorias nos atributos físicos, criando um ambiente favorável para os micro-organismos. Além disso, o biochar lhes oferece um *habitat* colonizável, por meio da sua elevada porosidade total, sendo esses efeitos mais pronunciados em solos degradados (HAN et al., 2020; YU et al., 2019).

Os microporos do biochar tem uma influência preponderante na promoção da atividade microbiana. Estes poros funcionam como abrigo e como defesa para os micro-organismos contra os seus predadores. São relatados aumentos na colonização por parte de fungos micorrízicos arbusculares, quando seus esporos são protegidos pelos microporos e neles encontram condições ideais para sua germinação, logo, as raízes ao encontrarem os sítios de biochar no solo, com a presença dos esporos, a micorrização é favorecida. Efeito similar ocorre para com as bactérias promotoras de crescimento vegetal (HAN et al., 2020; YU et al., 2019).

As propriedades do biochar, no entanto, não são imutáveis. Sabe-se que inicialmente o biochar apresenta uma elevada hidrofobicidade e que diversos fatores bióticos e abióticos, como temperatura, água, oxidação, ação de micro-organismos e até da luz solar podem alterar suas características, num processo conhecido como envelhecimento (QUAN et al., 2020).

Nesse processo há a formação de diversos grupos funcionais contendo oxigênio nas superfícies, como grupos aril, carboxila e carbonila, o que o torna mais reativo (MUKHERJEE et al., 2014). É muito provável que os micro-organismos tenham um papel preponderante no “envelhecimento” do biochar. Esse processo de dissolução do biochar pode estar associado à sua estabilidade no solo e acaba por fornecer nutrientes para a microbiota e para as plantas (MUKHERJEE; ZIMMERMAN, 2013).

Porém, esse processo é dependente da forma de produção do biochar. Biocarvões produzidos por pirólise incompleta, ou seja, pirólise lenta e baixas temperaturas, possuem mais C lábil, que ao ser acessado pelos micro-organismos, pode acelerar a sua própria decomposição, contrapondo os biocarvões completamente pirolisados, por pirólise rápida em altas temperaturas, que possuem C mais recalcitrante, sendo assim resistente a degradação microbiana (BRUUN et al., 2011).

Em geral, o “envelhecimento” biótico e/ou abiótico torna o biochar mais reativo e dispõe matéria orgânica dissolvida prontamente disponível para os micro-organismos e plantas (QUAN et al., 2020). As altas temperaturas de pirólise e o maior tempo de

residência promovem a volatilização de parte da matéria orgânica e da água, o que resulta na formação de poros de maior tamanho, e essa natureza altamente porosa do biochar e sua elevada área superficial contribuem para o suporte físico à microbiota do solo (JAAFAR; CLODE; ABBOTT, 2014, 2015).

Vale ressaltar que a quantificação da atividade enzimática é um aspecto relevante para o estudo dos efeitos do biochar nos parâmetros biológicos do solo. As enzimas do solo são proteínas extracelulares, produzidas por micro-organismos, que catalisam as reações de hidrólise de biomoléculas da matéria orgânica, ciclando os nutrientes e disponibilizando-os para as plantas e micro-organismos (LOPES et al., 2021).

A  $\beta$ -glicosidase, urease, as fosfatases ácida e alcalina, e arilsulfatase, são as principais enzimas envolvidas nas transformações microbianas dos macronutrientes: carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre, respectivamente. A aplicação do biochar ao solo pode aumentar a atividade dessas enzimas. Por ser uma fonte de carbono, o biochar oferece substrato para a atividade das enzimas, especialmente para a  $\beta$ -glicosidase, que por conseguinte, ao hidrolisar as biomoléculas complexas em compostos de baixo peso molecular, estes funcionam como fonte de energia para micro-organismos e aumentam a atividade de outras enzimas (LOPES et al., 2021). Estudos apontam que o biochar tem potencial para aumentar a atividade da  $\beta$ -glicosidase, essencial para a decomposição da matéria orgânica do solo (GÜNAL, ERDEM e DEMIRBAS, 2018).

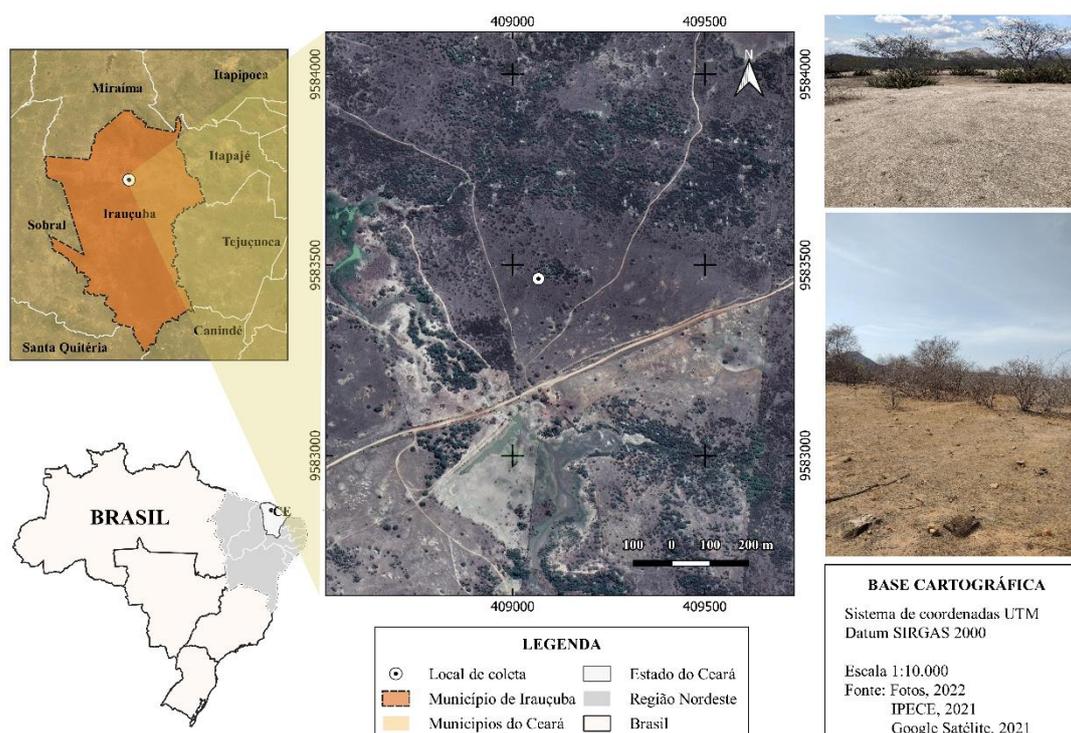
Através de todas as propriedades supracitadas, sabe-se que o biochar tem potencial para promover o aumento da diversidade, abundância e funcionalidade da microbiota do solo. Especialmente por dispor suporte físico (*habitats*) e nutricional (substratos) para os micro-organismos, o biochar promove a execução de diversas funções ecológicas importantes para manutenção da vida terrestre (PALANSOORIYA et al., 2019). Restamos desvendar os efeitos do biochar na diversidade da comunidade microbiana de solos em avançado processo de desertificação.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Coleta de solo

O solo foi coletado no município de Irauçuba, Ceará, Brasil, no mês de abril de 2022, na camada de 0-10 cm de profundidade, em área fortemente degradada pela prática de sobrepastejo ( $3^{\circ}46'5''$  S e  $39^{\circ}49'8''$  O) (Figura 2). O solo foi classificado como Planossolo (OLIVEIRA FILHO et al., 2019). O município de Irauçuba fica localizado a 154 km de Fortaleza, capital do estado do Ceará, possui clima tropical semiárido quente (BSH), de acordo com a classificação de Köppen, atingindo temperaturas médias anuais que variam entre  $26^{\circ}\text{C}$  e  $28^{\circ}\text{C}$  e altitude de 152 m (IPECE, 2017).

Figura 2 - Localização geográfica do local de coleta do solo no município de Irauçuba, estado do Ceará, Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A precipitação anual média no município é de cerca de 320 mm, com chuvas concentradas nos meses de janeiro a maio, e os demais meses são marcados por uma forte estiagem (OLIVEIRA FILHO et al., 2019). A vegetação local é característica do bioma

Caatinga e se encontra em um avançado grau de degradação, sendo o município considerado um dos núcleos de desertificação mais graves do País e a área em processo de desertificação mais avançada do Ceará, de acordo com o Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE, 2016). Devido a essas características, optou-se por utilizar o solo desse cenário como modelo de estudo, visando o incremento de conhecimento sobre alternativas de recuperação para sua degradação.

#### **4.2 Obtenção e caracterização do biochar**

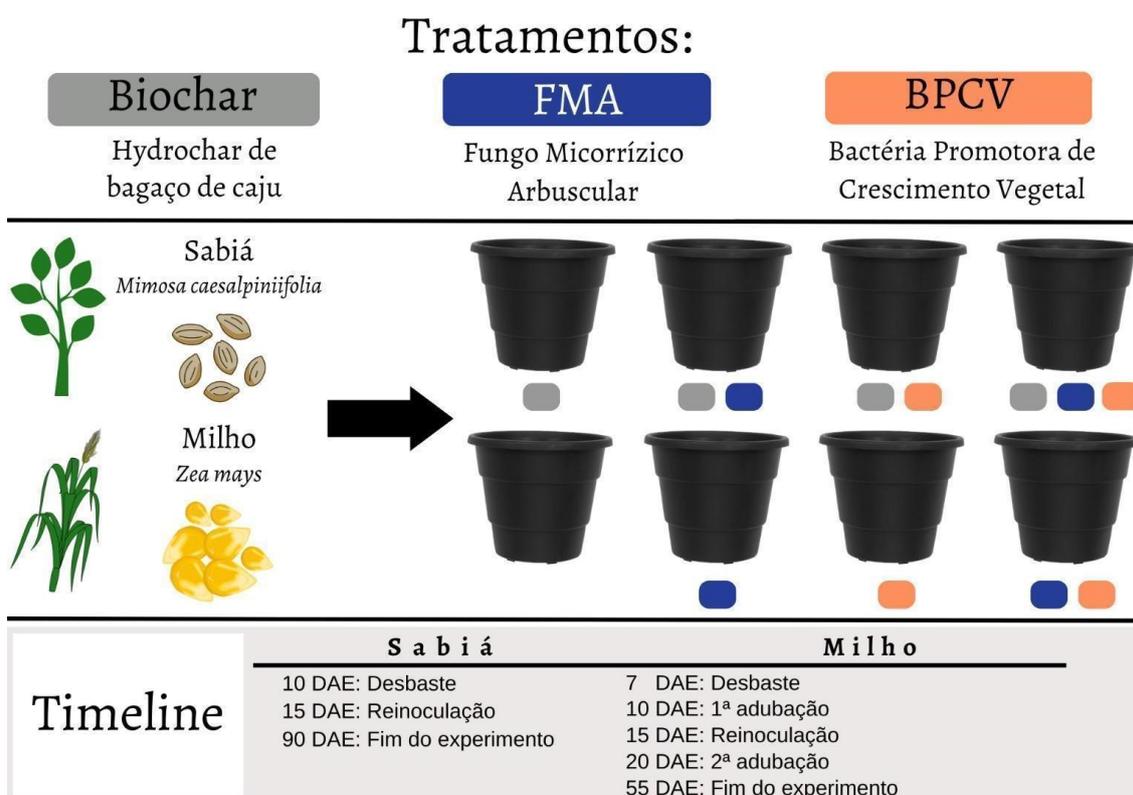
O material utilizado para fabricação do biochar foi o resíduo do pedúnculo do cajueiro. Essa escolha foi devido à produção de caju em larga escala no estado do Ceará, que em 2022 produziu 818.569 toneladas de pedúnculo de caju (MOURA, 2023), gerando uma quantidade considerável de bagaço após o processamento agroindustrial. Portanto, a proposta é promover um adequado tratamento desse resíduo sólido, tornando-o viável para o uso agrícola. Essa iniciativa encontra-se inserida dentro de uma ação conjunta de projetos temáticos no Programa Cientista-chefe em Agricultura, (Biocarvão de resíduo da cajucultura como condicionador de solos), coordenados pelos professores Dr. Claudivan Feitosa de Lacerda e Dr<sup>a</sup> Mirian Cristina Gomes Costa.

Foi utilizado carvão hidrotérmico obtido a partir de bagaço de caju carbonizado em reator de alta pressão, aquecido a temperatura aproximada de 207 °C, durante quatro horas. A caracterização química do material foi realizada a partir de digestão por via seca modificada (ENDERS e LEHMANN, 2012), com quantificação dos teores de Ca (0,2 g kg<sup>-1</sup>), Mg (0,4 g kg<sup>-1</sup>), Cu (0,02 g kg<sup>-1</sup>), Fe (0,45 g kg<sup>-1</sup>), Mn (0,005 g kg<sup>-1</sup>) e Zn (0,02 g kg<sup>-1</sup>) por espectrometria de absorção atômica, teores de Na (0,11 g kg<sup>-1</sup>) e K (1,5 g kg<sup>-1</sup>) por fotometria de chama, do teor de P (5,6 g kg<sup>-1</sup>) que foi quantificado por espectrofotometria, e do pH (5,7) por potenciometria, por meio de eletrodo imerso em suspensão do biochar em água deionizada, na proporção de 1:20. Além disso, a análise de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) constatou a presença de ligações correspondentes aos grupos químicos hidroxila, carbonila de ácidos carboxílicos, cetonas, quinonas ou ésteres, bem como bandas relacionadas à presença de anéis aromáticos. Análises espectrais mostraram que o biochar possuía uma área superficial de 35 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, volume de poros de 0,11 cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> e diâmetro médio de poros de 12,45 nm.

### 4.3 Instalação, condução e delineamento experimental

O experimento foi instalado em ambiente protegido pertencente à EMBRAPA Agroindústria Tropical, localizada na Universidade Federal do Ceará, *campus* Pici, Fortaleza-CE (3°44'58,7" S e 38°34'29,3" O). Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial duplo, sendo eles: (1) biochar e (2) inoculação de micro-organismos promotores de crescimento vegetal, com quatro repetições [(2x4)x4], totalizando 32 unidades experimentais (Figura 3). Plantas de Sabiá e Milho (cultivar BRS 5011 Sertanejo) foram utilizadas como modelo na montagem do experimento. Assim, um total de 64 unidades experimentais foram instaladas. Optou-se por testar plantas com aspectos fisiológicos distintos (Fabaceae e Poaceae), visto a importância ecológica e econômica, respectivamente, que ambas representam para o semiárido brasileiro.

