



**JORDANA LUÍSA DE CASTRO**

**EFICIÊNCIA DE COMUNIDADES E  
DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS EM ÁREA SOB  
INFLUÊNCIA DA MINERAÇÃO DE FERRO EM  
MINAS GERAIS**

**LAVRAS – MG**

**2017**

**JORDANA LUÍSA DE CASTRO**

**EFICIÊNCIA DE COMUNIDADES E DIVERSIDADE RIZÓBIOS EM  
ÁREA SOB INFLUÊNCIA DA MINERAÇÃO DE FERRO EM MINAS  
GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Fatima Maria de Souza Moreira

Orientadora

Dra. Márcia Rufini

Coorientadora

**LAVRAS – MG**

**2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Castro, Jordana Luísa de.

Eficiência de comunidades e diversidade de rizóbios em área sob  
influência da mineração de ferro em Minas Gerais / Jordana Luísa de  
Castro. - 2016.

71 p. : il.

Orientador(a): Fatima Maria de Souza Moreira.

.  
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2016.

Bibliografia.

1. *Vigna Unguiculata*. 2. Canga. 3. 16S rRNA. I. Moreira,  
Fatima Maria de Souza. . II. Título.

**JORDANA LUÍSA DE CASTRO**

**EFICIÊNCIA DE COMUNIDADES E DIVERSIDADE DE RIZÓBIOS EM  
ÁREA SOB INFLUÊNCIA DA MINERAÇÃO DE FERRO EM MINAS  
GERAIS**

***COMMUNITIES EFFICIENCY AND RHIZOBIA DIVERSITY IN AREAS  
UNDER INFLUENCE OF IRON MINING AT MINAS GERAIS***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de dezembro de 2016

Dra. Amanda Azarias Guimarães  
Dr. Ederson da Conceição Jesus

UFLA  
EMBRAPA



Profa. Dra. Fatima Maria de Souza Moreira  
Orientadora

Dra. Márcia Rufini  
Coorientadora

**LAVRAS – MG**

**2017**

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Elpino e Maria, meus irmãos Sabrina e Brayan pelo amor e incentivo em todos os momentos. Ao meu namorado Anísio, pelo companheirismo e amor constantes.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que me abençoou e abençoa imensamente, me mantendo sempre de cabeça erguida diante de qualquer dificuldade.

Aos meus pais Elpino e Maria e meus irmãos Sabrina e Brayan, que sempre me incentivaram e me ampararam nesta caminhada, e à minha avó Maria pelas orações constantes. Em especial àquele que foi e continua sendo meu orientador na vida acadêmica e pessoal, que me faz crescer como pessoa e como profissional desde o dia em que o conheci. Obrigada Anísio, seu amor e incentivo foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Aos queridos amigos que estiveram ao meu lado sempre, me ajudando nas dificuldades e compartilhando momentos alegres: Franciane, Marla, Eduane, Vanuze, Emerson e Juliana Volpi, vocês são especiais.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao programa de pós-graduação em Ciência do Solo por me acolher como aluna e pela estrutura disponibilizada.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos. À empresa Vale, às agências de fomento FAPEMIG e CAPES pelo suporte financeiro.

Ao laboratório de Biologia, Microbiologia e Processos biológicos do solo (UFLA), aos técnicos Manuel, e em especial, à Marlene, que me forneceram a estrutura física e pessoal para a realização desse trabalho.

À professora Fatima Moreira pela orientação, disponibilidade de sempre, confiança, ensinamentos e exemplo de profissionalismo. À Márcia Rufini pela coorientação e ajuda durante a condução do trabalho.

À Amanda Guimarães pelo auxílio nas análises moleculares e por toda ajuda.

Aos colegas do Departamento de Ciência do Solo e do Laboratório de Biologia, Microbiologia e processos biológicos do solo, em especial à Mariana Gonçalves e Tainara Louzada pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

## RESUMO

O estudo da biodiversidade do solo tem se tornado cada vez mais importante devido aos impactos causados pela ação antrópica e o aumento da demanda mundial por alimentos, já que os microrganismos são indicadores da qualidade do solo e importantes ferramentas para melhorar o processo de produção agrícola. Objetivando avaliar a diversidade e eficiência de comunidades de bactérias promotoras do crescimento vegetal em diferentes tipos de vegetação no Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, foram coletados solos sob vegetação de Canga, Mata Atlântica, Cerrado e área de reabilitação revegetada com Capim. A eficiência simbiótica das comunidades foi avaliada em experimento em casa de vegetação utilizando o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) como planta isca e os dados obtidos foram relacionados com os atributos químicos e físicos dos solos sob cada tipo de vegetação. Ao final do experimento, o isolamento das bactérias presentes nos nódulos foi realizado para avaliação da diversidade. O maior e menor número de nódulos ocorreram em solos sob vegetação de Capim e Cerrado e de Canga e Mata Atlântica, respectivamente. Em relação à matéria seca da raiz, o solo sob vegetação de Cerrado foi superior as demais áreas, já em relação à matéria seca da parte aérea não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os atributos do solo com maior influência sobre as comunidades microbianas foram teor de alumínio, considerado alto sob vegetação de Mata Atlântica e Cerrado, médio em Canga e muito baixo em Capim; a matéria orgânica, que apresentou valores muito altos em Canga e Cerrado, alto em Mata Atlântica e baixo em Capim; o pH que sob Capim indicou nível médio de acidez, sob Canga e Cerrado acidez elevada e sob Mata Atlântica acidez muito elevada. A partir do isolamento das estirpes dos nódulos e caracterização cultural foram obtidos 380 isolados distribuídos em 27 grupos culturais. O sequenciamento parcial do gene 16S rRNA de 89 estirpes possibilitou a identificação de gêneros nodulíferos (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Burkholderia*), representantes de bactérias associativas (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas* e *Agrobacterium*) e outros gêneros (*Brevibacillus*, *Novosphingobium* e *Chitinophaga*).

Palavras - chave: *Vigna unguiculata*, Canga, 16S rRNA.



## ABSTRACT

The study of soil biodiversity has become increasingly important due to the impacts of anthropic action and the increase in world demand for food, since microorganisms are indicators of soil quality and important tools to improve the agricultural production process. In order to evaluate the diversity and efficiency of rhizobia communities in different vegetations in the "Iron Quadrangle of Minas Gerais", soils were collected in areas of "Iron Outcrops", "Atlantic Forest", "Neotropical Savanah" and "Rehabilitated área revegetated with grass". The symbiotic efficiency of the communities was evaluated in a greenhouse experiment using cowpea (*Vigna unguiculata*) as bait plant, and the data obtained were correlated with chemical and physical attributes of the soils under each type of vegetation. At the end of the experiment, the bacteria present in the nodules were isolated to evaluate biodiversity. The highest and lowest number of nodules occurred in soils under Grass and Neotropical savanah vegetation and Iron outcrops and Atlantic Forest, respectively. In relation to the root dry matter, the soil under Neotropical savanah vegetation was superior to the other areas. In relation to the shoot dry matter there was no significant difference between the treatments. The soil attributes with the greatest influence on the microbial communities were aluminum content, considered high under Atlantic forest and Neotropical savanah vegetation, medium in Iron outcrops and very low in Grass; organic matter, which presented very high values in Iron outcrops and Neotropical savanah, high in Atlantic forest and low in Grass; the pH under Grass indicated average level of acidity, under Iron outcrops and Neotropical savanah high acidity and under Atlantic forest very high acidity. Through isolation of nodules, 380 bacterial strains were obtained and separated into 27 culture groups by cultural characterization analysis. Genetic diversity was evaluated by the 16S rRNA gene partial sequencing of 89 strains, which were identified as belonging to nitrogen-fixing Leguminosae nodulating bacteria (NFLNB) genera (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium* and *Burkholderia*), representatives of associative bacteria (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas* and *Agrobacterium*) and other genus (*Brevibacillus*, *Novosphingobium* and *Chitinophaga*).

**Keywords:** *Vigna unguiculata*, Iron outcrops, 16S rRNA.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>11</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Quadrilátero Ferrífero .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>A mineração .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3</b>	<b>Diversidade de bactérias nos solos .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4</b>	<b>Recuperação de áreas degradadas .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5</b>	<b>Fixação biológica de nitrogênio .....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>22</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>23</b>
	<b>SEGUNDA PARTE - ARTIGO.....</b>	<b>30</b>
	<b>ARTIGO 1- Eficiência de comunidades e diversidade de rizóbios em área sob influência da mineração de ferro em Minas Gerais .....</b>	<b>30</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

### **1 INTRODUÇÃO**

O estado de Minas Gerais é historicamente conhecido pela atividade de extração mineral. Esta atividade gera impactos variados ao meio ambiente, podendo em casos extremos causar danos irreversíveis. As áreas de extração de minério de ferro são as mais extensas e conseqüentemente as mais afetadas devido à grande remoção de solo e cobertura vegetal. A região do Quadrilátero Ferrífero é intensamente afetada por estes impactos dada sua enorme importância como região produtora de minério de ferro. Os solos do Quadrilátero Ferrífero têm grande influência do material de origem, sendo originados principalmente através do intemperismo de itabiritos, cangas e dolomitos ferruginosos. São solos de fertilidade naturalmente baixa e com vegetação adaptada a estas condições.

O processo de mineração envolve muitas vezes alterações profundas no solo, promovendo a perda da cobertura vegetal, alterações na microbiota, perda de matéria orgânica e da sua fertilidade natural, dificultando ou mesmo inviabilizando a recuperação natural destas áreas. Para que haja sucesso no restabelecimento destas áreas, é necessária a utilização de tecnologias que visem mitigar os efeitos perniciosos do processo minerário. Além de práticas conservacionistas, a biotecnologia pode ter uma contribuição essencial, pois pode otimizar o desenvolvimento de práticas de revegetação.

Os microrganismos participam de processos como decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e até mesmo da degradação de xenobióticos. Alguns microrganismos podem beneficiar as plantas de diversas maneiras, melhorando a absorção de nutrientes, protegendo contra patógenos e na fixação biológica de nitrogênio, processo em que bactérias fixam o nitrogênio

atmosférico convertendo-o em formas assimiláveis pelas plantas. Este último processo tem vantagens econômicas e ambientais já que reduz a utilização de fertilizantes nitrogenados e conseqüentemente os custos de produção (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Estudos que avaliam a diversidade dessas bactérias presentes nos solos são de grande importância para avaliação dos impactos causados por atividades antrópicas, já que estes são indicadores sensíveis às alterações ocorridas no solo. Bactérias que têm determinado ambiente como hábitat, podem ser adaptadas a condições extremas, como é observado nos solos de canga, que possuem acidez elevada, podendo ter seu potencial biotecnológico explorado. Conhecer as bactérias presentes nos solos é o primeiro passo para identificação de espécies com potencial de utilização como inoculantes de leguminosas e também para a elaboração de estratégias que visem recuperar áreas degradadas.

Este trabalho é parte do projeto “Diversidade de plantas e de organismos dos solos com potencial biotecnológico e indicadores de impacto ambiental em Minas Gerais” (Edital 00/2010 - Chamada de propostas 01/2010 - Fapemig/Fapesp/Fapespa/Vale S.A.) e tem como objetivo avaliar o impacto da mineração sobre a diversidade genética e fenotípica de fixadores de  $N_2$ , presentes em áreas de vegetação de Canga, Cerrado, Mata Atlântica e área de reabilitação revegetada com Capim, na região do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, visando gerar informações para projetos de recuperação ambiental.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Quadrilátero Ferrífero

O Quadrilátero Ferrífero está localizado na área central do estado de Minas Gerais e se destaca no cenário nacional e mundial por sua riqueza mineral. O material de origem tem grande influência nos solos desta região, destacando-se por sua constituição ferruginosa, sendo os principais litotipos constituídos por itabiritos, rochas ultrabásicas e dolomitos ferruginosos (DE CARVALHO FILHO et al., 2010).

A região possui grande destaque no setor minerário principalmente pela extração de ferro, o que originou seu nome. O Brasil é o segundo maior produtor de ferro e este é também a principal *commodity* negociada, atendendo principalmente a demanda da China (DIAS et al., 2013). A temperatura média regional é de 20° C (DORR, 1969) e por abranger aspectos variados de hidrologia, topografia e geologia, este ambiente proporciona condições favoráveis a uma grande riqueza florística. A paisagem do Quadrilátero Ferrífero é, atualmente, um mosaico no ecótono de dois “*hotpots*” brasileiros; Cerrado e Mata Atlântica, que foram profundamente transformados por atividades humanas, com destaque para a urbanização e mineração (JACOBI; CARMO, 2008).

O bioma do Cerrado é composto por áreas florestais como matas ciliares e de galeria, além de áreas abertas como campo limpo, campo sujo, campo cerrado e ainda áreas intermediárias como cerradão e o cerrado *stricto sensu*. O campo rupestre ocorre em altitudes superiores a 900 metros, com relevo movimentado e presença marcante dos afloramentos de canga e, em alguns pontos, sobre filitos e itabiritos (AZEVEDO et al., 2012).

Os solos presentes no Quadrilátero Ferrífero têm grande influência do

material de origem. Os litotipos locais foram formados a partir de sedimentos marinhos ricos em óxidos de ferro e sílica, oriundos de eventos vulcanoquímicos e bióticos, como a ação metabólica das cianobactérias primitivas oxidando o ferro dissolvido na água do mar e, conseqüentemente, precipitando-o. Com a interação dinâmica das placas tectônicas e regressão marinha formaram-se as BIF (Banded Iron Formation). Estas foram formadas por leitos alternados de sílica e óxidos de ferro. Posteriormente foram metamorfasadas, originando os itabiritos, dolomitos ferruginosos, dentre outros.

Durante muito tempo a lixiviação da sílica concentrou os óxidos insolúveis formando efetivamente os corpos de minério que hoje são explotados (MACAMBIRA; ROSIÈRE; CHEMALE JR, 2000; SCHRANK, 2008). Superficialmente a lateritização formou as rochas conhecidas por canga, termo genérico que engloba crostas ferruginosas, brechas sideríticas, concreções ferruginosas, esferólitos, etc. Solos derivados destas rochas (e outras associadas) são caracteristicamente de baixa fertilidade natural, ácidos, pouco profundos e com grande influência sobre a cobertura vegetal, que é composta nas áreas de canga, por gramíneas e arbustos extremamente adaptados a estas condições peculiares, geralmente com sistema radicular capaz de se infiltrar nas fraturas das rochas, genericamente a vegetação desenvolvida nestes locais também é chamada de canga, justamente por ocorrer associada a este litotipo (COSTA, 2007).

## **2.2 A Mineração**

O setor mineral é a base para diversas cadeias produtivas, compreendendo desde os estudos geológicos até as etapas da mineração propriamente dita. O mesmo participa com 4,2% do PIB e 20% do total das

exportações brasileiras e gera cerca de um milhão de empregos diretos, equivalendo a 8% dos empregos da indústria. O País destaca-se internacionalmente como produtor de nióbio, minério de ferro, bauxita, manganês e vários outros bens minerais (PNM, 2011).

Segundo o Índice da Produção Mineral (IPM), o primeiro semestre de 2015 apresentou crescimento de 15,5% quando comparado ao ano de 2014. Este comportamento foi alcançado em função do aumento na quantidade produzida dos minérios de ferro (17,16%), cobre (61,44%) e manganês (21,07%). Outras substâncias minerais que contribuíram positivamente foram: níquel, alumínio, potássio, caulim, crisotila, nióbio, cromo e grafita (DNPM, 2015).

A região Sudeste é a principal empregadora do setor de extração mineral, seguida das regiões Nordeste, Norte, Sul e Centro-Oeste. Dos principais estados empregadores, Minas Gerais e Pará concentram metade de seus empregos na extração de minério de ferro. Já nos estados de São Paulo e Espírito Santo a extração de pedra/areia/argila é a principal geradora de empregos neste setor. O ranking dos cinco municípios com maiores arrecadações da CFEM (Compensação Financeira por Exploração de Recursos Minerais) no 1º/2015 é composto por: Parauapebas - PA (18,2%), Nova Lima- MG (5,6%), Mariana-MG (5,5%), Congonhas-MG (4,8%) e Itabira-MG (4,3%). A distribuição da arrecadação para estes cinco municípios respondeu por aproximadamente 38,5% de toda a CFEM do primeiro semestre de 2015 (DNPM, 2015).

Por se tratar de uma atividade que modifica o ambiente de diversas maneiras e ser essencial para o desenvolvimento dos diversos setores da economia, a preocupação com a reabilitação das áreas mineradas torna-se muito importante. Como os microrganismos desempenham papel importante nos processos biológicos, conhecer suas funções no ambiente faz com que a recuperação destas áreas seja realizada da melhor maneira possível.

### 2.3 Diversidade de bactérias nos solos

A diversidade biológica corresponde à variabilidade de seres vivos de todas as origens, abrangendo habitats aquáticos e terrestres e os complexos ecológicos de que fazem parte, abrangendo também a diversidade intraespecífica e interespecífica, bem como a diversidade de ecossistemas (BRASIL, 1992). O solo é habitat para uma série de microrganismos, como fungos, protozoários e bactérias. Grande parte das bactérias encontradas no ambiente rizosférico são altamente dependentes de interações com plantas (PANIZZON et al., 2016).

Microrganismos do solo desempenham papéis importantes na qualidade do solo e produtividade da planta. No entanto, apenas uma pequena fração (<0,1%) da comunidade microbiana do solo tem sido acessível. O desenvolvimento de métodos eficazes para estudar a diversidade, distribuição e comportamento de microrganismos no ambiente edáfico é condição básica para uma compreensão mais ampla da qualidade do solo.

Muitas bactérias possuem a capacidade de auxiliar no crescimento vegetal e são denominadas rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCV). Estas bactérias atuam nos processos de solubilização de fosfatos inorgânicos, fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios vegetais, produção de compostos antifúngicos, dentre outros (HARA; OLIVEIRA, 2004; LIM et al., 1991; VESSEY, 2003). O uso de bactérias capazes de solubilizar o fosfato inorgânico aumenta a disponibilidade de fósforo para as plantas (ANTOUN et al., 1998; HARA; OLIVEIRA, 2004; MARRA et al., 2012; OLIVEIRA, 2011; PEIX et al., 2001; SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982; VESSEY, 2003).