Figura 3 - Tratamentos aplicados no solo nos experimentos com as culturas do sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) e milho (*Zea mays*).



Fonte: elaborado pelo autor.

O solo foi destorroado e tamisado em peneira com abertura de malha de 2 mm e distribuído 2,5 kg de solo em vasos com capacidade de 2,8 L. Foi realizada a caracterização química do solo (Tabela 1), conforme a metodologia de Teixeira et al. (2017), a fim de proceder à calagem e adubação de acordo com as recomendações de adubação e calagem para o Estado do Ceará (AQUINO et al., 1993). Foi realizada a análise granulométrica do solo, a fim de conhecer a classe textural (TEIXEIRA et al., 2017).

Tabela 1 - Caracterização química do solo do município de Irauçuba, Ceará, Brasil, na área em processo de desertificação, na camada de 0-10cm.

<b>pH</b>	<b>CE</b>	<b>Al<sup>3+</sup></b>	<b>H+Al</b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>SB</b>	<b>CTC</b>	
(H <sub>2</sub> O)	dS m <sup>-1</sup>	----- mmolc dm <sup>-3</sup> -----								
7,0	0,50	1,0	9,9	62,0	63,0	4,7	3,0	132,7	142,6	
<b>C</b>	<b>N</b>	<b>C/N</b>	<b>P</b>	<b>Fe</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Mn</b>	<b>V</b>	<b>m</b>	<b>PST</b>
---- g dm <sup>-3</sup> ----			----- mg dm <sup>-3</sup> -----				----- % -----			
3,54	0,37	10	137	117,38	2,26	2,68	89,96	93,06	0,70	3,29

Fonte: Elaborado pelo autor.

A classe textural do solo foi classificada como franco arenosa (63% de areia, 23% de silte e 14% de argila), e foi considerada uma densidade de 1,5 g cm<sup>-3</sup> para o cálculo da quantidade de biochar a ser aplicada nos vasos, os quais receberam uma dose única equivalente a 10 Mg ha<sup>-1</sup>, que foi misturada ao volume total do solo. A dose aplicada foi realizada com base em estudo com pastagens degradadas no Brasil (LATAWIEC et al., 2019).

#### 4.4 Inoculações dos micro-organismos

A inoculação com o fungo micorrízico arbuscular (FMA) foi realizada utilizando inóculo gentilmente cedido pelo do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD), da Embrapa Agrobiologia (Rio de Janeiro). Em cada vaso, foi aplicada uma dose do inóculo que apresentava cerca de 100 esporos viáveis de *Gigaspora margarita*, a qual foi depositada a 4 cm de profundidade, no dia da semeadura.

O fungo *G. margarita* caracteriza-se pelo grande porte dos seus esporos (260 - 480 µm). Sua escolha se deu pelo fato de ser uma espécie cosmopolita, com distribuição

generalizada, especialmente em solos arenosos e por estar associada às monocotiledôneas e eudicotiledoneas. Seu sucesso em colonizar raízes está associado à capacidade dos seus esporos germinarem múltiplas vezes e permanecerem viáveis durante anos no solo (BONFANTE, 2022), fato relevante para solos do bioma Caatinga, que sofre com longos períodos de estiagem.

Para a inoculação da bactéria promotora de crescimento vegetal (BPCV), as sementes foram desinfestadas por imersão em álcool etílico (70%), por 1 minuto e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 5% (v/v) por 5 minutos, e lavadas com água destilada e esterilizada. O produto comercial Auras®, à base de *Bacillus aryabhatai*, foi misturado com as sementes das culturas do milho e sabiá, por via líquida, na proporção de 4 mL para 150 sementes, na concentração de  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> e a semeadura foi realizada no mesmo dia. Posteriormente, foi realizada uma reinoculação, onde foi aplicado 1 mL do inoculante por vaso aos 15 dias após a emergência (DAE).

O *B. aryabhatai* é uma rizobactéria isolada da rizosfera de mandacaru (*Cereus jamacaru*), uma cactácea típica da Caatinga (KAVAMURA, 2012). Além de apresentar alta produção de exopolissacarídeos (EPS), o *B. aryabhatai* possui capacidade de promover o desenvolvimento da planta por diferentes mecanismos, como a síntese de auxinas, fixação de nitrogênio e outros. Essas características, aliado à falta de informação de sua interação com biocarvão, justificam a escolha do *B. aryabhatai* nos ensaios deste trabalho.

Cada vaso recebeu 4 sementes e, após a emergência, foi realizado o desbaste para manter apenas uma planta por vaso. Foi realizada uma adubação nitrogenada na cultura do milho, a fim de atender à exigência da cultura. Para isso, foram aplicadas duas doses de 10 g kg<sup>-1</sup> de N no solo aos 10 e 20 DAE, respectivamente, utilizando solução nutritiva de KNO<sub>3</sub> (1 M). A irrigação foi realizada diariamente até atingir 60% da capacidade de campo. O experimento foi conduzido até os 55 DAE para o milho e 90 DAE para o sabiá.

#### 4.5 Análises biométricas

Aos 55 DAE do milho e aos 90 DAE do sabiá, foram realizadas as análises biométricas da planta, sendo elas: contagem do número de folhas, altura da planta (cm) e diâmetro do caule (mm). Além disso, foram quantificadas as massas das matérias secas da parte aérea (MMSPA) e das raízes (MMSRA), utilizando estufa com circulação de ar forçada (60 °C) até o peso constante.

## 4.6 Análises do solo

### 4.6.1 Análises químicas

As amostras de solo foram secas ao ar e peneiradas em malha com abertura de 2 mm, para a obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). O pH foi aferido por potenciometria, por meio de eletrodo imerso em suspensão do solo em água e em  $\text{CaCl}_2$ , na proporção de 1:2,5. O carbono orgânico foi extraído em solução de dicromato de sódio e determinado por colorimetria, as concentrações de P e  $\text{K}^+$  foram extraídas em resina trocadora de íons, enquanto  $\text{H}^+/\text{Al}$  (acidez potencial) foi determinada pelo método do pH com tampão de SMP (Shoemaker, McLean e Pratt). Os elementos  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  foram extraídos em solução de  $\text{KCl}$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  e determinados por titulação (EDTA  $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ ). O nitrogênio (N) total do solo foi determinado pelo método de Kjeldahl, por destilação à vapor (RAIJ et al., 2001).

A soma das bases (SB) foi obtida pela soma dos valores de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{K}^+$ , a capacidade de troca catiônica (CTC) foi calculada pela soma de SB à acidez potencial, e a saturação por bases (V%) foi calculada pela fórmula:  $\text{SB} \times 100 / \text{CTC}$  (TEIXEIRA et al. 2017).

### 4.6.2 Análises enzimáticas

As amostras de solo foram refrigeradas a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  para determinação da atividade das enzimas envolvidas na ciclagem de nutrientes no solo, sendo elas:  $\beta$ -glicosidase (BETAGLU) (3.2.1.21), urease (URE) (EC 3.5.1.5) e fosfatase ácida (Pac) (EC 3.1.3), que participam do ciclo no carbono, nitrogênio e fósforo, respectivamente. As determinações das atividades enzimáticas foram baseadas na análise colorimétrica dos produtos liberados por cada enzima quando a amostra foi submetida a condições ideais de incubação com substrato adequado.

A atividade da  $\beta$ -glicosidase foi medida usando metodologia baseada em “Methods of Soil Analysis” (1994). Amostras de 1 g de solo foram depositadas em tubos Falcon (50 mL), sendo adicionados 4 mL de MUB (pH = 6,0) e 1 mL de solução de *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glicosídeo (PNG: 0,05 M) (com exceção dos controles). Posteriormente, os tubos foram agitados e levados para o banho maria a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 hora. Após a incubação, foram adicionados 1 mL de solução de  $\text{CaCl}_2$  (0,5 M) e 4 mL de THAM (0,1 M, pH = 12) em todas as amostras, e nas amostras controle e 1 mL da solução de PNG

(0,05 M). As amostras foram filtradas em papel de filtro Whatman nº 2, e a atividade foi determinada pela quantificação do  $\rho$ -nitrofenol liberado na incubação, que foi medido em espectrofotômetro em absorvância a 410 nm.

Para determinar a atividade da fosfatase ácida, amostras de 1 g de solo foram depositadas em tubos Falcon (50 mL), e foi adicionado 4 mL de MUB (pH = 6,5) e 1 mL da solução  $\rho$ -nitrofenil fosfato (PNP: 0,05 M), e levadas ao banho maria a 37° C por 1 hora. Em seguida foi adicionado 1 mL da solução de  $\text{CaCl}_2$  (0,5M) e 4 mL de NaOH (0,5M) e 1 mL da solução de PNP (0,05 M) apenas nos controles. A suspensão foi então filtrada em filtro de papel Whatman nº 2 e a atividade foi determinada pela quantificação do  $\rho$ -nitrofenol liberado na incubação, que foi medido em espectrofotômetro em absorvância a 420 nm (EIVAZI; TABATABAI, 1977).

Para a determinação da atividade da urease, 5 g de solo foram acrescidas de 2,5 mL de solução de ureia (5 mL de água nas amostras controle) e 20 mL do tampão borato (pH = 10), agitadas e levadas ao banho maria a 37° C por 2 horas. Após a incubação, foi adicionado 30 mL de KCl acidificado (1 M) para extração do amônio gerado na reação e 2,5 mL da solução de ureia nas amostras controle. As amostras foram agitadas por 30 minutos em mesa agitadora a 150 rpm. A suspensão foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 2 e foi retirada uma alíquota de 1 mL desse extrato, a qual foi pipetada em recipientes contendo 9 mL de água destilada, adicionando-se posteriormente 5 mL da solução de salicilato de sódio (1,06 M) / hidróxido de sódio (0,3 M) e 2 mL da solução de dicloroisocianurato de sódio (0,1%). Após 1 hora de repouso, o  $\text{NH}_4^+$  extraído foi determinado em espectrofotômetro em absorvância a 690 nm (KANDELER; GERBER, 1988).

Foi estimada a estequiometria da atividade enzimática de acordo com o método vetorial proposto por Moorhead et al. (2016), utilizando as seguintes fórmulas: vetor L (comprimento) =  $\sqrt{X^2 + Y^2}$ , vetor A (ângulo) =  $[\text{Atan2}(X, Y)]$ , onde:  $X = \frac{\text{Enzima C}}{\text{Enzima C} + \text{Enzima P}}$  e  $Y = \frac{\text{Enzima C}}{\text{Enzima C} + \text{Enzima N}}$ . A análise vetorial das relações estequiométricas revela as demandas relativas de nutrientes pelos micro-organismos, sendo o comprimento relacionado à limitação de C *versus* N e P, e o ângulo, à limitação de P *versus* N (MOORHEAD et al., 2016).

#### 4.6.3 Sequenciamento do gene 16S rRNA

O sequenciamento do gene 16S rRNA foi realizado apenas para o experimento com *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth (Sabiá). O DNA total do solo foi extraído a partir de 0,5 g de solo utilizando o kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen, CA, EUA) e armazenado a -20 °C, seguindo as instruções do fabricante. A qualidade do DNA foi verificada por meio de espectrofotometria (Nanodrop ND-1000). A região V4 do gene 16S rRNA foi amplificada usando o 2X Kapa HiFi HotStart Ready Mix (Roche, Pleasanton, CA, EUA) e o conjunto de *primers* 515F-Y (5' -GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GGGACTACHVHHHTWTCTAAT-3'), de acordo com o seguinte programa: 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos a 98 °C por 20 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 30 s e 72 °C por 5 min.

A segunda PCR, para inserção dos *indexes*, foi realizada com o kit Nextera XT v2 set A (Illumina, San Diego, CA, EUA). Os produtos de PCR foram purificados com as esferas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA) e quantificados pelo fluorômetro Qubit com o kit dsDNA BR Assay (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). As bibliotecas foram sequenciadas em pares usando o kit Illumina NextSeq Reagent Kit v2 (300-ciclos, 2 × 150 bp) (Illumina) no Centro de Genômica e Bioinformática (CeGenBio) da Universidade Federal do Ceará, Brasil (website: <https://cegenbio.ufc.br>).

#### 4.6.4 Análises de bioinformática

As sequências brutas foram analisadas com o auxílio do QIIME 2 (*Quantitative Insight Into Microbial Ecology*), seguindo o *pipeline* “Moving Pictures” tutorial (v. 2023.5) presente no site: <https://docs.qiime2.org/2023.5> (BOLYEN et al., 2019). A qualidade (*denoise*) das sequências demultiplexadas foi verificada por meio do *pipeline* do DADA2 (CALLAHAN et al., 2016). As amostras foram agrupadas em ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) e a atribuição de taxonomia foi realizada por meio do banco de dados do SILVA (v. 138) (QUAST et al., 2013). A diversidade beta foi estimada por meio do algoritmo de Bray-curtis e os dados foram plotados em uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA). As diferenças entre grupos foram testadas por meio de uma análise de PERMANOVA. A diversidade alfa foi expressa por meio dos índices de diversidade de Shannon e por meio da riqueza de ASVs. As diferenças entre tratamentos

(com e sem biochar), assim como as inoculações, foram analisadas por meio do teste Kruskal-Wallis (pairwise) a 5% de significância.

#### **4.7 Análise estatística**

Os resultados dos parâmetros de crescimento das plantas, da química do solo e atividade enzimática foram submetidos a uma análise de variância, por meio do teste  $F$  ( $p \leq 0,05$ ). Quando observado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando-se o software estatístico Assistat (versão 7.7) (SILVA; AZEVEDO, 2016).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Experimento 1 - *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth

#### 5.1.1 Biometria e biomassa

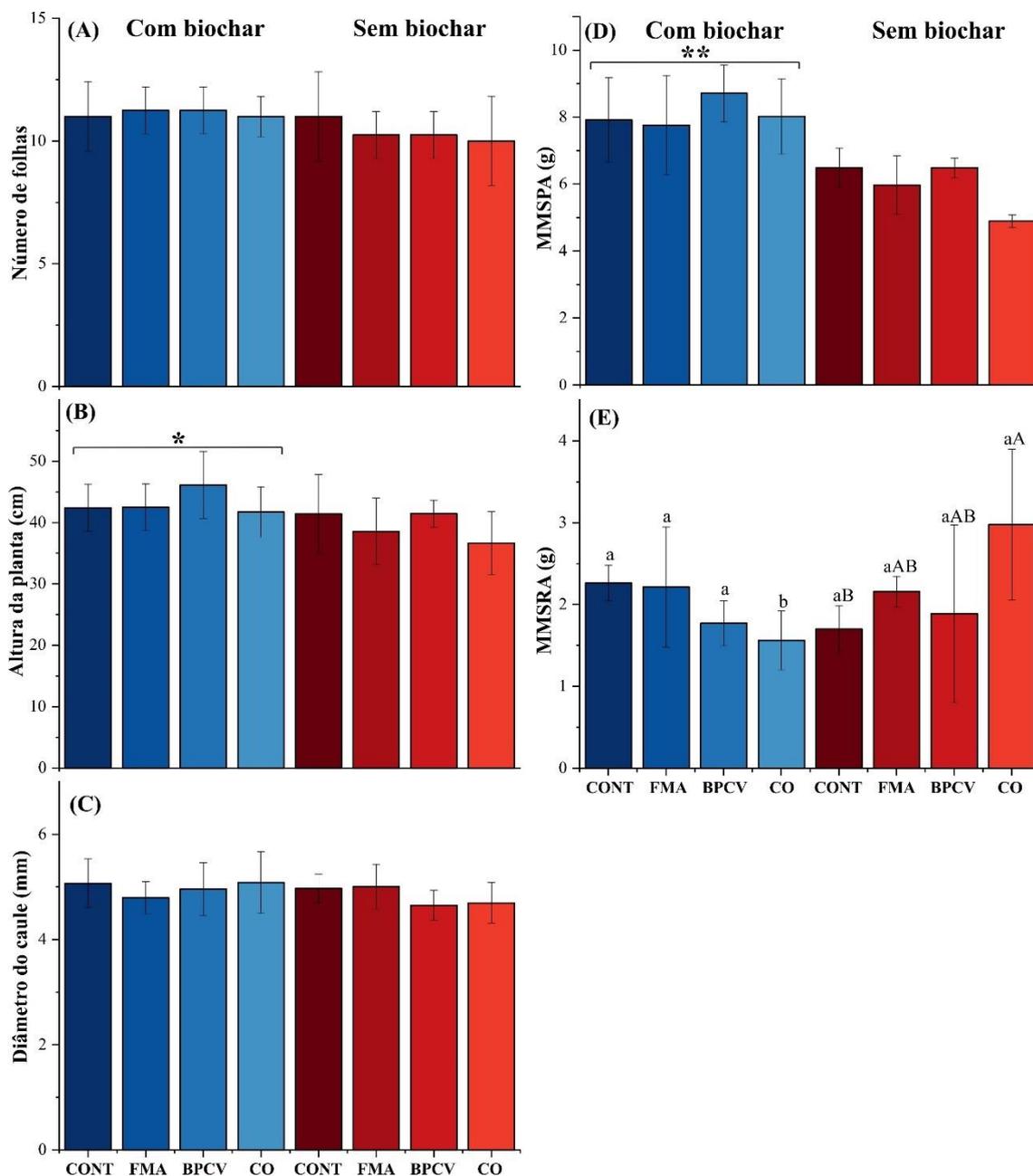
A aplicação de biochar no solo promoveu aumento na altura e na massa da matéria seca da parte aérea das plantas de sabiá, independentemente do tratamento adotado (com ou sem inoculação) (Figuras 4 e 5 B e D). A massa da matéria seca das raízes foi maior no tratamento com a co-inoculação na ausência do biochar (Figura 5 E). Por outro lado, o número de folhas e o diâmetro do caule não sofreu influência da adição de biochar ou da inoculação com micro-organismos promotores do crescimento (Figuras 5 A e C).

Figura 4 - Plantas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) cultivadas em solo em processo de desertificação e submetidas aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Própria.

Figura 5 – Análise biométrica de plantas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) cultivadas em solo em processo de desertificação e submetidas aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor. (A) Número de folhas, (B) altura da planta (cm), (C) diâmetro do caule (mm), (D) massa da matéria seca da parte aérea (g), (E) massa da matéria seca das raízes (g). CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### 5.1.2 Química do solo

O pH do solo foi reduzido pela adição de biochar, independentemente dos tratamentos com inoculação (Tabela 2). Os teores de carbono (C), nitrogênio (N) e a acidez potencial (H+Al) foram significativamente maiores nos tratamentos com biochar. O fósforo (P) disponível foi maior nos tratamentos com inoculantes, independente da aplicação de biochar. O teor de potássio (K<sup>+</sup>) foi maior nos tratamentos com biochar.

Tabela 2 - Atributos químicos do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.

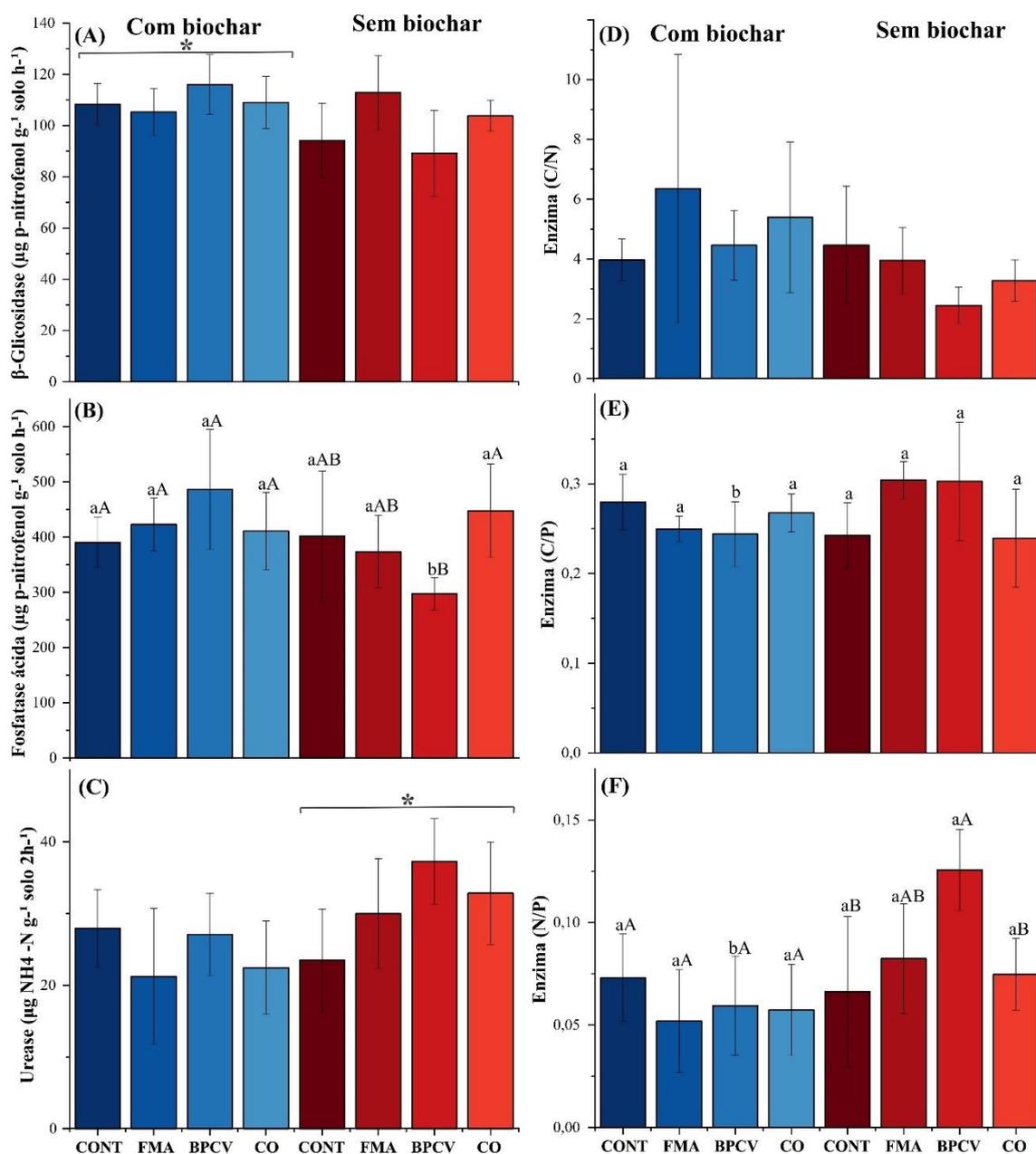
		COM BIOCHAR				SEM BIOCHAR			
		CONT	FMA	BPCV	CO	CONT	FMA	BPCV	CO
<b>pH</b>	H <sub>2</sub> O	6,33	6,50	6,50	6,53 *	6,65	6,73	6,75	6,50
<b>pH</b>	CaCl <sub>2</sub>	6,53	6,37	6,53	6,67 **	6,67	6,83	6,87	6,63
<b>C</b>	g dm <sup>-3</sup>	5,84	6,36	6,25	5,74 **	3,38	3,54	4,52	4,68
<b>N</b>	g dm <sup>-3</sup>	0,50	0,57	0,53	0,47 **	0,30	0,33	0,40	0,40
<b>C/N</b>	-	12	11	12	12	11	11	11	12
<b>P</b>	g dm <sup>-3</sup>	21,30	20,67	31,90	23,90	17,33	31,00	26,80	19,33
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	99,60	90,13	86,53	121,07	89,17	93,40	94,97	107,13
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	83,17	88,43	92,57	85,83	91,93	96,30	95,47	82,97
<b>K<sup>+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	2,10	2,10	1,60	1,57 *	1,63	1,70	1,30	1,70
<b>H+Al</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	11,10	10,57	10,73	10,43 **	10,20	9,63	10,10	9,87
<b>SB</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	184,87	180,67	180,70	208,47	182,73	191,40	191,73	191,80
<b>CTC</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	195,97	191,23	191,43	218,90	192,93	201,03	201,83	201,67
<b>V</b>	%	94,33	94,33	94,33	95,00	94,67	95,33	94,67	95,33

Fonte: Elaborado pelo autor. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### ***5.1.3 Atividade enzimática***

A aplicação de biochar ao solo aumentou a atividade da  $\beta$ -glicosidase, independentemente da inoculação (Figura 6 A). A atividade da fosfatase ácida foi maior em todos os tratamentos com biochar e no tratamento apenas com a co-inoculação (Figura 6 B). A atividade da urease foi maior nos tratamentos sem biochar, independente das inoculações (Figura 6 C). Não houve diferença significativa na relação entre  $\beta$ -glicosidase/urease (Figura 6 D), bem como na relação entre  $\beta$ -glicosidase/fosfatase (Figura 6 E), sofrendo apenas um declínio no tratamento de BPCV com biochar. A relação urease/fosfatase ácida foi maior sob o tratamento de BPCV sem aplicação de biochar (Figura 6 F).

Figura 6 – Atividade enzimática do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor. (A) Atividade enzimática da  $\beta$ -glicosidase ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ ), (B) atividade enzimática da fosfatase ácida ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ ), (C) atividade enzimática da urease ( $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ solo } 2\text{h}^{-1}$ ), (D) relação estequiométrica das enzimas  $\beta$ -glicosidase e urease, (E) relação estequiométrica das enzimas  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida, (F) relação estequiométrica das enzimas urease e fosfatase ácida. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ).

A aplicação de biochar ao solo, cultivado com sabiá, aumentou ambos os vetores das relações estequiométricas da atividade enzimática (comprimento e ângulo vetorial), independente das inoculações (Tabela 3).

Tabela 3 - Vetores da relação estequiométrica das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e urease do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.