Além das bactérias simbióticas, diversos trabalhos relatam a presença de bactérias consideradas não nodulíferas no interior de nódulos de leguminosas, como os gêneros: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Paenebacillus* e



*Agrobacterium* que são encontrados com maior frequência (BENHIZIA et al., 2004; COSTA et al., 2013; CUMMINGS et al., 2009; GAO et al., 2004; HALLMANN et al., 1997; HUNG et al., 2007; IBÁÑEZ et al., 2009; JARAMILLO et al., 2013; KAN et al., 2007; LI et al., 2008; LIMA et al., 2009; MHAMDI et al., 2005; MRABET et al., 2006; MURESU et al., 2008; SILVA, 2010; SILVA, 2012; STAJKOVIĆ et al., 2009; WANG et al., 2006).

Os sistemas de uso da terra podem influenciar a diversidade e a composição das comunidades bacterianas do solo e fatores como o pH podem afetar o crescimento bacteriano, por isso estudos que avaliem estirpes quanto à sua eficiência agrônômica no campo são relevantes (LAUBER et al., 2013). Alguns estudos demonstram a tolerância de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. a valores de pH levemente ácidos (BARBERI et al., 2004; MIGUEL; MOREIRA 2001; SOARES et al., 2014).

Apesar da extensão do bioma Cerrado e o intenso processo de conversão dos solos para fins agrícolas nos últimos 40 anos, pouca atenção tem sido dada ao estudo das suas comunidades microbianas. As evidências da grande diversidade de comunidades microbianas em solos sob Cerrado são importantes para incentivar os esforços de conservação e identificação desse potencial biotecnológico inexplorado (ARAUJO et al., 2012). A área de Mata Atlântica é caracterizada principalmente por fragmentos de vegetação, devido ao desmatamento para conversão destas áreas em pastagens ou processo de urbanização, bem como atividades de impacto como a mineração. O bioma Campo Rupestre Ferruginoso, também conhecido por Canga, possui vegetação adaptada às condições limitantes deste ambiente. Conhecer a diversidade de microrganismos presentes no solo tem importância significativa para a compreensão do papel que estes desempenham no ecossistema.

Microrganismos têm grande potencial como fonte de recursos genéticos e biotecnológicos, sendo, portanto, importantes nos ciclos bioquímicos e

geoquímicos dos ecossistemas (PANIZZON et al., 2016). A utilização de técnicas moleculares como o sequenciamento do gene 16S rRNA contribuem para a descoberta de novas espécies de bactérias e também para estudos de taxonomia (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Depois de sequenciados, os fragmentos de DNA são comparados com sequencias já depositadas em bancos de dados, o que possibilita a construção de arvores filogenéticas após a identificação em nível de gênero ou espécie das estirpes (COSTA, 2013).

#### **2.4 Recuperação de áreas degradadas**

Atividades como a mineração podem promover danos ao meio ambiente sob aspectos bióticos e abióticos. A remoção da cobertura vegetal diminui os teores de matéria orgânica e deixa os solos suscetíveis a erosão. A utilização de maquinários pesados gera problemas como compactação e encrostamento do solo, o que causa impedimento para a infiltração de água da chuva e impossibilita o desenvolvimento do sistema radicular das plantas. O processamento de minérios pode também causar toxicidade pela presença de metais pesados que podem ser recalcitrantes e levar anos para serem degradados.

A recuperação de áreas degradadas depende diretamente de uma microbiota ativa, pois esta tem papel importante na ciclagem de nutrientes e melhoria das condições do solo sob aspectos nutricionais, o que favorece o estabelecimento das plantas (SIQUEIRA et al., 1994). Além disso a ação dos microrganismos do solo promove melhorias nos aspectos físicos do solo, especialmente nos fatores ligados à estabilidade de agregados, promovida através da ação de fungos através das hifas e de outros microrganismos através da liberação de substâncias que promovem a coesão entre as partículas.

Alguns procedimentos vêm sendo adotados para mitigação dos impactos causados pela extração mineral, antes mesmo da implantação dos

empreendimentos, como o desmate controlado e o remanejamento da fauna para outras áreas planejadas para se tornarem áreas protegidas (BRANDT; WILFRED, 2001).

Sendo assim, características microbiológicas, tais como: biomassa, atividade (respiração, ATP, atividade enzimática etc.), contagem direta e indireta da população microbiana, quantificação de microrganismos específicos (fungos micorrízicos, bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, etc.), podem ser usadas nas avaliações de estado de equilíbrio de áreas submetidas a diferentes ações antrópicas (TRINDADE et al., 2000).

Após o processo de mineração, a legislação ambiental prevê que as empresas façam a recuperação das áreas, o que geralmente inclui uma etapa de plantio de espécies nativas. Nestes projetos, estudos que avaliem a relação entre os fatores ambientais e os microrganismos ali presentes podem ser cruciais para que a recuperação seja efetiva. A microbiota edáfica pode ser um sensível indicador de mudanças ocorridas no ambiente (POWLSON et al., 1987).

Alterações de pH, teores de alumínio e matéria orgânica estão entre os fatores que mais influenciam a ocorrência de microrganismos no solo (JESUS et al., 2009; LAUBER et al., 2008). Estudos sobre a diversidade de bactérias presentes nos solos podem ser úteis para avaliar a reabilitação das áreas e também para a seleção de estirpes que tenham potencial biotecnológico para biorremediação *in situ* e também como inoculantes de espécies utilizadas na revegetação de áreas degradadas.

## **2.5 Fixação biológica de nitrogênio**

O nitrogênio (N) possui importante papel no funcionamento dos ecossistemas do planeta. Este elemento se encontra nas formas combinadas orgânicas ou inorgânicas, como componente de macromoléculas, proteínas,

aminoácidos e ácidos nucleicos ou na atmosfera, na forma de  $N_2$ . Na atmosfera ele está inacessível à maioria dos organismos, sendo aproveitado apenas por um pequeno grupo de microrganismos chamados diazotróficos, responsáveis pela Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), processo em que são capazes de reduzir o  $N_2$  em formas assimiláveis por plantas e outros organismos (COSTA, 2013; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A transformação do nitrogênio nas formas combinadas pode acontecer por três processos diferentes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006):

- Por descargas elétricas (chamada fixação atmosférica);
- Por processos industriais que geram os fertilizantes nitrogenados e requerem altos custos para sua produção
- FBN, mediada pelos fixadores de nitrogênio

Os diazotróficos são um grupo de bactérias com alta diversidade genética e morfológica. Dentro deste grupo existem os diazotróficos associativos, os de vida livre e os simbiontes, que fixam nitrogênio e vivem em associações simbióticas com plantas específicas, formando estruturas especializadas em seus hospedeiros (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SAWADA et al., 2003).

As bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas (BFNNL) são encontradas em simbiose mutualística com plantas da família *Leguminosae* colonizando os tecidos internos destas plantas causando modificações fisiológicas e morfológicas, conhecidas como nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A simbiose entre leguminosas e BFNNL é variável, abrigando desde espécies altamente específicas até indivíduos promíscuos.

Os fatores que influenciam o processo de fixação biológica de nitrogênio podem ser: nutricionais como a deficiência de potássio, micronutrientes e fosforo (GUALTER et al., 2008; KUSDRA, 2003; LEITE et al., 2009; SILVA et

al., 2010); fatores biológicos, relacionados com a interação entre planta e estirpe (BRITO et al., 2011); toxicidade por alumínio e a competição das estirpes com a população nativa do solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] é uma leguminosa pertencente à família Leguminosae e suas folhas jovens, vagens e grãos contêm vitaminas e minerais. Por este motivo é utilizado para consumo animal e humano como fonte de proteína (MEENA et al., 2015). A cultura do feijão-caupi no Brasil se concentra principalmente na região Norte. Para a safra 2015/16 a produção estimada é de 192 mil toneladas, 16,8% superior à safra 2014/15 (CONAB, 2016).

O feijão-caupi estabelece simbiose com alguns gêneros e espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio, como *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* e *Mesorhizobium* (COSTA et al., 2013; MELLONI et al., 2006), dentre outros. Muitas bactérias podem penetrar no interior dos nódulos e conviver harmonicamente com a planta, produzindo compostos antifúngicos ou que são utilizados para o crescimento vegetal como os gêneros *Bacillus*, *Paenebacillus* (COSTA et al., 2013) e *Enterobacter* (JARAMILLO et al., 2013). Por ser uma espécie capaz de estabelecer simbiose com variados gêneros de bactérias, o feijão-caupi tem sido utilizado como planta isca em estudos de diversidade (GUIMARÃES et al., 2012; JARAMILLO et al., 2013).

A identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio capazes de estabelecer simbiose com o feijão-caupi eficientemente, torna-se importante para redução da utilização de fertilizantes nitrogenados e conseqüentemente beneficiando para uma agricultura mais sustentável econômica e ambientalmente (LACERDA et al., 2004; SOARES et al., 2006; SOUSA; MOREIRA, 2011).

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As características químicas dos solos e os tipos de vegetação podem influenciar a composição das comunidades de rizóbios presentes em cada área analisada e o estudo destes ambientes é importante para a elaboração de planos de reabilitação de áreas impactadas por atividades como a mineração.

## REFERÊNCIAS

ANTOUN, H. et al. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non legumes: effect on radishes (*Raphanussativus*L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 204, n.1, p. 57–67, 1998.

ARAUJO, J. F. et al. Characterization of soil bacterial assemblies in Brazilian savanna ion reveals acidobacteria dominance. **Microbial ecology**, v. 64, n. 3, p. 760-770, 2012.

BARBERI, A. et al. Growth of *Bradyrhizobium elkanii* Strain BR 29 in culture media with different pH values. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, 397-405, 2004.

BENHIZIA, Y. et al. Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 27, n. 4, p. 462-468, 2004.

BRANDT, WILFRED. Manual de normas e procedimentos para licenciamento ambiental no setor de extração mineral. **Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA/IBAMA**, p.1-132, 2001.

BRITO, M. M. P.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 206-215, 2011.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos - Safra 2015/16**, oitavo levantamento, Brasília, p. 1-178, 2016.

COSTA, E. M da. **Potencial de promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos do Sudoeste piauiense**. 2013. 150p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

COSTA, E. M. et al. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

COSTA, M. L. Introdução ao intemperismo laterítico e à lateritização. In: LICHT, O. A. B.; MELLO, C. S. B.; SILVA, C. R. (Eds.). **Prospecção Geoquímica - Depósitos Minerais Metálicos, Não-Metálicos, Óleo e Gás**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Geoquímica / CPRM, 2007, p. 200 – 236.

CPRM – SERVIÇO GEOLOGICO DO BRASIL. AZEVEDO, U. R.; MACHADO, M. M. M.; CASTRO, P. T. A.; FRIEDRICH, E. R.; TREVISOL, A.; BEATO, D. A. C. **Quadrilátero Ferrífero (MG)**. SILVA, C. R. (Ed.). **Geoparques do Brasil: propostas**. Rio de Janeiro, v. 1, 2012, 748 p.

BRASIL, Decreto Federal nº **2519, de 16 de março de 1998**. Promulga a Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada no Rio de Janeiro, em 05 de junho de 1992. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/D2519.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D2519.htm)> Acesso em 17 de janeiro de 2017.

CUMMINGS, S. P. et al. Nodulation of *Sesbania* species by *Rhizobium* (*Agrobacterium*) strain IRBG74 and other rhizobia. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 2510–2525, 2009.

DE CARVALHO FILHO, A.; CURI, N.; SHINZATO, E. Relações solo-paisagem no Quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 8, p. 903-916, 2011.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL – DNPM. **Informe Mineral 1º/2015**. Brasília, 2015, 23p.

DORR, J. V. N. **Physiographic, stratigraphic, and structural development of the Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil**. Washington, n. 641-A, p. A1-A110, 1969.

GAO, J. L. et al. *Mesorhizobium septentrionale* sp. nov. and *Mesorhizobium temperatum* sp. nov., isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, n. 6, p. 2003– 2012, 2004.

GUALTER, R. M. R. et al. Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.4, p. 469-474, 2008.

GUIMARÃES, A. A. et al. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea



as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, 2012.

HALLMANN, J. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.

HARA F. A.S; OLIVEIRA L. A. Isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v.34, n.2, p.343-357, set. 2004.

HUNG, P. Q. et al. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 44, n. 1, p. 155-162, 2007.

IBÁÑEZ, F. et al. Endophytic occupation of peanut root nodules by opportunistic Gammaproteobacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 32, n. 1, p. 49-55, 2009.

JACOBI, C. M.; CARMO, F. F. The contribution of ironstone outcrops to plant diversity in the Iron Quadrangle, a threatened Brazilian landscape. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, Washington, v. 37, n. 4, p. 324-326, 2008.

JARAMILLO, P. M. D. et al. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems in the Western Amazon. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 6, p. 397-404, 2013.

JESUS, E. C. et al. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. **International Society for Microbial Ecology**, Londres, v. 3, n. 3, p. 1004-1011, 2009.

KAN, F. L. et al. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet plateau and in other zones of China. **Archives of Microbiology**, Berlin, v. 188, p. 103-115, 2007.

KUSDRA, J. F. Nodulação do feijoeiro e fixação biológica do nitrogênio em resposta à microbiolização das sementes e à aplicação de micronutrientes. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.4, p.81-96, 2003.

LACERDA A. M. et al. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

LAUBER, C. L. et al. Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. **International Society for Microbial Ecology**, Londres, v. 7, n. 8, p. 1641-1650, 2013.

LAUBER, C. L. et al. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. **Soil Biology and Biochemistry**, Austrália, v. 40, n. 9, p. 2407-2415, 2008.

LEITE, L. F. C. et al. Nodulação e produtividade de grãos do feijão-caupi em resposta ao molibdênio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.40, n.4, p.492-497, 2009.

LI, J. H. et al. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology and Biochemistry**, Austrália, v. 40, n. 1, p. 238-246, 2008.

LIM, H. S.; KIM, S.; KIM, D. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and fungal mechanism against *Fusarium Solani*, an agent of plant root rot. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.57, n. 2, p.510- 516, 1991.

LIMA, A. S. et al. Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Region as indicated by nodulation of siratro (*Macroptilium atropurpureum*). **Plant Soil**, The Hague, v. 319, n. 1, p. 127-145, 2009.

MACAMBIRA, J. B.; SCHRANK, A. Químio-estratigrafia e evolução dos jaspilitos da Formação Carajás (Pa). **Brazilian Journal of Geology**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 567-578, 2008.

MARRA, L. M. et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 353, n. 1-2, p. 289-307, 2012.

MEENA, H. K.; KRISHNA, K. R.; SINGH, B. Genetic Variability, Heritability and Genetic Advance in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **The Journal of Plant Science Research**, New Delhi, v. 31, n. 1, p. 13, 2015.

MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 235-246, 2006.

MHAMDI, R. M. et al. Colonization of *Phaseolus vulgaris* nodules by *Agrobacterium* like strains. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 51, n. 2, p. 105-111, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, F. M. S. **Nitrogen-fixing Leguminosae-nodulating bacteria**. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford: CAB International Publishing, 2006, p. 237-270.

MIGUEL, D. L.; MOREIRA, F. M. S. Influence of médium and peat pH on the behaviour of Bradyrhizobium strains. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 873-883, 2001.

MRABET, M. et al. *Agrobacterium* strains isolated from root nodules of common bean specifically reduce nodulation by *Rhizobium gallicum*. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 56, n. 2, p. 304-309, 2006.

MURESU, R. et al. Coexistence of predominantly non culturable rhizobia with diverse, endophytic bacterial taxa within nodules of wild legumes. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 63, n.3, p. 383-400, 2008.

OLIVEIRA, S. M. **Rizobactérias promovem o crescimento de feijoeiro-comum e de milho por diferentes processos**. 2011. 103 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PANIZZON, J. P. et al. Bacteria-Soil-Plant Interaction: This Relationship to Generate can Inputs and New Products for the Food Industry. **Rice Research: Open Access**, Los Angeles, v. 2016, 2016.

PEIX, A. et al. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 33, n. 1, p. 103-110, 2001.

Plano Nacional de Mineração 2030 (PNM –2030) **Geologia, Mineração e Transformação Mineral**. Brasília: Ministério de Minas e Energia, 1v., 178p, 2011.

POWLSON, D. S.; PROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987.

ROSIÈRE, C. A.; CHEMALE JR, F. Itabirito e minérios de ferro de alto teor do Quadrilátero Ferrífero—uma visão geral e discussão. **Revista Geonomos**, Belo Horizonte, v. 8, n. 2, 2000.

SAWADA, H.; KWYKENDALL, L. D.; YOUNG, J. M. Changing concepts in the Systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. **Journal of Genetic and Applied Microbiology**, Washington, v. 49, n. 3, p. 155-179, 2003.

SILVA, A. T. **Diversidade de bactérias simbióticas e não simbióticas isoladas de nódulos de siratro**. 2012. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SILVA, E. F. L. et al. Fixação biológica do N<sub>2</sub> em feijão-caupi sob diferentes doses e fontes de fósforo solúvel. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 394-402, 2010.

SILVA, M. A. P. **Diversidade e eficiência de bactérias isoladas de nódulos de diferentes leguminosas da região do Alto Solimões, AM**. 2010. 93 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SIQUEIRA, J.O. et al. Microrganismos e processos biológicos no solo: perspectiva ambiental, Brasília, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 1994. 142p.

SOARES, A. L. L. et al. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdoes (MG). I – caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 795-802, 2006.

SOARES, B. L. et al. Cowpea symbiotic efficiency, pH and aluminum tolerance in nitrogen-fixing bacteria. **Scientia Agrícola**, v. 71, n. 3, p. 171-180, 2014.

SOUSA, P. M.; MOREIRA, F. M. S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. **Extensão**, Uberlândia, v. 10, n. 2, 2011.

STAJKOVIĆ, O. et al. Isolation and characterization of endophytic non-rhizobial bacteria from root nodules of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Botanica serbica**, Belgrad, v. 33, n. 1, p. 107-114, 2009.

SYLVESTER-BRADLEY R. et al. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v.12, n. 1, p.15. 22, 1982.