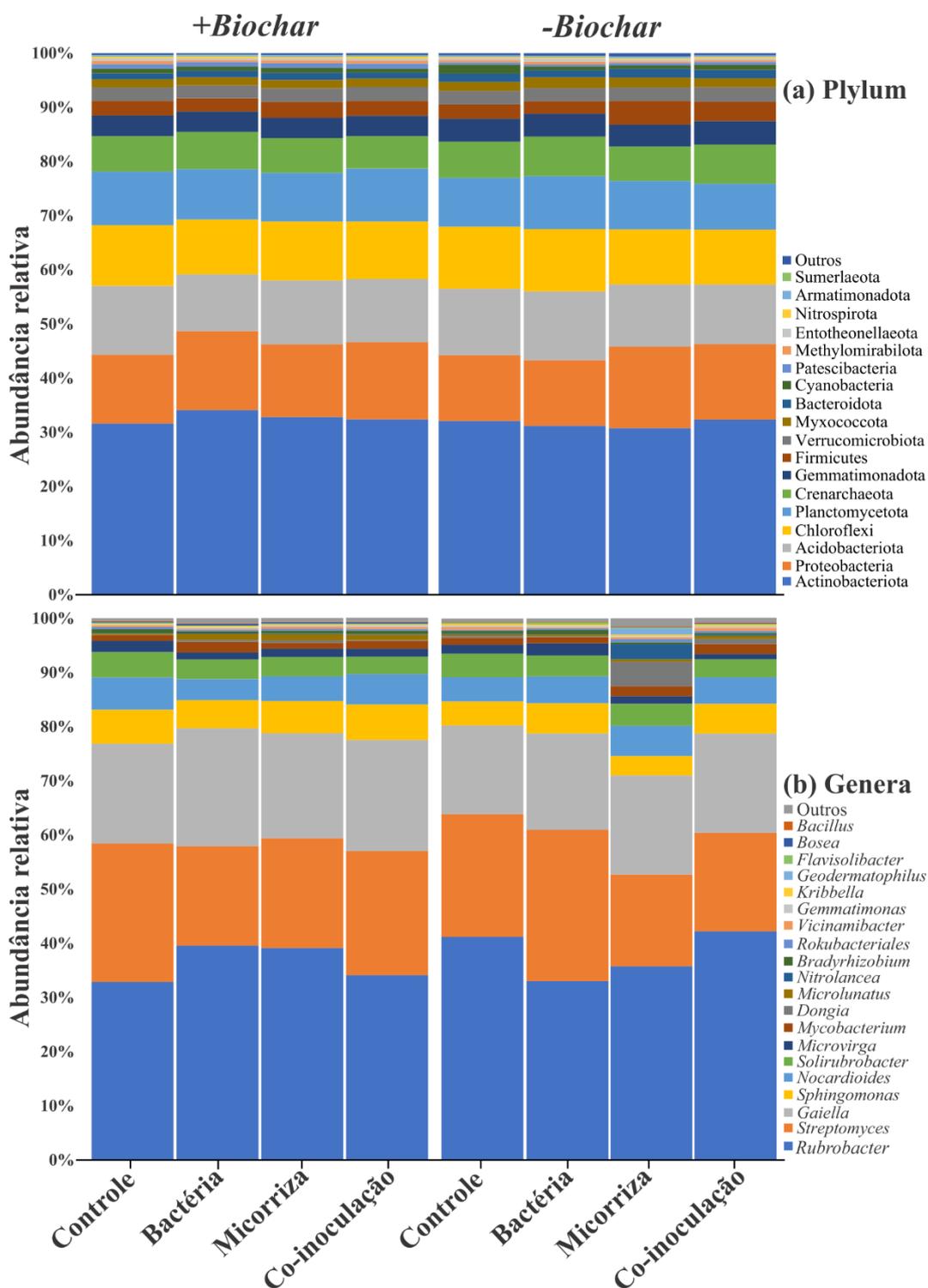
	COM BIOCHAR				SEM BIOCHAR			
	CONT	FMA	BPCV	CO	CONT	FMA	BPCV	CO
<b>VETOR L</b> (comprimento)	0,73	0,75	0,73	0,75 *	0,73	0,73	0,71	0,72
<b>VETOR A</b> (ângulo)	1,06	1,10	1,07	1,09 *	1,08	1,05	1,01	1,05

Fonte: Elaborado pelo autor. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ).

#### 5.1.4 Sequenciamento do gene 16S rRNA

Os filos mais abundantes foram Actinobacteria (30%), Proteobacteria (10%), Acidobacteria (10%), Chloroflexi (7%), Planctomycetota (7%), Crenarchaeota (5%) e Gemmatimonadota (3%), sem diferir entre os tratamentos (Figura 7a). Quanto aos gêneros, os mais abundantes foram *Rubrobacter*, *Streptomyces*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, *Nocardioides*, *Solirubrobacter*, *Microvirga*, *Mycobacterium*, *Dongia*, *Nitrolancea* e *Geodermatophilus*. O gênero *Bradyrhizobium* foi mais expressivo nos tratamentos com biochar, principalmente no tratamento controle (Figura 7b).

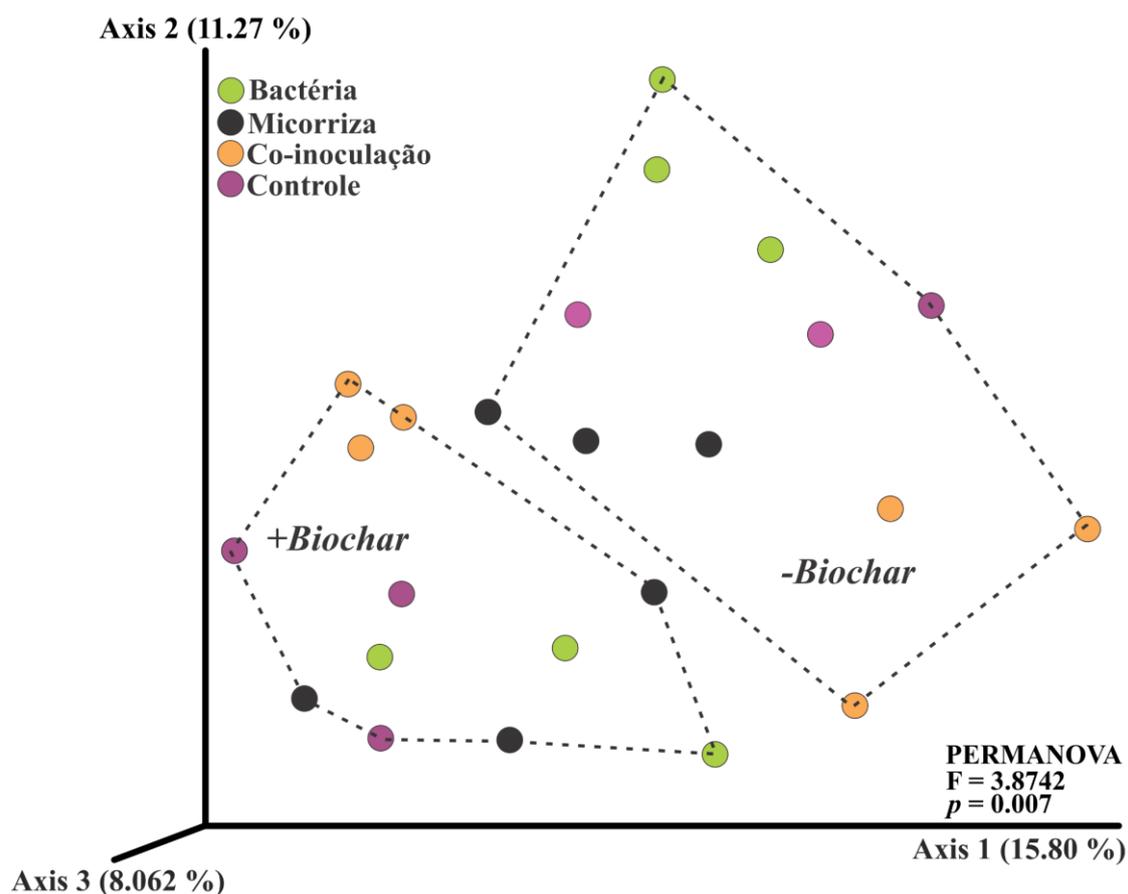
Figura 7 – Abundância relativa das comunidades procarióticas do solo em processo de desertificação, a nível de filo (a) e gênero (b), cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A aplicação de biochar alterou significativamente a estrutura das comunidades procarióticas do solo (Figura 8). Os tratamentos com aplicação de biochar formaram um grupo significativamente diferente dos tratamentos com ausência de biochar (PERMANOVA,  $F = 3.8742$  e  $p = 0,007$ ). Os tratamentos com co-inoculação apresentaram grupos mais separados dos outros tratamentos, independentemente da adição de biochar. Contudo, na ausência de biochar, todos os tratamentos, incluindo o tratamento controle, apresentaram grupos microbianos mais bem discriminados, enquanto os tratamentos com aplicação de biochar tiveram uma distribuição mais aleatória.

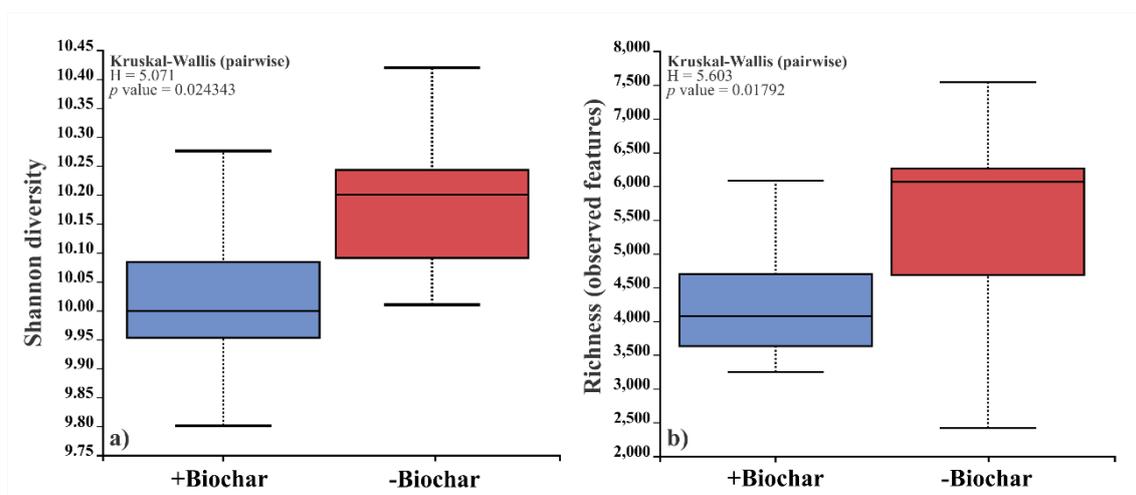
Figura 8 – Análise de Coordenadas Principais (PCoA) da comunidade microbiana do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Globalmente, ao avaliarmos os tratamentos agrupados segundo o fator presença ou ausência de biochar, a aplicação de biochar reduziu significativamente a riqueza de espécies procarióticas (número de ASVs) no solo (Kruskal-Wallis,  $H = 5.071$  e  $p = 0.024343$ ), bem como reduziu significativamente a diversidade de espécies procarióticas (índice de Shannon) no solo (Kruskal-Wallis,  $H = 5.603$  e  $p = 0.01792$ ) (Figura 9).

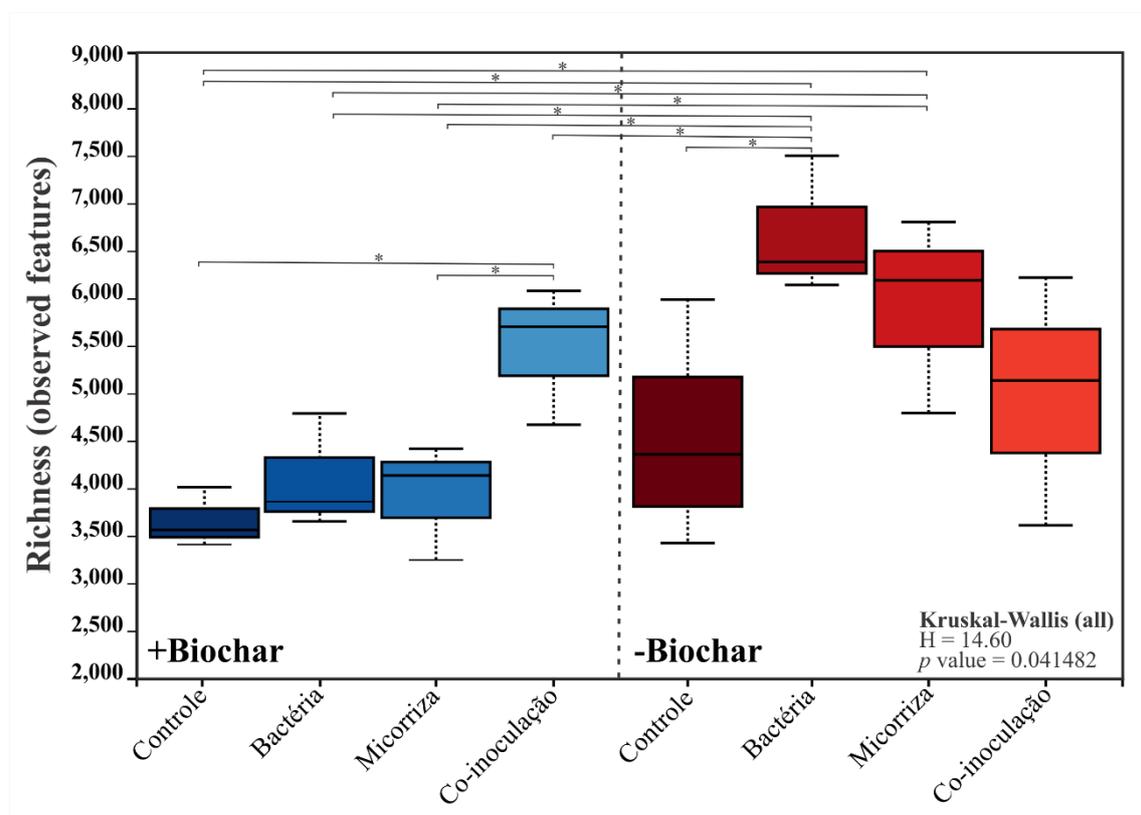
Figura 9 – Índice de diversidade de Shannon e riqueza microbiana do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na análise de desdobramento verifica-se o mesmo padrão, a adição de biochar reduziu significativamente a riqueza de espécies procarióticas (número de ASVs) no solo (Kruskal-Wallis,  $H = 14.60$  e  $p = 0.041482$ ), principalmente os tratamentos com bactéria e FMA (Figura 10). Contudo, mesmo na presença de biochar, o tratamento com co-inoculação apresentou maior riqueza que espécies, principalmente em relação ao controle (sem inoculação) e a inoculação de FMA.