TRINDADE, A. V.; GRAZZIOTTI, P. H.; TÓTOLA, M. R. Use of microbiological properties on the evaluation of degradation/reclamation of an area under iron mining. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 683-688, 2000.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, The Hague, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

WANG, L. L. et al. Endophytic occupation of root nodules and roots of *Melilotus dentatus* by *Agrobacterium tumefaciens*. **Microbial Ecology**, New York, v. 52, n. 3, p. 436-443, 2006.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

**ARTIGO 1 - Eficiência de comunidades e diversidade de rizóbios em área  
sob influência da mineração de ferro em Minas Gerais**

**Artigo submetido para a Revista Brasileira de Ciência do Solo (versão  
preliminar)**

**EFICIÊNCIA DE COMUNIDADES E DIVERSIDADE DE  
RIZÓBIOS EM ÁREA SOB INFLUÊNCIA DA MINERAÇÃO DE  
FERRO EM MINAS GERAIS**

**Jordana Luísa de Castro<sup>(1)</sup>, Mariana Gonçalves<sup>(2)</sup>, Márcia Rufini<sup>(3)</sup>,  
Amanda Azarias Guimarães<sup>(4)</sup>, Tainara Louzada Rodrigues<sup>(5)</sup>, Fatima  
Maria de Souza Moreira\*<sup>(6)</sup>**

<sup>(1)</sup> Mestranda, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras. Lavras (MG). E-mail: [jordanacastro29@gmail.com](mailto:jordanacastro29@gmail.com)

<sup>(2)</sup> Mestranda, Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Lavras. Lavras (MG). E-mail: [marigsouza@gmail.com](mailto:marigsouza@gmail.com)

<sup>(3)</sup> Pós-doutoranda, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras. Lavras (MG). E-mail: [marciarufini@gmail.com](mailto:marciarufini@gmail.com)

<sup>(4)</sup> Pós-doutoranda, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras. Lavras (MG). E-mail: [amandaazarias@gmail.com](mailto:amandaazarias@gmail.com)

<sup>(5)</sup> Graduanda em Agronomia, Universidade Federal de Lavras. Lavras (MG). E-mail: [tainara\\_lavras@hotmail.com](mailto:tainara_lavras@hotmail.com)

\*<sup>(6)</sup> Professora titular, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras. Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras (MG), Brasil. Tel.: (35) 3829-1254. E-mail: [fmoreira@dcs.ufla.br](mailto:fmoreira@dcs.ufla.br)

**RESUMO** - Os rizóbios são um grupo de microrganismos capazes de fixar nitrogênio atmosférico, beneficiando o desenvolvimento de plantas e contribuindo para o bom funcionamento dos ecossistemas. Estudos que avaliem as comunidades de microrganismos do solo que desempenham processos importantes dentro dos ecossistemas, como é o caso de bactérias fixadoras de  $N_2$ , são úteis para a compreensão dos impactos gerados por atividades que alteram a composição natural do meio. Além disso, representam recursos genéticos passíveis de utilização em processos biotecnológicos. Neste trabalho avaliamos a eficiência de comunidades e diversidade de rizóbios em área sob influência da mineração de ferro sob vegetação de Canga, Mata Atlântica, Cerrado e em área recuperada com plantio de Capim no Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais. Os solos encontrados nesta região possuem como principal característica os altos teores de ferro. A vegetação de Canga possui biota adaptada a este ambiente diferenciado, e possui poucos estudos especialmente no que se refere à diversidade de microrganismos do solo. O plantio do Capim foi realizado juntamente com espécies arbóreas que não resistiram aos sucessivos incêndios que ocorrem no local, esta área servia como depósito para o minério que era extraído e seguia para a ferrovia. Para a captura das comunidades de rizóbios nos quatro tipos de vegetação, foi utilizado o caupi (*Vigna unguiculata*). A eficiência simbiótica das comunidades de rizóbios foi avaliada em casa de vegetação e relacionada aos atributos químicos e físicos do solo através da análise de componentes principais. O uso do caupi como planta-armadilha promoveu a captura de rizóbios em todos os tipos de



vegetação. O maior e menor número de nódulos ocorreram em solos sob vegetação de Capim e Cerrado e de Canga e Mata Atlântica, respectivamente. Em relação à matéria seca da raiz, o solo sob vegetação de Cerrado foi superior as demais áreas, já em relação a matéria seca da parte aérea não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os atributos do solo com maior influência sobre as comunidades microbianas foram o teor de alumínio, considerado alto sob vegetação de Mata Atlântica e Cerrado, médio em Canga e muito baixo em Capim; a matéria orgânica, que apresentou valores muito altos em Canga e Cerrado, alto em Mata Atlântica e baixo em Capim; o pH que sob Capim indicou nível médio de acidez, sob Canga e Cerrado acidez elevada e sob Mata Atlântica acidez muito elevada. A partir do isolamento e caracterização cultural foram obtidos 380 isolados distribuídos em 27 grupos culturais. O sequenciamento parcial do gene 16S rRNA de 89 estirpes identificou os gêneros nodulíferos *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp. e *Burkholderia* sp. e representantes de bactérias associativas como *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp., *Herbaspirillum* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp.; outros gêneros encontrados foram *Brevibacillus* sp., *Novosphingobium* sp., *Chitinophaga* sp.

Termo para indexação: indicadores biológicos, áreas de mineração, fixação biológica de N<sub>2</sub>, Canga.

**SUMMARY: COMMUNITIES EFFICIENCY AND RHIZOBIUM'S DIVERSITY AREAS UNDER INFLUENCE OF IRON MINING IN MINAS GERAIS** - Rhizobia are a group of microorganisms capable of

fixing atmospheric nitrogen, benefiting the development of plants and contributing to the proper functioning of ecosystems. Studies evaluating communities of soil microorganisms that perform important processes within ecosystems, such as N<sub>2</sub>-fixing bacteria, are useful for understanding the impacts generated by activities that alter the natural composition of the environment. In addition, they represent genetic resources that can be used in biotechnological processes. In this work we evaluate the efficiency of communities and diversity of rhizobia in an area under the influence of iron mining under vegetation of Iron outcrops, Atlantic Forest, Neotropical savannah and rehabilitated area revegetated with grass planting in the Iron Quadrangle of Minas Gerais. The soils found in this region have as main characteristic the high iron contents. The vegetation of Iron outcrops has a biota adapted to this differentiated environment, and has few studies especially regarding the diversity of soil microorganisms. The planting of the rehabilitated area revegetated with grass was carried out along with tree species that did not resist the successive fires that occur in the place, this area served as deposit for the ore that was extracted and followed for the railroad. For the capture of the rhizobia communities in the four vegetation types, the cowpea (*Vigna unguiculata*) was used. The symbiotic efficiency of the rhizobia communities was evaluated in greenhouse and related to the chemical and physical attributes of the soil through the analysis of main components. The use of cowpea as a trap plant promoted the capture of rhizobia in all types of vegetation. The highest and lowest number of nodules occurred in soils under vegetation of rehabilitated area revegetated with grass and Neotropical savannah and Iron outcrops and Atlantic forest, respectively.

In relation to the dry matter of the root, the soil under vegetation of Neotropical savannah was superior to the other areas, already in relation to the dry matter of the aerial part there was no significant difference between the treatments. The soil attributes with the greatest influence on the microbial communities were aluminum content, considered high under vegetation of Atlantic forest and Neotropical savannah, medium in Iron outcrops and very low in rehabilitated area revegetated with grass; The organic matter, which presented very high values in Iron outcrops and Neotropical savannah, high in Atlantic forest and low in rehabilitated area revegetated with grass; The pH that under rehabilitated area revegetated with grass indicated average level of acidity, under Iron outcrops and Neotropical savannah high acidity and under Atlantic forest very high acidity. From the isolation and cultural characterization were obtained 380 isolates distributed in 27 cultural groups. The partial sequencing of the 16S rRNA gene from 89 strains identified the noduliferous genera *Rhizobium sp.*, *Bradyrhizobium sp.* and *Burkholderia sp.* And representatives of associative bacteria such as *Bacillus sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Herbaspirillum sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Agrobacterium sp.*; Other genus found were *Brevibacillus sp.*, *Novosphingobium sp.*, *Chitinophaga sp.*

Term for indexing: biological indicators, mining areas, biological fixation of N<sub>2</sub>, iron outcrops.

## **INTRODUÇÃO**

O termo rizóbio teve origem no nome da primeira espécie de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas descrita por Frank (1889), *Rhizobium leguminosarum*. Os fixadores de nitrogênio têm importante papel no meio ambiente e principalmente na agricultura, isso porque são capazes de converter o N<sub>2</sub> atmosférico em formas assimiláveis por plantas e animais. Esta atividade gera redução nos custos de produção na agricultura evitando a utilização dos fertilizantes nitrogenados e como consequência, diminuindo a contaminação do solo e da água com estes.

Grande parte das bactérias encontradas no solo são dependentes de interações com plantas, auxiliando no crescimento vegetal, através de processos como a solubilização de fosfatos inorgânicos, fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios vegetais, produção de compostos antifúngicos, dentre outros (Lim et al., 1991; Vessey, 2003; Hara e Oliveira, 2005; Marra et al., 2012; Costa et al., 2013; Rufini et al., 2014; Panizzon et al., 2016).

Além disso, os microrganismos melhoram aspectos nutricionais do solo favorecendo assim a ciclagem de nutrientes, beneficiando o estabelecimento das plantas, além de seu potencial como indicadores de mudanças ocorridas no ambiente, já que o tipo de vegetação, alterações de pH, teores de alumínio e matéria orgânica estão entre os fatores que mais influenciam a incidência de microrganismos no solo (Jesus et al., 2009; Lauber et al., 2008; Siqueira et al., 1994; Powlson et al., 1987).

Alguns estudos têm avaliado a diversidade e eficiência de rizóbios em ambientes distintos, utilizando o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] como planta isca, por ser uma espécie capaz de estabelecer simbiose com variados gêneros de bactérias (Guimarães et al., 2012;

Jaramillo et al., 2013; Melloni et al., 2006; Costa et al., 2013). A identificação e seleção de bactérias capazes de estabelecer simbiose com o feijão-caupi e outras leguminosas, torna-se importante para redução da utilização de fertilizantes nitrogenados, promovendo a sustentabilidade econômica e ambiental da agricultura (Sousa; Moreira, 2011; Lacerda et al., 2004; Soares et al., 2006). No caso das bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas (BFNNL), estirpes isoladas representam recursos genéticos imprescindíveis para seleção de estirpes com potencial biotecnológico, incluindo a revegetação de áreas degradadas.

A mineração é uma prática comum no Quadrilátero Ferrífero, localizado na área central do estado de Minas Gerais e que se destaca no cenário nacional e mundial por sua importância como região produtora de minério de ferro. A paisagem deste ambiente é composta atualmente por fragmentos dos “*hotspots*” brasileiros: Cerrado e Mata Atlântica, profundamente transformados por atividades humanas, com destaque para a urbanização e mineração, gerando impactos como remoção do solo e consequente perda da cobertura vegetal (Jacobi e Carmo, 2008). Os solos têm principalmente constituição ferruginosa e são, em geral, de baixa fertilidade natural, ácidos, pouco profundos e com grande influência sobre a cobertura vegetal, que é composta nas áreas de canga por plantas estas condições peculiares (Costa, 2007; De Carvalho Filho et al., 2010).

Dentro do processo de exploração mineral são feitas inúmeras alterações no ambiente, em especial no solo, e após a utilização das áreas normalmente são realizados projetos de recuperação das áreas que sofreram impacto, geralmente com a utilização de gramíneas e espécies

arbóreas. Estes ambientes precisam ser estudadas em relação à diversidade de microrganismos, já que conhecer e avaliar as funções dos microrganismos nativos destes locais pode contribuir para a seleção de estirpes que possuam potencial biotecnológico para biorremediação *in situ* e também como inoculantes de espécies utilizadas na revegetação de áreas degradadas

Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade simbiótica, genética e fenotípica de comunidades de rizóbios em solo sob vegetação de Canga, Cerrado e Mata Atlântica e em solo sob influência de mineração de ferro revegetado com Capim, no Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais, bem como verificar a influência dos atributos físicos e químicos do solo na microbiota.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Áreas de estudo**

A área de coleta está localizada nos municípios Nova Lima, no Centro de Tecnologia de Ferrosos – Miguelão e em Brumadinho na Mina Córrego do Feijão, pertencentes a Vale S/A. A vegetação presente no local de estudo foi identificada da seguinte forma: Cerrado, Canga, Mata Atlântica e Capim (Figura 1). De acordo com o Inventário Florestal de Minas Gerais do ano de 2009, a vegetação presente nesta área é denominada de Campo Rupestre (neste trabalho descrito como Canga) e Mata Atlântica; na área aqui chamada de Cerrado não há informação disponível no inventário.

A área de Capim tinha como vegetação inicial Mata Atlântica, mas esta foi retirada para implantação de um depósito de minério próximo

a área de embarque na ferrovia. Com o fim da sua utilização, houve um projeto de recuperação que envolveu processo de preparo do solo com calagem e posterior plantio de espécies arbóreas, estas não resistiram aos sucessivos incêndios e o capim plantado (*Panicum maximum* Jacq) tomou grandes proporções, predominando atualmente as espécies *Brachiaria decumbens* (braquiária), *Melinis minutiflora* (capim gordura) e *Panicum maximum* Jacq. (capim colônia). Com excessão da área de Capim, todas as áreas não sofreram nenhum impacto referente ao processo de mineração.

#### **Amostragem e caracterização físico-química do solo**

A coleta das amostras de solo aconteceu entre os dias 9 e 15 de agosto de 2015. Para a amostragem do solo, foram traçados em cada tipo de vegetação, dois transectos distantes aproximadamente 50 m entre si. Em cada transecto foram georreferenciados cinco pontos, também distantes aproximadamente 50 m, resultando em 10 pontos por tipo de vegetação. A partir de cada ponto foram coletadas cinco subamostras, distantes cinco metros entre si à uma profundidade de 0-20 cm, resultando em uma amostra composta por ponto georreferenciado, totalizando 40 amostras compostas. As amostras foram depositadas em sacos plásticos estéreis e caixas de isopor para condução ao laboratório onde foram conservadas à 4° C em câmara fria até a sua utilização. As características químicas e físicas foram analisadas no Departamento de Ciência do Solo da UFLA.

#### **Captura e eficiência das comunidades de bactérias utilizando feijão-caupi como planta isca**

O experimento foi conduzido entre outubro e dezembro de 2015,

em casa de vegetação. Este experimento foi constituído por oito tratamentos, correspondentes às inoculações com suspensões dos solos de cada tipo de vegetação, dois controles positivos, referentes à inoculação com estirpes aprovadas como inoculantes para o feijão-caupi: UFLA 03-84 (*Bradyrhizobium sp.*) e INPA 03-11B (*Bradyrhizobium elkanii*), e dois controles negativos sem inoculação, com alta (CN) e baixa concentração (SN) de N mineral. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições.

A desinfestação e o plantio das sementes em garrafas “longneck” contendo solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950) foi realizado seguindo a metodologia descrita por Florentino et al. (2009). As sementes foram pré-germinadas em papel filtro umedecido com água destilada esterilizada, sendo posteriormente dobrado e envolto em papel alumínio, permanecendo em câmara de crescimento a 28 °C até a emissão das radículas. As amostras de solo de cada ponto foram ressuspensas em solução de NaCl 0,85% (Moreira et al., 2010) na proporção de 1:1 e inoculado 1 mL por plântula. Nos tratamentos inoculados e no controle sem inoculação e com baixa concentração de N mineral, foi utilizada solução nutritiva com baixa concentração de nitrogênio (5,25 mg L<sup>-1</sup>). No controle sem inoculação e com alta concentração de nitrogênio mineral, foi utilizada solução nutritiva com alta concentração de nitrogênio (52,5 mg L<sup>-1</sup>).

Após 30 dias, as plantas foram colhidas e o número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e eficiência relativa (ER) foram determinados. Para determinação do NN, os nódulos foram destacados



das raízes e contados. Foram selecionados três nódulos por planta para isolamento. Os demais nódulos foram acondicionados em frascos de vidro, a parte aérea e raízes foram colocados em sacos de papel e mantidos em estufa de circulação forçada a 60 °C até atingir peso constante para determinação da MSN, MSR e MSPA. A eficiência relativa de cada tratamento foi calculada pela seguinte fórmula:

$$ER = (MSPA\ inoculada / MSPA\ com\ N) \times 100$$

Onde, ER: eficiência relativa; MSPA: matéria seca da parte aérea.

Os parâmetros NN, MSN, MSR, MSPA e ER foram submetidos à análise de variância (ANOVA) empregando-se o programa de análise estatística SISVAR 5.6 (Ferreira, 2011). Os dados de NN e MSN foram transformados para raiz quadrada de (X+1). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância (Scott e Knott, 1974).

### **Relação entre os atributos físico-químicos e as variáveis biológicas**

Os atributos químicos e físicos dos solos e as variáveis biológicas (NN, MSN, MSR, MSPA e ER) foram relacionados através de Correlação de Pearson, utilizando o software Paste 3.12, e Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis) – PCA, utilizando o software R (R Development Core Team 2011).

### **Isolamento e caracterização cultural das estirpes de bactérias**

Para o isolamento das estirpes, foram destacados três nódulos por planta e estes foram desinfestados superficialmente em álcool etílico (92,8%) por 30 s e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% por 3 minutos e lavados por seis vezes com água destilada esterilizada. Os reagentes e a água usados no processo de desinfestação dos nódulos foram trocados a cada tratamento e a última

água de lavagem foi plaqueada para avaliar a eficiência do processo de desinfestação. Em seguida os nódulos foram macerados e espalhados em forma de estrias compostas em placas com meio de cultura 79 (Fred e Waksman, 1928) com azul de bromotimol para a obtenção das culturas isoladas. As placas foram armazenadas em estufa com temperatura constante de 28 °C e a avaliação cultural das colônias foi feita como descrito em Jesus et al., 2005.

### **Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA**

Para identificação genética dos isolados foi realizado o sequenciamento parcial do gene 16S rRNA. A metodologia utilizada para a extração do DNA genômico é denominada Método de Lise Alcalina (Niemann et al.,1997). A amplificação do gene 16S rRNA seguiu os procedimentos descritos em Guimarães et al. (2012), utilizando os primers 27F (GAGTTTGACCTGGCTCAG) e 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) (Lane, 1991). Os produtos de PCR foram encaminhados ao laboratório da Macrogen, na Coreia do Sul, para purificação e sequenciamento. Para avaliar a qualidade das sequências obtidas foi utilizado o programa BioNumerics 7.1 (AppliedMaths, Austin, TX, EUA) e, posteriormente, estas foram submetidas ao BLASTn (Bethesda, MD, EUA) para comparação com sequências similares já depositadas no GenBank, do National Center or Biotechnology Information (NCBI).