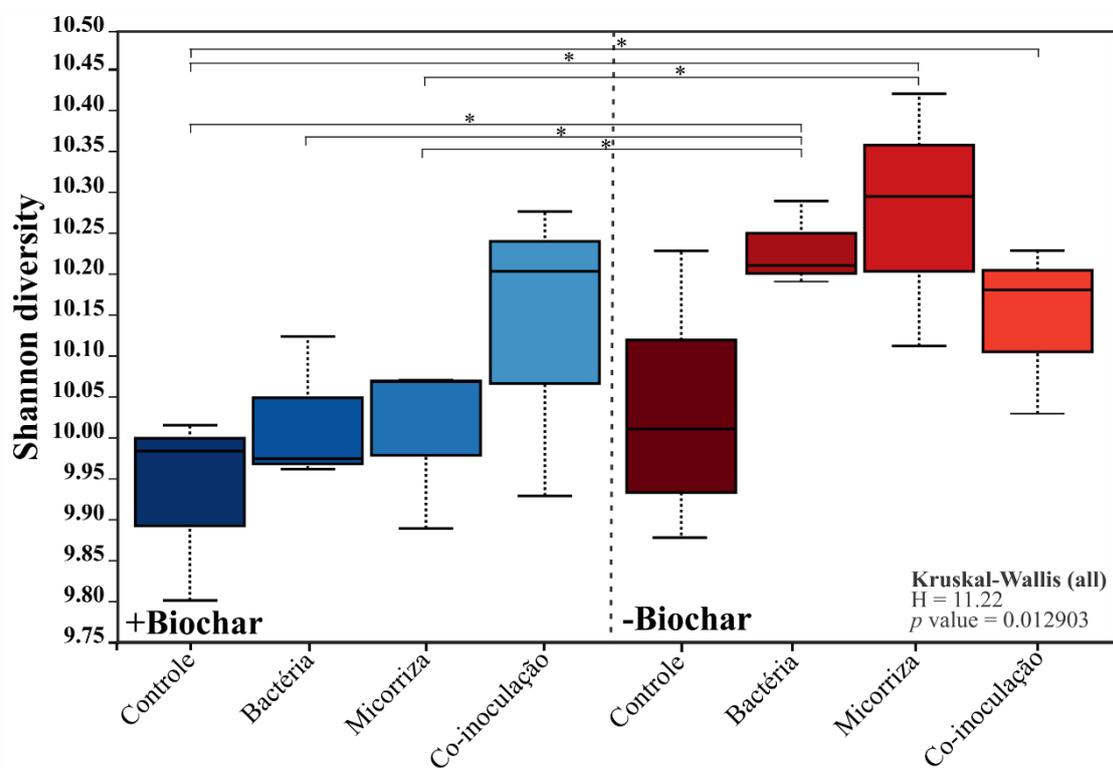
Figura 10 – Riqueza microbiana do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Desdobrando-se os tratamentos, constata-se que a aplicação de biochar reduziu significativamente a diversidade de espécies procarióticas (índice de Shannon) no solo (Kruskal-Wallis,  $H = 11.22$  e  $p = 0.012903$ ). Não houve diferenças significativas na diversidade microbiana entre tratamentos com inoculação quando houve a aplicação de biochar. Porém, os tratamentos sem adição de biochar apresentaram maiores índices de diversidade, principalmente com a utilização de bactérias, FMA ou sua co-inoculação (Figura 11).

Figura 11 – Índice de diversidade de Shannon do solo em processo de desertificação cultivado com o sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



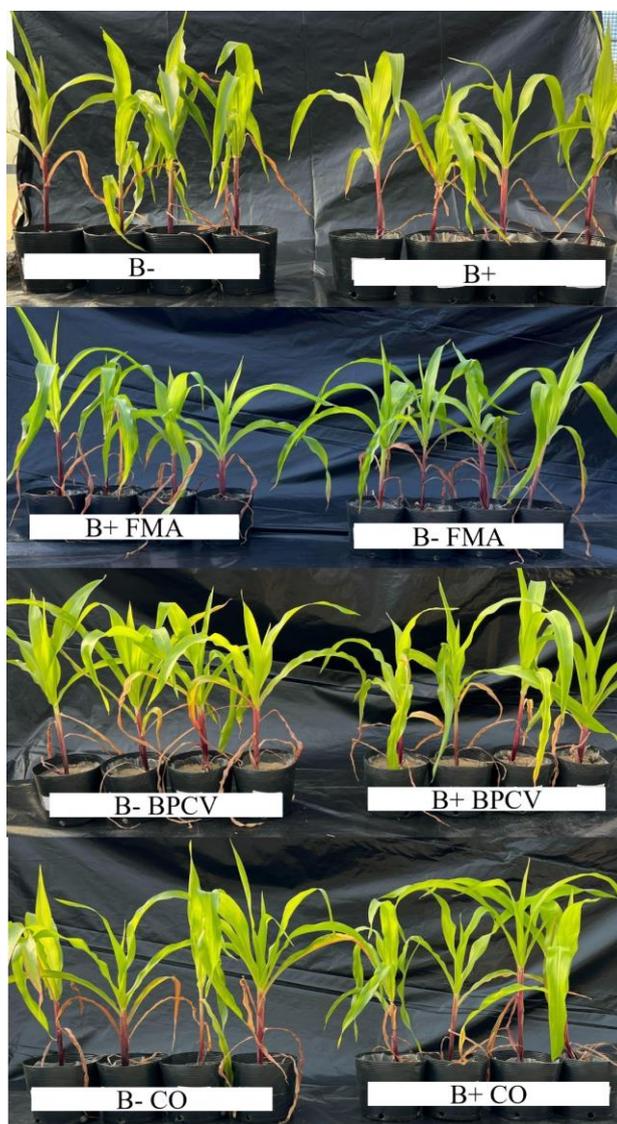
Fonte: Elaborado pelo autor.

## 5.2 Experimento 2 - *Zea mays*

### 5.2.1 Biometria e biomassa

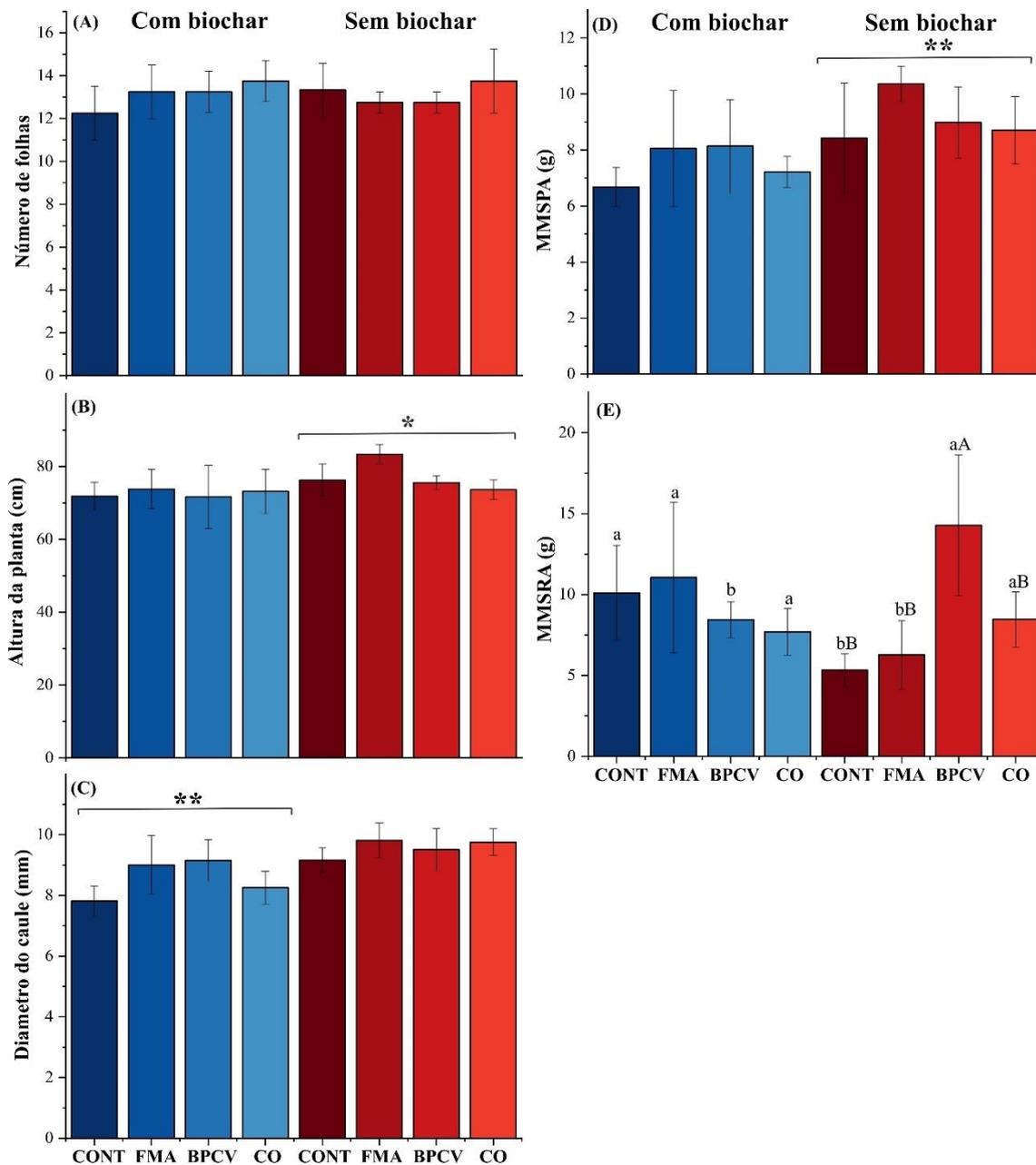
Os tratamentos sem biochar promoveram maior altura e acúmulo da massa da matéria seca da parte aérea das plantas de milho (Figuras 12 e 13 B e D). O diâmetro do caule (Figura 13 C) foi maior nos tratamentos com biochar e a massa da matéria seca das raízes foi maior nos tratamentos CONT e FMA com biochar, e com a BPCV sem aplicação de biochar (Figura 13 E). O número de folhas não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 13 A).

Figura 12 – Plantas de milho (*Zea mays*) cultivadas em solo em processo de desertificação e submetidas aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Própria.

Figura 13 – Análise biométrica das plantas de milho (*Zea mays*) cultivadas em solo em processo de desertificação e submetidas aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor. (A) Número de folhas, (B) altura da planta (cm), (C) diâmetro do caule (mm), (D) massa da matéria seca da parte aérea (g), (E) massa da matéria seca das raízes (g). CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### 5.2.2 Química do solo

A aplicação do biochar reduziu o pH do solo e aumentou o teor de carbono (C) acidez potencial (H+Al) e soma de bases (SB), independentemente dos tratamentos com inoculação (Tabela 4). O teor de nitrogênio (N) e a saturação por bases (V%) não foram afetados significativamente. O teor de fósforo (P) foi maior sem a adição de biochar, independente das inoculações. Os teores de cálcio (Ca<sup>2+</sup>), magnésio (Mg<sup>2+</sup>) e a CTC foram maiores nos tratamentos CONT e CO com biochar. O teor de potássio (K<sup>+</sup>) foi maior nos tratamentos com adição de biochar, exceto quando combinado com o FMA.

Tabela 4 - Atributos químicos do solo em processo de desertificação cultivado com o milho (*Zea mays*) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.

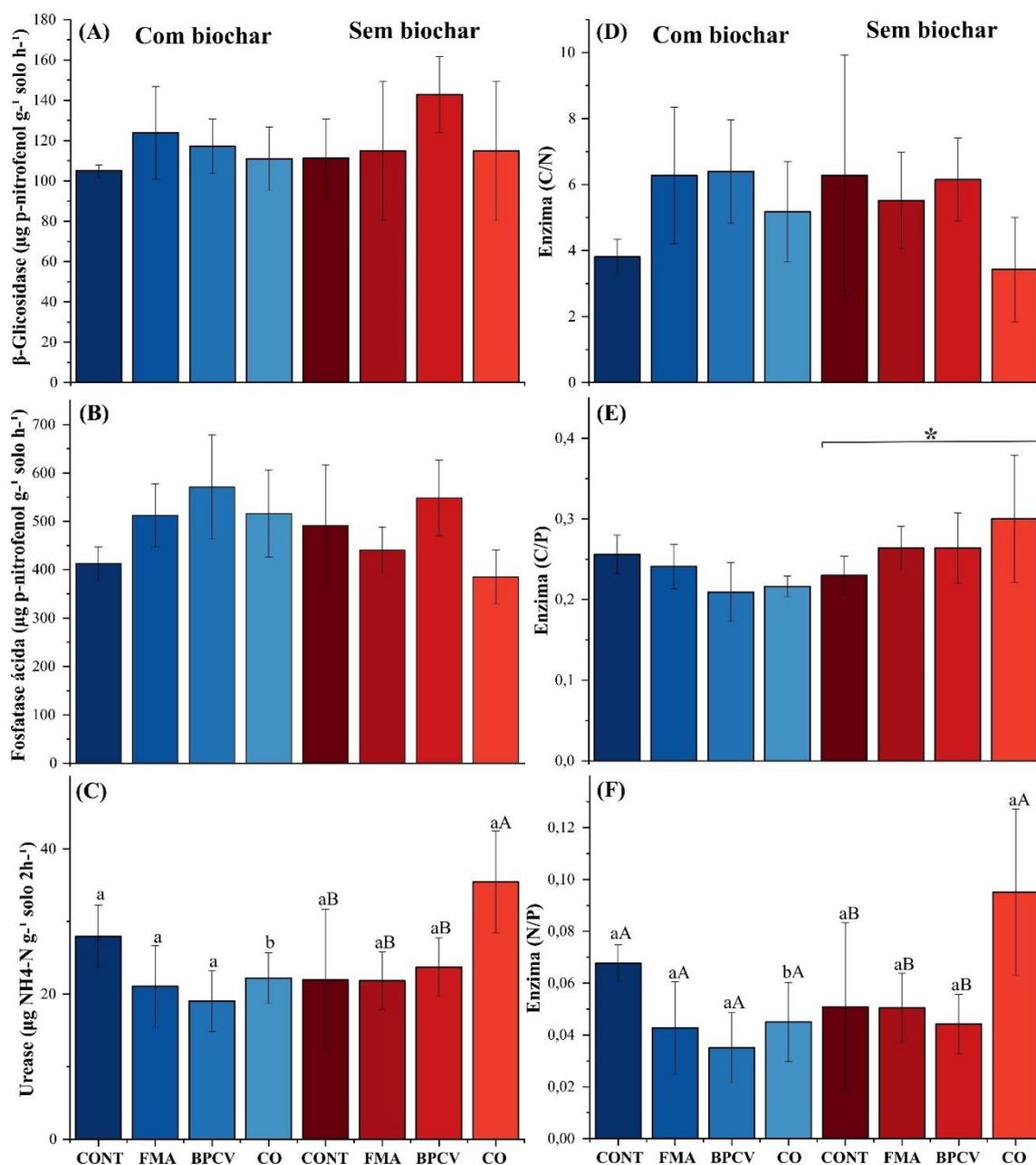
		COM BIOCHAR				SEM BIOCHAR				
		CONT	FMA	BPCV	CO	CONT	FMA	BPCV	CO	
<b>pH</b>	H <sub>2</sub> O	6,55	6,80	6,68	6,63	**	6,80	6,80	6,80	6,80
<b>pH</b>	CaCl <sub>2</sub>	6,57	6,37	6,30	6,67		6,57	6,50	6,43	6,47
<b>C</b>	g dm <sup>-3</sup>	6,71	7,19	7,29	6,83	**	4,99	4,99	5,24	4,62
<b>N</b>	g dm <sup>-3</sup>	0,57	0,63	0,60	0,57		0,43	0,43	0,47	0,40
<b>C/N</b>	-	12	11	12	12		12	12	11	12
<b>P</b>	g dm <sup>-3</sup>	20,60	20,77	28,83	31,47		28,43	31,80	48,87	27,70 *
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	123,03aA	89,27aBC	73,70aC	101,07aAB		82,37bA	78,17aA	69,17aA	73,77bA
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	92,17aAB	72,40aB	72,87aB	104,97aA		88,90aA	87,33aA	77,23aA	81,83bA
<b>K<sup>+</sup></b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	1,87aAB	1,57bB	1,73aAB	2,30aA		2,07aA	2,07aA	1,67aA	1,77bA
<b>H+Al</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	10,23	11,30	11,43	10,40	**	10,07	10,10	10,57	9,67
<b>SB</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	217,07	163,23	148,30	208,33	*	173,33	167,57	148,07	157,37
<b>CTC</b>	mmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	227,30aA	174,53aBC	159,73aC	218,73aAB		183,40bA	177,67aA	158,63aA	167,03bA
<b>V</b>	%	95,33	95,33	92,67	95,33		94,33	94,33	93,00	94,33

Fonte: Elaborado pelo autor. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $0,01 \leq p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

### **5.2.3 Atividade enzimática**

A atividade enzimática da  $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida não diferiram significativamente entre os tratamentos (Figuras 14 A e B). Porém, a atividade da urease foi superior no tratamento de co-inoculação, sem aplicação de biochar (Figura 14 C). Não houve diferença significativa na relação entre  $\beta$ -glicosidase/urease (Figura 14 D), já a relação entre  $\beta$ -glicosidase/fosfatase ácida foi maior nos tratamentos sem a adição de biochar, independente das inoculações (Figura 14 E). A relação entre urease/fosfatase ácida foi maior no tratamento CO sem aplicação de biochar (Figura 14 F).

Figura 14 – Atividade enzimática do solo em processo de desertificação cultivado com o milho (*Zea mays*) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.



Fonte: Elaborado pelo autor. (A) Atividade enzimática da β-glicosidase (μg p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>), (B) atividade enzimática da fosfatase ácida (μg p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>), (C) atividade enzimática da urease (μg N-NH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> solo 2h<sup>-1</sup>), (D) relação estequiométrica das enzimas β-glicosidase e urease, (E) relação estequiométrica das enzimas β-glicosidase e fosfatase ácida, (F) relação estequiométrica das enzimas urease e fosfatase ácida. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo. \*Significativo ao nível de 5% de probabilidade (0,01 ≤ p ≤ 0,05).

A aplicação de biochar no solo não interferiu no comprimento do vetor, enquanto o ângulo do vetor foi menor apenas no tratamento de co-inoculação sem biochar (Tabela 5).

Tabela 5 - Vetores da relação estequiométrica das enzimas  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida e urease do solo em processo de desertificação cultivado com o milho (*Zea mays*) e submetido aos tratamentos de biochar e inoculantes.

	COM BIOCHAR				SEM BIOCHAR			
	CONT	FMA	BPCV	CO	CONT	FMA	BPCV	CO
<b>VETOR L</b> (comprimento)	0,73	0,75	0,75	0,74	0,75	0,75	0,75	0,72
<b>VETOR A</b> (ângulo)	1,06a	1,10a	1,12a	1,10a	1,10aA	1,09aAB	1,09aAB	1,03bB

Fonte: Elaborada pelo autor. CONT: Controle, FMA: *Gigaspora margarita*, BPCV: *Bacillus aryabhatai*, CO: co-inoculação. As letras minúsculas comparam os tratamentos entre manejos (com e sem biochar) e as letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada manejo.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Biochar e o crescimento de plantas e química do solo

O biochar tem sido amplamente utilizado na melhoria de atributos químicos, físicos e biológicos do solo. Porém, não temos informações robustas de como a aplicação de biochar hidrotérmico de bagaço de caju pode influenciar a atividade biológica de solos em processo de degradação no bioma Caatinga. Assim, este trabalho hipotetizou que a aplicação do biochar aumenta a diversidade e a atividade microbiana de solos degradados na Caatinga e que esse efeito é potencializado por meio da inoculação com organismos promotores do crescimento de plantas (bactérias e fungos). A hipótese inicial foi parcialmente rejeitada, visto que a adição de biochar pode reduzir a diversidade microbiana do solo em condições específicas.

As propriedades de cada biochar variam de acordo a matéria prima e a forma de produção, ou seja, pirólise ou carbonização hidrotérmica, incluindo outras variáveis como o tempo e temperatura utilizadas. Quando se opta pela via hidrotérmica, geralmente utiliza-se temperatura e tempo de residência mais baixos (de 180 °C a 240 °C por até 4h). Assim, ao comparar com o biocarvão pirolítico (TOMCZYK, SOKOŁOWSKA e BOGUTA, 2020), o hidrotérmico possui um caráter mais ácido, por formar ácidos orgânicos durante o processo em meio aquoso, além de compostos carboxílicos, hidroxílicos, fenólicos e outros, o que pode lhe conferir maior acidez (MASOUMI et al., 2021).

O biochar, combinado com as inoculações, aumentou a altura das plantas e a massa da matéria seca da parte aérea do sabiá. Em contrapartida, a aplicação de biochar no solo cultivado com milho, aumentou apenas a massa da matéria seca das raízes, que também foi aumentada pela inoculação do *Bacillus aryabhattai*. Essas respostas podem ser explicadas devido às alterações que o biochar promoveu em alguns componentes químicos do solo. O pH do solo foi reduzido, o que era esperado, visto que o solo possuía pH neutro e o biochar utilizado, ácido. Assim, a utilização do biochar hidrotérmico, com caráter ácido, pode não ser uma estratégia interessante para recuperação de solos degradados, visto que o pH do solo é um dos principais fatores moduladores do crescimento de plantas.

A aplicação de biochar aumentou os teores de alguns nutrientes no solo. Aumentos nos teores de C e N são relevantes para a reprodução de micro-organismos,

pois participam da formação de macromoléculas (e.g., DNA, RNA, outras) (BURGIN et al., 2011). Ressalta-se também o aumento no teor de potássio, que é o segundo nutriente mais absorvido pelas plantas e atua na regulação osmótica e na ativação de mais de 60 enzimas (sintetases, oxirredutases, desidrogenases, transferases etc.) (ALVES et al., 2021).

O aumento no teor de P disponível no solo foi relacionado aos tratamentos apenas com as inoculações. Esse nutriente está envolvido em diversas funções bioquímicas das plantas, como armazenamento de energia, fotossíntese, respiração, glicólise, ativação enzimática, composição de ácidos nucleicos etc. (MADRID-DELGADO et al., 2021). A simbiose micorrízica desempenha um papel importante na aquisição de fósforo. As hifas externas dos fungos atuam como extensões do sistema radicular, explorando maior volume de solo, o que geralmente aumenta a disponibilidade de P para as plantas (MADRID-DELGADO et al., 2021).

A inoculação de *Bacillus aryabhatai* também pode ter contribuído para o aumento no teor de P do solo. Esse gênero bacteriano tem a capacidade de solubilizar o P, através da liberação de ácidos orgânicos. Estudos demonstram que a inoculação do *B. aryabhatai* aumentou a solubilização de P e promoveu o um maior crescimento e valor nutricional de plantas de milho e feijão (AHMAD et al., 2019).

A melhoria na química do solo pode estar associada às propriedades do biochar, como sua área de superfície, diâmetro e volume total de poros, que lhe confere a capacidade de retenção de nutrientes, que posteriormente poderão ser disponibilizados na solução do solo (WEBER e QUICKER, 2018).

Uma revisão demonstrou que comumente temperaturas de pirólise moderadas (400 a 700 °C) são as mais adequadas para o desenvolvimento de microporos no biochar, e que globalmente os biochars apresentam uma área superficial que varia de 8 a 132 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e um volume total de poros variando de 0,016 a 0,082 cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> (LENG et al., 2021). Entretanto, um estudo de otimização de parâmetros de pirólise para a produção de biochar de bambu, demonstrou que temperaturas acima de 550 °C gerou um biocarvão com área superficial acima de 200 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e um volume total de poros acima de 0,17 cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>, com uma queda drástica desses índices quando a temperatura excedeu 850 °C (YANG et al., 2016). O biochar utilizado na nossa pesquisa apresentou índices de área de superfície, diâmetro e volume total de poros considerados relativamente baixos, o que pode ter sido um fator limitante para provocar alterações significativas nas propriedades químicas do solo.

## 6.2 Biochar e a atividade enzimática do solo

As análises das atividades das enzimas do solo estão ganhando destaque no estudo da biologia do solo, por serem variáveis sensíveis e que apresentam respostas rápidas às mudanças ambientais. O biochar aplicado ao solo cultivado com sabiá, aumentou a atividade da  $\beta$ -glicosidase, enzima envolvida no ciclo do carbono, que catalisa a hidrólise da celulose em glicose, tornando-a disponível para as plantas e micro-organismos como fonte de energia (GÜNAL, ERDEM e DEMIRBAS, 2018).

Essa resposta pode ser justificada pelo conteúdo de C presentes no biochar (LIAO et al., 2016). Além disso, a atividade da  $\beta$ -glicosidase libera açúcares de baixo peso molecular, que serve de fonte de energia para os micro-organismos do solo, de modo a aumentar também a atividade de outras enzimas, principalmente em doses crescentes, até 30 Mg ha<sup>-1</sup>, como relatado por Lopes et al. (2021).

A fosfatase ácida pertence ao grupo das enzimas que catalisa a hidrólise dos fosfatos orgânicos em inorgânicos. A aplicação do biochar aumentou a atividade da fosfatase ácida no solo cultivado com sabiá. Entretanto, em ambos os experimentos, as estratégias de inoculação contribuíram para aumentar a atividade dessa enzima. Possivelmente pelos mecanismos que os micro-organismos possuem para aumentar a solubilização do fosfato inorgânico e de secretar enzimas fosfatase.

A urease é a enzima do solo responsável por catalisar a hidrólise da ureia em amônio e dióxido de carbono, e sua atividade é essencial para o fornecimento de nitrogênio para as plantas. Porém, em excesso, pode provocar a perda de nitrogênio amoniacal por volatilização (LIU et al., 2018). A inibição da atividade da urease por parte do biochar pode ser resultante de reações oxidativas com radicais livres ou suas espécies reativas de oxigênio na superfície do biochar, ou ainda pelas reações de sorção de compostos químicos deletérios aos micro-organismos que produzem a urease. No entanto, esse efeito pode variar com o tipo de biochar, a dose aplicada e os atributos do solo (LIU et al., 2018).

O aumento da atividade enzimática do solo pode estar associado ao fato do biochar fornecer um ambiente favorável para as bactérias do solo, dentre as quais estão as responsáveis pela secreção das enzimas extracelulares (PALANSOORIYA et al., 2019). Embora a caracterização do biochar tenha revelado baixos índices relativos às suas propriedades físicas, este ainda pode ter servido como *habitat* para a microbiota.

Os resultados mais expressivos na atividade enzimática do solo estão comumente associados aos atributos do biochar e do solo. Globalmente, os solos com pH mais baixo ( $< 6,5$ ), teores de carbono e nitrogênio baixos ( $C < 20 \text{ g kg}^{-1}$  e  $N < 2 \text{ g kg}^{-1}$ ) e textura fina (incluindo as classes francas e argilo siltosa), que receberam aplicação de biocarvões com pH mais elevado (neutro a alcalino) e relação C/N mais baixa, que são geralmente produzidos com temperaturas de pirólise mais altas ( $350 - 550 \text{ }^\circ\text{C}$ ), tiveram resultados mais promissores (POKHAREL, MA e CHANG, 2020). Estratégias como a escolha da matéria prima e do modo de produção são primordiais para obter melhores respostas do biochar na funcionalidade biológica do solo.

Contudo, as análises enzimáticas isoladas revelam diferenças em termos absolutos da atividade de cada enzima, mas fornecem pouca informação sobre o estado nutricional da comunidade microbiana. Para isso, uma abordagem mais acurada para avaliação da atividade enzimática do solo é por meio de uma estequiometria (C:N:P), para inferir a limitação de nutrientes microbianos. Parte-se da premissa de que os micro-organismos alocam mais recursos para produção de enzimas para adquirir os nutrientes mais limitantes, e essa limitação é refletida na proporção da atividade de cada enzima (MORI, ROSINGER e MARGENOT, 2023).

A proporção média da atividade enzimática (C:N:P) se aproxima de uma relação de 1:1:1 em solos sedimentares e em solos de ecossistemas não manejados, e desvios dessa proporção são indicadores para inferir limitações de nutriente microbianos, C vs N, C vs P e N vs P, respectivamente (SINSABAUGH, HILL e FOLLSTAD SHAH, 2009). Além disso, vetores são estimados a partir das relações das enzimas pareadas, e são utilizados para quantificar as demandas relativas de C vs N vs P.

A enzima que expressou maior atividade foi a fosfatase ácida, porém quando comparada com a  $\beta$ -glicosidase, a relação estequiométrica (C/P) ficou próxima de 1:0,3. Desvios ainda maiores foram observados quando as enzimas foram comparadas com a urease, que por sua vez expressou a menor atividade ( $C/N > 1$  e  $N/P < 0,15$ ).