## **RESULTADOS**

### **Análises químicas e físicas dos solos**

A interpretação da análise química do solo foi realizada com base nas recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de

Minas Gerais (Alvarez et al., 1999) (Tabela 1). Os teores de potássio ( $K^+$ ) em solos sob vegetação de MA, Cerrado, Capim e Canga foram classificados como médios, os teores de fósforo (P) disponível apresentaram-se muito baixos, os teores de enxofre (S) foram classificados como muito bons e os teores de magnésio (Mg) foram considerados baixos. Os teores de cálcio (Ca) foram classificados como médio em Canga e baixos em Capim, Cerrado e MA. Em relação aos micronutrientes, os teores de zinco (Zn) foram classificados como altos em Canga e Cerrado e como bons em Capim e MA. Os teores de boro (B) foram classificados como baixos em Canga, Cerrado e MA e muito baixo em Capim. Os teores de cobre (Cu) foram considerados alto em Capim, bons no Cerrado e MA e baixo em Canga. Os teores de manganês (Mn) foram considerados altos em todos os tipos de vegetação.

Os solos coletados têm textura média em Canga e Capim e argilosa em Cerrado e Mata Atlântica. Em relação à acidez do solo, o solo sob vegetação de Capim apresentou nível médio de acidez, sob vegetação de Canga e Cerrado apresentaram acidez elevada e em Mata Atlântica a análise revelou acidez muito elevada. A variável acidez trocável apresentou níveis elevados em Cerrado e Mata Atlântica, em Canga foi classificada como média e em Capim o valor médio foi muito baixo. Os valores médios de acidez potencial ( $H^+Al$ ) encontrados nos solos sob vegetação de Canga, Cerrado e Mata Atlântica foram classificados como muito altos e como baixo em Capim.

Em relação aos valores encontrados para a matéria orgânica, solos sob vegetação de Canga e Cerrado apresentaram valores muito altos, sob vegetação de Mata Atlântica foi alto e sob Capim apresentou o valor mais

baixo. O alto teor de matéria orgânica observado no solo sob vegetação de Canga pode estar relacionado ao fato de que esta área é caracterizada por solos pouco profundos, limitado à área de crescimento e influência das raízes das plantas onde, conseqüentemente, há uma grande concentração de matéria orgânica superficial. Em todos os tipos de vegetação os teores de ferro presentes nos solos apresentaram-se altos, especialmente em Canga devido ao tipo de solo e de rochas encontrados, caracterizado pela presença de afloramentos rochosos e bancada laterítica, o que limita inclusive o crescimento e desenvolvimento de plantas, prevalecendo neste ambiente muitas espécies já conhecidas como endêmicas de locais com estas características.

Os solos do Quadrilátero Ferrífero são em sua grande maioria derivados de itabirito (uma BIF metamórfica), o que explica a alta concentração de ferro dos solos desta região. De acordo com Alvarez et al., (1999), o nível crítico para o ferro é de  $45 \text{ mg dm}^{-3}$ .

### **Captura e eficiência simbiótica das comunidades bacterianas utilizando feijão-caupi como planta isca**

A nodulação foi negativa nos controles sem inoculação com baixa e alta concentração de nitrogênio e as estirpes referência nodularam normalmente, indicando que não houve contaminação e as condições do experimento estavam favoráveis à simbiose. Em relação ao NN, o caupi apresentou maior nodulação quando inoculado com os solos de Capim e Cerrado (Tabela 2). Já para MSN, a área de Capim apresentou o maior valor, seguida do Cerrado. A área de Cerrado se destacou em relação a MSR superando as demais áreas. Para MSPA e ER, as áreas não diferiram estatisticamente entre si. Foi observada nodulação em todas as áreas,

sendo maior em Capim, Cerrado, Mata Atlântica e Canga, respectivamente.

### **Relação entre os atributos físico-químicos dos solos e as variáveis biológicas**

Os resultados da análise de componentes principais entre os atributos físico-químicos do solo e as variáveis biológicas explicaram 48% da variância total (PC1: 33% e PC2: 15%). Estes resultados juntamente com a matriz de correlação permitiram uma melhor visualização da relação entre as características físico-químicas dos solos coletados nos diferentes ambientes e as comunidades de bactérias (Figura 2). Foram relacionados os atributos físico-químicos dos solos juntamente com MSPA, MSN, MSR, NN e ER em feijão-caupi. Analisando a PC1, os atributos biológicos (NN e MSN) estão diretamente correlacionados com pH, saturação por bases, Mn e Cu e inversamente correlacionados com acidez trocável, acidez potencial, CTC efetiva, CTC a pH 7, saturação por alumínio e matéria orgânica (Tabela 3).

A análise de Correlação de Pearson (dados não mostrados neste trabalho) entre os atributos biológicos mostrou que não houve correlação entre NN e ER ( $p = 0,24$ ) e entre MSN e ER ( $p = 0,16$ ). Analisando a distribuição espacial dos pontos na PCA, é possível inferir que os solos sob vegetação de Mata Atlântica e Cerrado têm influência das mesmas variáveis. Já no solo sob vegetação de Capim, a PCA mostra que os pontos encontram-se mais isolados do restante das áreas, provavelmente o preparo do solo para a reabilitação desta área pode ter influenciado este resultado. O solo sob vegetação de Canga se encontra isolado, possivelmente por apresentar condições físico-químicas bem diferentes

dos demais ecossistemas analisados, principalmente no que diz respeito aos teores de ferro, que apesar de serem altos em todos os ambientes foi superior nesta área. Os pontos de Mata Atlântica e Cerrado se encontram sobrepostos, podendo haver influência das mesmas variáveis nas condições edáficas.

### **Isolamento e caracterização cultural das estirpes de rizóbios**

Foram obtidas 380 estirpes bacterianas a partir do isolamento dos nódulos de feijão-caupi. Sob vegetação de Capim e Cerrado foram obtidos 161 e 125 isolados dos 10 pontos de coleta, respectivamente. Sob Canga foram obtidos 29 isolados e apenas os pontos 5 e 6 apresentaram nódulos. Em Mata Atlântica foram obtidos 65 isolados e os pontos 1, 2 e 5 não apresentaram nodulação. A partir do tempo de crescimento, alteração do pH do meio de cultura e produção de muco, foram formados 27 grupos culturais e os grupos com mais representantes foram os de crescimento lento, alcalinizadores do meio e com pouca produção de muco (23%), crescimento intermediário, alteração do meio neutra e pouca produção de muco (13%) e crescimento rápido, alcalinizadores do meio de cultura e pouca produção de muco (12%) (Figura 3), sendo a maior diversidade cultural observada em Cerrado e Mata Atlântica (18 grupos), seguidos de Capim (15 grupos) e Canga (9 grupos).

Dos 380 isolados, 35% apresentaram crescimento lento, 3% muito lento, 29% intermediário e 33% rápido. Em relação às alterações de pH do meio de cultura, 53% alcalinizaram, 12% acidificaram e 35% conservaram o meio neutro. A produção de muco também foi avaliada e em 4% dos isolados foi abundante, em 15% moderada, em 80% pouco e 0,5% dos isolados tiveram produção de muco escassa.

### Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA

O sequenciamento parcial do gene 16S rRNA foi realizado para 89 das 380 estirpes isoladas. Estas possuem representantes em 10 dos 27 grupos culturais formados (RALP, RNP, IAP, RNAB, RNM, RAP, LALP, INP, INA, IALP). As sequências analisadas variaram de 465 a 1416 pares de bases, com similaridade entre 98% e 100% com as sequências de bactérias já depositadas no GenBank (Tabela 4 e 5). Dos gêneros identificados, a maior ocorrência foi dos gêneros *Burkholderia* (Moulin et al., 2001) e *Rhizobium* (Frank, 1889), presentes em solos sob todos os tipos de vegetação, representando 46% e 27% dos isolados respectivamente.

Sob vegetação de Canga foram sequenciadas 13 estirpes e o gênero *Burkholderia* representou 92,3% dos isolados, contando com espécies associativas como *B. acidipaludis*, e *B. nodosa* (Chen et al., 2007) considerada uma BFNNL apesar de ser capaz de fixar N<sub>2</sub> em vida livre; e apenas um representante da espécie *Rhizobium miluonense* (Gu et al., 2008). Do Cerrado, 18 estirpes foram sequenciadas e também prevaleceu o gênero *Burkholderia* (83,33%), com representantes de *B. nodosa*, *B. sabiae* e *B. tropica*. Além disso, os gêneros *Rhizobium* sp. e *Bacillus* sp. também foram encontrados.

Das 9 estirpes identificadas da Mata Atlântica, 33,33% são pertencentes ao gênero *Paenebacillus*, e os outros estão distribuídos entre os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Brevibacillus*, *Chitinophaga*, *Novosphingobium* e *Burkholderia*, com apenas um representante em cada gênero. Do Capim, foram sequenciadas 49 estirpes, sendo a maioria pertencente ao gênero *Rhizobium* (40,81%). Neste ambiente os gêneros

bacterianos encontrados foram *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Herbaspirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Terriglobus*, e *Brevibacillus*.