Uma metanálise que reuniu dados relacionados à influência da aplicação do biochar na estequiometria enzimática do solo, apontou que em geral o biochar aumentou a atividade das enzimas envolvidas no ciclo do C e N, ao passo que houve o aumento do comprimento do vetor, indicando uma limitação de energia microbiana, na forma de C lábil, em relação aos demais nutrientes (N e P) (CHEN et al., 2022). Essa resposta pode ser atribuída ao fato do biochar ser composto predominantemente por C recalcitrante, que

não pode ser acessado pelos micro-organismos, de tal modo que, para fins agrícolas, recomenda-se que sejam aplicadas fontes de C lábil de forma paralela.

Quanto à demanda de nitrogênio, recomenda-se que seja suprida pela aplicação de fontes lábeis de N para as plantas, para reduzir a competição com os micro-organismos e as perdas por imobilização. Assim, apenas a aplicação de biochar não supre as demandas estequiométricas microbianas e são necessárias fontes de C e N lábeis para esse fim, especialmente em condições de baixa fertilidade (CHEN et al., 2022). Concordando com a análise vetorial que indicou que, a adição de biochar não contribuiu para o aumento do carbono lábil para os micro-organismos (comprimento do vetor), por outro lado, o ângulo do vetor indicou que todos os tratamentos com biochar reduziram as demandas microbianas de N em relação ao P.

### **6.3 Biochar e a estrutura comunidade microbiana do solo**

A utilização do biochar hidrotérmico de bagaço de caju teve uma influência limitada em modificar a abundância relativa dos filos e gêneros dos procariontes habitantes do solo. Um dos principais fatores que pode explicar essa resposta é o pH do biochar e do solo. Uma metanálise demonstrou que os efeitos positivos da aplicação do biochar no aumento da diversidade microbiana do solo, ocorreu quando utilizados biocarvões alcalinos (geralmente pirolíticos) (SINGH et al., 2022). Em contrapartida, os maiores aumentos da diversidade microbiana, promovidos pelo biochar, ocorreram em solos com pH entre 4,5 e 6,5, e as maiores reduções da diversidade, em solos com pH entre 6,5 e 7,5 (LI et al., 2020).

Um dos impactos comuns da adição de biochar ao solo é a redução da população de Acidobacteria, pois geralmente o pH dos biochars tendem à alcalinidade. As bactérias pertencentes a esse filo participam ativamente do ciclo biogeoquímico do C, N e S, decompondo biopolímeros, secretando EPS e etc. (XU et al., 2023). Portanto, por possuir caráter ácido, o biochar utilizado não apresentou efeito deletério a esse filo.

A presença predominante do filo das actinobactérias é comum em solos neutros a alcalinos e/ou ricos em matéria orgânica, e em geral seu gênero mais abundante no solo é o *Streptomyces*, que em nosso estudo, foi o segundo mais abundante. Esse filo bacteriano pode ser considerado como um biomarcador para melhoria do *status* nutricional do solo e das plantas e indicativo de solos supressivos, especialmente o gênero *Streptomyces*, que é capaz de suprimir fitopatógenos, incluindo fungos, bactérias e

nematóides, por antibiose ou competição (SCHLATTER et al., 2009; BARKA et al., 2016; SARATHAMBAL et al., 2022). Os gêneros *Gaiella* e *Nocardioides* também estão relacionados diretamente com a supressividade do solo. Zhao et al. (2019) demonstraram que esses gêneros bacterianos foram eficientes no biocontrole de fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum* por meio de mecanismos de inibição direta e indireta.

O gênero mais abundante foi o *Rubrobacter*, que também pertence ao filo das actinobactérias. Esse gênero é caracterizado por apresentar espécies termofílicas, halotolerantes, altamente resistentes à radiação gama, o que lhe confere vantagem seletiva à sobrevivência temporária e dispersão em ambientes secos e escassos de nutrientes, apresentando alta abundância em solos de ecossistemas áridos (FERREIRA et al., 1999; JURADO et al., 2012).

Os outros filios mais abundantes, Proteobacteria, Acidobacteria e Chloroflexi também são bioindicadores de solo supressivo. Além de que, as bactérias do filo Chloroflexi são especializadas na exploração das formas mais oxidadas de C, e sua abundância pode aumentar o sequestro de carbono e contribuir para a ciclagem dos nutrientes e crescimento das plantas (SARATHAMBAL et al., 2022).

Os tratamentos com inoculação sem biochar (FMA, BPCV e CO) aumentaram os parâmetros de riqueza e índice de diversidade de Shannon, o que era esperado. Os fungos micorrízicos arbusculares estabelecem relação simbiótica lançando hifas na região cortical das raízes, e ali realizam as trocas de nutrientes entre si e as plantas. Além disso, esses fungos estão naturalmente associados a diversas bactérias. Dessa forma, os FMA interagem com uma ampla variedade de micro-organismos endofíticos e rizosféricos, e essas interações são fatores primordiais na modulação da comunidade microbiana (SARATHAMBAL et al., 2022).

Entre as bactérias promotoras de crescimento vegetal, destacam-se as do gênero *Bacillus*. Essas bactérias são habitantes do solo ou endofíticas, formadoras de esporos, possuem capacidade saprofítica e boa competitividade, o que lhes permite sobreviver em condições adversas. Os *Bacillus* sp. também auxiliam no biocontrole de fitopatógenos e aumentam a tolerância à estresses abióticos, por meio da indução de genes, produção de fitohormônio e metabólitos secundários relacionados ao estresse (HASHIM et al., 2016).

Quando adotada a estratégia da co-inoculação, a riqueza e diversidade bacteriana do solo não sofreu efeitos deletérios significativos da aplicação do biochar, diferente da inoculação isolada do fungo ou bactéria, revelando uma interação sinérgica entre ambos. A co-inoculação protegeu a diversidade alfa do solo, mesmo na presença de biochar, e

esse efeito pode ser explicado pelas diversas formas de interação benéfica entre esses organismos.

Uma revisão relacionada à interação entre fungos micorrízicos arbusculares e *Bacillus* sp. no solo apontou que, os receptores dos sinais moleculares liberados por ambos apresentam uma similaridade significativa, e em alguns casos, os mesmos receptores podem captar os sinais emitidos por ambos (NANJUNDAPPA et al., 2019). Os exopolissacarídeos produzidos pelos *Bacillus* sp. podem contribuir como um fator preponderante no estabelecimento da simbiose micorrízica (BIANCIOTTO et al., 2001), bactérias promotoras de crescimento vegetal podem expressar genes relacionados à exoribonuclease que são necessários para o estabelecimento micorrízico com *Gigaspora margarita* (VAN BUUREN et al., 1999). Além disso, foi relatado que as hifas dos FMA liberam compostos orgânicos que podem funcionar como fonte de energia para as rizobactérias (MIRANSARI, 2011).

Vale ainda ressaltar que os procariotos encontrados no solo podem estar correlacionados positivamente com o crescimento das plantas, as propriedades químicas do solo e a atividade das enzimas do solo. Uma revisão demonstrou que cerca de 52 gêneros de actinobactérias estão relacionados à promoção de crescimento vegetal, dentre os quais foram identificados no nosso estudo, além dos supracitados: *Bradyrhizobium* e *Bacillus* (HAMEDI e MOHAMMADIPANAH, 2015).

A revisão supracitada aponta que espécies de *Streptomyces* produzem quantidades significativas de hormônios vegetais, incluindo auxina, giberelina e citocinina, que aumentam o comprimento e a massa fresca da parte aérea das plantas, respectivamente. Outros gêneros, como *Bacillus*, estão envolvidos na solubilização do fósforo associado aos minerais ou a mineralização do fósforo orgânico, pelo mecanismo de acidólise, aumentando a disponibilidade de fósforo no solo e sua absorção pelas plantas, além de contribuir na tolerância à seca, pela produção dos EPS, e na produção de fitohormônios (HAMEDI e MOHAMMADIPANAH, 2015; SAEID, PROCHOWNIK e DOBROWOLSKA-IWANIEK, 2018).

O gênero *Bradyrhizobium* está associado com a fixação do nitrogênio atmosférico, contribuindo para o crescimento das plantas por meio do suprimento da demanda de N<sub>2</sub> (FAVERO et al., 2022). E a presença do gênero *Rubrobacter* é uma forte aliada na proteção das plantas em períodos de escassez hídrica, devido à sua tolerância à dessecação (AJILOGBA, OLANREWAJU e BABALOLA, 2022).

## 7 CONCLUSÕES

A adição do biochar hidrotérmico de bagaço de caju no solo degradado contribuiu para o crescimento das plantas de sabiá, sobretudo nos parâmetros de altura e massa da matéria seca da parte aérea, assim como no aumento da massa da matéria seca das raízes do milho. Quanto aos parâmetros da química do solo, o biochar reduziu o pH e auxiliou no aumento do teor de C, N, K e,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  apenas no solo cultivado com milho. A atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida também foi melhorada em todos os tratamentos com biochar, no solo cultivado com sabiá. A urease expressou maior atividade apenas no tratamento de co-inoculação no solo cultivado com milho. A abundância relativa de filos e gêneros dos procariotos do solo revelaram a presença de grupos bacterianos relacionados à ecossistemas áridos, à promoção de crescimento vegetal e à supressividade do solo, embora nenhuma diferença significativa foi percebida em resposta a aplicação de biochar. A diversidade alfa dos procariotos do solo, expressa por meio da riqueza de ASV's e pelo índice de diversidade de Shannon, foi reduzida pela aplicação do biochar, e a estratégia da co-inoculação foi a que melhor aliviou os efeitos deletérios do biochar.

## REFERÊNCIAS

AAMER, M. et al. Biochar mitigates the N<sub>2</sub>O emissions from acidic soil by increasing the nosZ and nirK gene abundance and soil pH. **Journal of Environmental Management**, v. 255, p. 109891, 1 fev. 2020.

AHMAD, A. et al. Effect of sewage sludge biochar on the soil nutrient, microbial abundance, and plant biomass: A sustainable approach towards mitigation of solid waste. **Chemosphere**, v. 287, p. 132112, 1 jan. 2022.

AHMAD, M., et al. Potential of phosphate solubilizing Bacillus strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, 56(2). 2019.

AJILOGBA, C. F., OLANREWaju, O. S., & BABALOLA, O. O. Plant growth stage drives the temporal and spatial dynamics of the bacterial microbiome in the rhizosphere of *Vigna subterranea*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 825377. 2022.

ALGHAMDI, A. G.; ALKHASHA, A.; IBRAHIM, H. M. Effect of biochar particle size on water retention and availability in a sandy loam soil. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 24, n. 12, p. 1042–1050, 1 dez. 2020.

ALVES, V. M. C., et al. Solubilização de potássio presente em minerais por microrganismos e efeitos no desenvolvimento de culturas agrícolas. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*, 20 p. 2021.

AMOAKWAH, E. et al. Soil water retention, air flow and pore structure characteristics after corn cob biochar application to a tropical sandy loam. **Geoderma**, v. 307, p. 189–197, 1 dez. 2017.

AQUINO, A. D. et al. Recomendações de adubação e calagem para o estado do Ceará. Fortaleza: **UFC**, 248. 1993.

ARAÚJO, A. S. F. et al. Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 66, p. 175–181, 1 nov. 2013.

BARKA, E. A., et al. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and molecular biology reviews**, 80(1), 1-43. 2016.

BIANCIOTTO, V., et al. Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures. **European journal of histochemistry**, 45(1), 39-50. 2001.

BOLYEN, E. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature biotechnology**, 37(8), 852-857. 2019.

BONFANTE, P. Microbe Profile: *Gigaspora margarita*, a multifaceted arbuscular mycorrhizal fungus. **Microbiology**, 168(6), 001202. 2022.

BONIN, C. L. et al. Perennial biomass crop establishment, community characteristics, and productivity in the upper US Midwest: Effects of cropping systems seed mixtures and biochar applications. **European Journal of Agronomy**, v. 101, p. 121–128, 1 nov. 2018.

BRUUN, E. W. et al. Influence of fast pyrolysis temperature on biochar labile fraction and short-term carbon loss in a loamy soil. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 3, p. 1182–1189, mar. 2011.

BURGIN, A. J. et al. Beyond carbon and nitrogen: how the microbial energy economy couples elemental cycles in diverse ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, 9(1), 44-52. 2011.

CALLAHAN, B. J., et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, 13(7), 581-583. 2016.

CGEE - CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Desertificação, degradação da terra e secas no brasil**. Brasília, DF: [s.n.], 252p. 2016.

CHEN, Z., et al. Coenzymatic stoichiometry reveals stronger microbial carbon and nitrogen limitation in biochar amendment soils: A meta-analysis. **Science of The Total Environment**, 838, 156532. 2022.

DA SILVA, T. G. F. et al. Soil properties and microclimate of two predominant landscapes in the Brazilian semiarid region: Comparison between a seasonally dry tropical forest and a deforested area. **Soil and Tillage Research**, v. 207, 1 mar. 2021.

DAS, S. K.; GHOSH, G. K.; AVASTHE, R. Applications of biomass derived biochar in modern science and technology Environmental Technology and Innovation. **Elsevier B.V.**, 1 fev. 2021.

DE SÁ, C. S. B. et al. Salinization causes abrupt reduction in soil nematode abundance in the Caatinga area of the Submedio San Francisco Valley, Brazilian semiarid region. **Pedobiologia**, v. 85–86, 1 maio 2021.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Phosphatases in soils. **Soil biology and biochemistry**, v. 9, n. 3, p. 167-172, 1977.

ENDERS, A.; LEHMANN, J. Comparison of Wet-Digestion and Dry-Ashing Methods for Total Elemental Analysis of Biochar. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 43, p. 1042-1052, 2012.

FAVERO, V. O., et al. *Bradyrhizobium* strains from Brazilian tropical soils promote increases in nodulation, growth and nitrogen fixation in mung bean. **Applied Soil Ecology**, 175, 104461. 2022.

FERREIRA, A. C., et al. Characterization and radiation resistance of new isolates of *Rubrobacter radiotolerans* and *Rubrobacter xylanophilus*. **Extremophiles**, 3, 235-238. 1999.

GIAGNONI, L. et al. Long-term soil biological fertility, volatile organic compounds and chemical properties in a vineyard soil after biochar amendment. **Geoderma**, v. 344, p. 127–136, 15 jun. 2019.

GÜNAL, E., ERDEM, H., & DEMIRBAŞ, A. Effects of three biochar types on activity of  $\beta$ -glucosidase enzyme in two agricultural soils of different textures. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 64(14), 1963-1974. 2018.

HAMEDI, J., & MOHAMMADIPANAH, F. Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria. **Journal of industrial microbiology and biotechnology**, 42(2), 157-171. 2015.

HAN, L. et al. Biochar's stability and effect on the content, composition and turnover of soil organic carbon. **Geoderma**, v. 364, p. 114184, 2020.

HASHEM, A., et al. Induction of osmoregulation and modulation of salt stress in *Acacia gerrardii* Benth. by arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus subtilis* (BERA 71). **BioMed Research International**, 2016.

HU, Y. et al. After-effects of straw and straw-derived biochar application on crop growth, yield, and soil properties in wheat (*Triticum aestivum* L.) -maize (*Zea mays* L.) rotations: A four-year field experiment. **Science of The Total Environment**, v. 780, p. 146560, 1 ago. 2021.

HUANG, J. et al. Global desertification vulnerability to climate change and human activities. **Land Degradation and Development**, v. 31, n. 11, p. 1380–1391, 15 jul. 2020.

IBRAHIM, M. M. et al. Field-applied biochar-based MgO and sepiolite composites possess CO<sub>2</sub> capture potential and alter organic C mineralization and C-cycling bacterial structure in fertilized soils. **Science of The Total Environment**, v. 813, p. 152495, 20 mar. 2022.

IPCC. **The Intergovernmental Panel on Climate Change**. Special Report on Climate Change and Land. 2021. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/srccl/chapter/chapter-3/>. Acesso em: 22 de nov de 2021.

JAAFAR, N. M.; CLODE, P. L.; ABBOTT, L. K. Microscopy Observations of Habitable Space in Biochar for Colonization by Fungal Hyphae From Soil. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 483–490, mar. 2014.

JAAFAR, N. M.; CLODE, P. L.; ABBOTT, L. K. Soil Microbial Responses to Biochars Varying in Particle Size, Surface and Pore Properties. **Pedosphere**, v. 25, n. 5, p. 770–780, out. 2015.

JABBOROVA, D. et al. Impacts of biochar on basil (*Ocimum basilicum*) growth, root morphological traits, plant biochemical and physiological properties and soil enzymatic activities. **Scientia Horticulturae**, v. 290, 15 dez. 2021.

JOSEPH, S. et al. Developing a biochar classification and test methods. **Biochar for environmental management: science and technology**, 1, 107-126. 2009.

JURADO, V., et al. *Rubrobacter bracarensis* sp. nov., a novel member of the genus *Rubrobacter* isolated from a biodeteriorated monument. **Systematic and applied microbiology**, 35(5), 306-309. 2012.

KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and fertility of Soils**, v. 6, n. 1, p. 68-72, 1988.

KAVAMURA, V. N. Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: Promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico. (**Doctoral dissertation, Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba. p 224). 2012.

KIRCHMAN, D. L. **Processes in Microbial Ecology**. Oxford University Press, 2018. v. 1. 2018.

LATAWIEC, A. E. et al. Biochar amendment improves degraded pasturelands in Brazil: environmental and cost-benefit analysis. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 11993, 19 dez. 2019.

LENG, L. et al. An overview on engineering the surface area and porosity of biochar. **Science of the total Environment**, 763, 144204. 2021.

LI, X. et al. Biochar increases soil microbial biomass but has variable effects on microbial diversity: A meta-analysis. **Science of the Total Environment**, 749, 141593. 2020.

LIAO, N. et al. Effects of biochar on soil microbial community composition and activity in drip-irrigated desert soil. **European Journal of Soil Biology**, 72, 27-34. 2016.

LIU, Y., et al. Negative impacts of biochars on urease activity: high pH, heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, or free radicals? **Environmental science & technology**, 52(21), 12740-12747. 2018.

LOPES, E.M.G., et al. Biochar increases enzyme activity and total microbial quality of soil grown with sugarcane. **Environmental Technology & Innovation**, 21, 101270. 2021.

LUIS MORENO, J. et al. Response of soil chemical properties, enzyme activities and microbial communities to biochar application and climate change in a Mediterranean agroecosystem. **Geoderma**, v. 407, p. 115536, fev. 2022.

MADRID-DELGADO, G., et al. Pathways of phosphorus absorption and early signaling between the mycorrhizal fungi and plants. **Phyton**, 90(5), 1321.2021.

MAMEDE, M. DE A.; DE ARAÚJO, F. S. Effects of slash and burn practices on a soil seed bank of caatinga vegetation in Northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 72, n. 4, p. 458–470, 1 abr. 2008.

MASOUMI, S., et al. Hydrochar: a review on its production technologies and applications. **Catalysts**, 11(8), 939. 2021.

MASUD, M. M. et al. Liming effects of poultry litter derived biochar on soil acidity amelioration and maize growth. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 202, p. 110865, 1 out. 2020.

MEDEIROS, E. V. et al. Biochar and *Trichoderma aureoviride* applied to the sandy soil: Effect on soil quality and watermelon growth. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 48, n. 2, p. 735–751, 2020.

Methods of soil analysis – Published by: Soil Science Society of America, Inc. 1994.

MIRANSARI, M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 89, 917-930. 2011.

MIRZABAEV, A. et al. Desertification. In: SHUKLA, P.R. et al. (editor). In: **Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystem: Intergovernmental Panel on Climate Change.**, p. 249-307. 2019.

MOORHEAD, D. L., et al. Vector analysis of coenzyme activities reveal constraints on coupled C, N and P dynamics. **Soil Biology and Biochemistry**, 93, 1-7. 2016.

MORI, T., ROSINGER, C., & MARGENOT, A. J. Enzymatic C: N: P stoichiometry: Questionable assumptions and inconsistencies to infer soil microbial nutrient limitation. **Geoderma**, 429, 116242. 2023.

MOURA, R. Produção de castanha do caju cresce 33% em 2022. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação. **Embrapa Agroindústria Tropical**. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/78004497/producao-de-castanha-do-caju-cresce-33-em-2022>. Acesso em: 17 abr. 2023.

MUKHERJEE, A. et al. Physicochemical changes in pyrogenic organic matter (biochar) after 15 months of field aging. **Solid Earth**, v. 5, n. 2, p. 693–704, 23 jul. 2014.

MUKHERJEE, A.; ZIMMERMAN, A. R. Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar–soil mixtures. **Geoderma**, v. 193–194, p. 122–130, fev. 2013.

NANJUNDAPPA, A., et al. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus* spp. in soil enhancing growth of crop plants. **Fungal biology and biotechnology**, 6, 1-10. 2019.

OLIVEIRA FILHO, J. DE S. et al. Assessing the effects of 17 years of grazing exclusion in degraded semi-arid soils: Evaluation of soil fertility, nutrients pools and stoichiometry. **Journal of Arid Environments**, v. 166, p. 1–10, 1 jul. 2019.

OLIVEIRA, A. F. N. et al. Long-term effects of grazing on the biological, chemical, and physical soil properties of the Caatinga biome. **Microbiological Research**, v. 253, 1 dez. 2021.

OLIVEIRA, J. G. B.; SALES, M. C. L. **Monitoramento da Desertificação em Irauçuba**. 2015.

PALANSOORIYA, K. N. et al. Response of microbial communities to biochar-amended soils: a critical review. **Biochar**, v. 1, n. 1, p. 3–22, 8 mar. 2019.

PEREIRA, A. P. DE A. et al. Grazing exclusion regulates bacterial community in highly degraded semiarid soils from the Brazilian Caatinga biome. **Land Degradation and Development**, v. 32, n. 6, p. 2210–2225, 15 abr. 2021.

PEREIRA, A. P. DE A. et al. Land degradation affects the microbial communities in the Brazilian Caatinga biome. **CATENA**, v. 211, p. 105961, 1 abr. 2022.

POKHAREL, P.; MA, Z.; CHANG, S. X. Biochar increases soil microbial biomass with changes in extra-and intracellular enzyme activities: a global meta-analysis. **Biochar**, v. 2, p. 65-79, 2020.

PRADO, D. As caatingas da América do Sul, p. 3-73. In: I. R. Leal & M. Tabarelli & J. M. C. Silva (eds). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife, Universidade Federal de Pernambuco, 822 p. 2003.

QUAN, G. et al. Effects of laboratory biotic aging on the characteristics of biochar and its water-soluble organic products. **Journal of Hazardous Materials**, v. 382, 15 jan. 2020.

QUAST, C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic acids research**, 41(D1), D590-D596. 2013.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. Campinas, **Instituto Agrônomo**, 285p. 2001.

SAEID, A., PROCHOWNIK, E., & DOBROWOLSKA-IWANEK, J. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. **Molecules**, 23(11), 2897. 2018.

SANI, M. N. H. et al. Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced N-P-K fertilization. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 1, p. 107–115, 1 jun. 2020.

SARATHAMBAL, C., et al. Changes in bacterial diversity and composition in response to co-inoculation of Arbuscular mycorrhizae and zinc-solubilizing bacteria in turmeric rhizosphere. **Current Microbiology**, 79, 1-9. 2022.

- SCHLATTER, D., et al. Resource amendments influence density and competitive phenotypes of *Streptomyces* in soil. **Microbial ecology**, 57, 413-420. 2009.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.
- SILVA, J. L. B. DA et al. Changes in the water resources, soil use and spatial dynamics of Caatinga vegetation cover over semiarid region of the Brazilian Northeast. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 20, 1 nov. 2020.
- SILVA, M. V. DA et al. Spatio-temporal monitoring of soil and plant indicators under forage cactus cultivation by geoprocessing in Brazilian semi-arid region. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 107, 1 abr. 2021.
- SINGH, H., et al. Biochar applications influence soil physical and chemical properties, microbial diversity, and crop productivity: a meta-analysis. **Biochar**, 4(1), 8. 2022.
- SINSABAUGH, R. L., HILL, B. H., & FOLLSTAD SHAH, J. J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. **Nature**, 462(7274), 795-798. 2009.
- SOUZA, L. B. et al. Mitigando os riscos da seca através de ações de recuperação e preservação do bioma caatinga no semiárido brasileiro. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 2, p. 183-194, 2017.
- TEIXEIRA, P.C. et al. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3<sup>a</sup> ed. Distrito Federal: Embrapa, 573 p. 2017.
- TOMASELLA, J. et al. Desertification trends in the Northeast of Brazil over the period 2000–2016. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 73, p. 197–206, 1 dez. 2018.
- TOMCZYK, A., SOKOŁOWSKA, Z., & BOGUTA, P. (2020). Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, 19, 191-215.
- UNCCD. **Report of the Conference of the Parties on its Fourteenth Session, Held in New Delhi, India from 2 to 13 September 2019**. 2019. Disponível em: <<https://www.unccd.int/official-documents/cop-14-new-delhi-india-2019>>. Acesso em: 8 nov. 2021.
- VAN BUUREN, M. L., et al. Construction and characterization of genomic libraries of two endomycorrhizal fungi: *Glomus versiforme* and *Gigaspora margarita*. **Mycological research**, 103(8), 955-960. 1999.
- VIEIRA, R. M. DA S. P. et al. Characterizing spatio-temporal patterns of social vulnerability to droughts, degradation and desertification in the Brazilian northeast. **Environmental and Sustainability Indicators**, v. 5, 1 fev. 2020.

- VIEIRA, R. M. S. P. et al. Identifying areas susceptible to desertification in the Brazilian northeast. **Solid Earth**, v. 6, n. 1, p. 347–360, 18 mar. 2015.
- WANG, M. et al. Effect of alkali-enhanced biochar on silicon uptake and suppression of gray leaf spot development in perennial ryegrass. **Crop Protection**, v. 119, p. 9–16, 1 mai. 2019.
- WEBER, K., & QUICKER, P. Properties of biochar. **Fuel**, 217, 240-261.2018.
- XU, W., et al. Global meta-analysis reveals positive effects of biochar on soil microbial diversity. **Geoderma**, 436, 116528. 2023.
- YANG, H., et al. Biomass-based pyrolytic polygeneration system for bamboo industry waste: evolution of the char structure and the pyrolysis mechanism. **Energy & Fuels**, 30(8), 6430-6439. 2016.
- YANG, Q. et al. Country-level potential of carbon sequestration and environmental benefits by utilizing crop residues for biochar implementation. **Applied Energy**, v. 282, p. 116275, 15 jan. 2021.
- YIN, J., et al. Evaluation of long-term carbon sequestration of biochar in soil with biogeochemical field model. **Science of The Total Environment**, 822, 153576. 2022.
- YU, H., et al. Biochar amendment improves crop production in problem soils: A review. **Journal of environmental management**, 232, 8-21. 2019.
- ZHANG, Q., et al. Biochar and earthworms synergistically improve soil structure, microbial abundance, activities and pyraclostrobin degradation. **Applied Soil Ecology**, 168, 104154. 2021.
- ZHAO, F., et al. Vermicompost can suppress *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* via generation of beneficial bacteria in a long-term tomato monoculture soil. **Plant and Soil**, 440, 491-505. 2019.

## APÊNDICE A - FOTOS DA CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

### 1) Plantas de sabiá



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / Com biochar (B+)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / FMA sem biochar (B- FMA)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / BPCV sem biochar (B- BPCV)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / Co-inoculação sem biochar (B- CO)



Tratamentos: FMA sem biochar (B- FMA) / FMA com biochar (B+ FMA)



Tratamentos: BPCV sem biochar (B- BPCV) / BPCV com biochar (B+ BPCV)



Tratamentos: Co-inoculação sem biochar (B-CO) / Co-inoculação com biochar (B+CO)

## 2) Plantas de milho



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / Com biochar (B+)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / FMA sem biochar (B- FMA)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / BPCV sem biochar (B- BPCV)



Tratamentos: Controle sem biochar (B-) / Co-inoculação sem biochar (B- CO)



Tratamentos: FMA com biochar (B+ FMA) / FMA sem biochar (B- FMA)



Tratamentos: BPCV sem biochar (B- BPCV) / BPCV com biochar (B+ BPCV)



Tratamentos: Co-inoculação sem biochar (B-CO) / Co-inoculação com biochar (B+CO)