## **DISCUSSÃO**

A partir do solo coletado, o feijão-caupi capturou estirpes de BFNNL entre outras bactérias que promovem o crescimento vegetal. Segundo Moreira e Siqueira (2006), a nodulação pode sofrer influência de fatores como a temperatura, que pode afetar vários estádios na infecção, formação e função dos nódulos, no caso de simbioses com BFNNL. No período de condução do experimento a temperatura em casa de vegetação chegou a 46 °C, o que pode ter influenciado a taxa de nodulação em alguns tratamentos, juntamente com os atributos químicos do solo, especialmente aqueles ligados à acidez e concentração de nutrientes, que podem ter influência na microbiota (Moreira, 2006; Lima et al., 2009; Jesus et al., 2009). A partir do sequenciamento parcial do gene 16S rRNA, foram identificados gêneros de bactérias fixadoras de nitrogênio simbióticas, associativas e de vida livre que atuam como promotoras do crescimento de plantas além da FBN e outros gêneros comumente isolados de nódulos.

O trabalho de Costa (2016) avaliou a diversidade de BFNNL, utilizando siratro e caupi como plantas iscas, em solos do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais verificou influência dos atributos químicos do solo na microbiota, corroborando os resultados obtidos neste trabalho. A análise de componentes principais (PCA) mostrou que os atributos químicos do solo como pH, teor de alumínio e saturação de bases, apresentaram condições mais favoráveis sob vegetação de Capim,



possivelmente por influência do preparo do solo, que incluiu o processo de calagem. Das características do solo, os fatores relacionados à acidez, tais como teor de alumínio e pH, são os que influenciam mais diretamente as comunidades microbianas, o que possivelmente favoreceu a maior taxa de nodulação nos tratamentos inoculados com solo oriundo da vegetação de Capim.

Neste trabalho, os valores na análise química mostram que o menor valor encontrado foi de  $124,7 \text{ mg dm}^{-3}$ , corroborando com a caracterização dos solos desta região realizada por De Carvalho Filho et al. (2010), que descrevem os solos da face interna da Serra da Moeda como solos rasos e em geral muito pedregosos, tendo como material de origem o itabirito, apresentando extrema concentração de ferro.

Atualmente, alguns pesquisadores vêm discutindo a proposta de reclassificar o gênero *Burkholderia* como *Paraburkholderia*. O gênero *Burkholderia* pode beneficiar o crescimento vegetal de diversas maneiras, como pela produção de sideróforos e solubilização de fosfatos (Collavino et al., 2010; Marra et al., 2011; Vial et al., 2007; Mathew et al., 2014). Este gênero representou 46% dos isolados identificados, ocorrendo em todos os tipos de vegetação. A seleção de estirpes como as do gênero *Burkholderia*, que são capazes de se adaptar a determinadas condições edáficas, pode melhorar a produtividade em condições de campo e reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados, reduzindo os custos agrícolas (Alves et al., 2016). No estudo de Reis Jr. et al. (2010), foram analisadas a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio por espécies de mimosa nos biomas de Cerrado e Caatinga do Brasil. Estes autores sugerem que os ambientes preferenciais de *Burkholderia* sp., são solos ácidos,

resultado semelhante ao do presente estudo, onde sob vegetação de Canga este gênero ocorreu com maior frequência.

O trabalho de Dall'Agnol et al. (2016), identificou o gênero *Paraburkholderia* (*Burkholderia*) ocorrendo com maior frequência, fato também observado neste estudo, e, segundo os autores, este fato pode estar associado com as características dos solos de Cerrado como pH baixo, altas concentrações de alumínio e baixa fertilidade. A altitude também pode favorecer a predominância deste gênero, refletindo em algum fator como umidade ou temperatura (Bontemps et al., 2010). Ainda de acordo com Dall'Agnol et al., (2016), a presença significativa de *Burkholderia* nestes ambientes não se trata exatamente de uma preferência destes gêneros por condições ácidas, mas sim de uma tolerância em relação a estas condições, o que pode representar um importante papel destas bactérias na manutenção do ecossistema nestes ambientes, caracterizados por solos ácidos com alta saturação de alumínio e de baixo teor de nitrogênio.

Duas espécies do gênero *Bradyrhizobium* foram identificadas sob Capim e Mata Atlântica, *Bradyrhizobium sp.* e *Bradyrhizobium elkanii*. O gênero *Rhizobium* foi o de maior frequência sob Capim, mas também foi identificado nos outros tipos de vegetação. Bactérias pertencentes a este gênero são conhecidas por serem fixadoras de nitrogênio e formarem simbiose com leguminosas, possuindo importância agrônômica por beneficiar o desenvolvimento vegetal (Zahran, 1999). Bactérias pertencentes ao gênero *Herbaspirillum* possuem ocorrência generalizada em gramíneas (Olivares et al., 1997; Baldani et al., 1996) e foram identificadas sob vegetação de Capim. Ainda em Mata Atlântica e Capim,

o gênero *Brevibacillus* também foi identificado, sendo de ocorrência comum em gramíneas além de atuar como promotora do crescimento vegetal (Lima, 2009; Nakamura, 1991; Shida et al., 1996).

Bactérias pertencentes aos gêneros *Agrobacterium*, *Pseudomonas* e *Terriglobus*, que são endofíticas de nódulos mas não simbióticas, também ocorreram sob vegetação de Capim (Kan et al., 2007; Li et al., 2008; Mahmdi et al., 2005; Wang et al., 2006; Muresu et al., 2008; Bai et al., 2002). O gênero *Bacillus* foi identificado sob Cerrado e Capim e inclui as rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, comuns na rizosfera de plantas (Jaramillo, 2013; Araújo, 2008). Alguns trabalhos relatam a nodulação de siratro e feijão caupi por alguns representantes deste gênero, juntamente com representantes do gênero *Paenibacillus*, encontrado em Capim e Mata Atlântica, mas este fato ainda precisa ser comprovado através de estudos mais aprofundados (Costa et al., 2013; Jaramillo et al., 2013; Li et al., 2008; Marra et al., 2012; Siddiqui e Mahmood, 1999; Halverson e Handelsman, 1991; Gardener, 2004; Silva et al., 2007).

O gênero *Novosphingobium* (antigo *Sphingomonas*) foi isolado sob Mata Atlântica e membros deste gênero possuem habilidade de degradar hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e são frequentemente isolados de solos contaminados por petróleo, tendo importância para a biorremediação *in situ* (Balkwill, et al., 1997; Zhou et al., 2016). Outro gênero encontrado sob vegetação de Mata Atlântica foi *Chitinophaga*. Representantes deste gênero já foram isolados a partir do solo e da rizosfera de plantas (Chung et al., 2012; Li et al., 2013; Kämpfer et al., 2006; Kim e Jung, 2007; Lee et al., 2009, 2007; Weon et al., 2009). É

importante ressaltar que, mesmo na rizosfera de leguminosas, podem haver outros fixadores de nitrogênio, assim como a rizosfera de gramíneas pode abrigar um número representativo de BFNNL (Moreira e Siqueira, 2006), o que foi observado neste trabalho, principalmente na área sob vegetação de Capim.

### **CONCLUSÕES**

1. As características químicas dos solos que influenciaram os atributos biológicos foram pH, soma de bases e teor de alumínio.
2. Os gêneros *Burkholderia* e *Rhizobium* foram os de maior ocorrência, sendo encontrados em todas áreas.
3. A presença de solos com níveis altos de acidez pode ter favorecido a grande ocorrência do gênero *Burkholderia*.

### **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a empresa Vale S.A e as agências de fomento FAPEMIG, CNPq e Capes pelo financiamento, bolsas de estudo e bolsa de produtividade em pesquisa.

### **REFERÊNCIAS**

Alvarez VVH, Novaes RF, Barros NF, Cantarutti RB, Lopes A.S. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: Ribeiro AC, Guimaraes PTG, Alvarez VVH, editores. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 1999, p. 25-32.

- Alves GC, Matos AVM, Reis Jr. FB, Urquiaga S, Reis VM. Plant growth promotion by four species of the genus *Burkholderia*. *Plant Soil*. 2016; 399:373-387. doi: 10.1007/s11104-015-2701-4
- Araújo FFD Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. *Ciência e Agrotecnologia*. 2008; 32:456-462. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>
- Bai Y, D'aoust F, Smith D, Driscoll B. Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules. *Can J Microbiology*. 2002; 48:230-238. doi: 10.1139/w02-014
- Baldani J I, Pot B, Kirchhof G, Falsen E, Baldani VLD, Olivares FL, Döbereiner J. Emended Description of *Herbaspirillum*; Inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a Mild Plant Pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb.nov.; and Classification of a Group of Clinical Isolates (EF Group 1) as *Herbaspirillum* Species 3. *Int J Syst Evol Micr*. 1996; 46:802-810. doi: [10.1099/00207713-46-3-802](https://doi.org/10.1099/00207713-46-3-802)
- Balkwill DL, Drake GR, Reeves RH, Fredrickson JK, White DC, Ringelberg DB, Spadoni C, Balkwill M. Taxonomic Study of Aromatic-Degrading Bacteria from Deep-Terrestrial-Subsurface Sediments and Description of *Sphingomonas aromaticivorans* sp. nov., *Sphingomonas subterranea* sp. nov., and *Sphingomonas stygia* sp. nov. , *Int J Syst Evol Micr*. 1997; 47:191-201. doi: [10.1099/00207713-47-1-191](https://doi.org/10.1099/00207713-47-1-191)
- Bontemps C, Elliott GN, Simon MF, Dos Reis Junior FB, Gross E, Lawton RC, James EK. *Burkholderia* species are ancient symbionts of legumes. *Mol Ecol*. 2010;19: 44-52. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04458.x

- Chen WM, de Faria SM, Chou JH, James EK, Elliot GN, Lin KY, Chou JH, Sheu SY, Cnockaert M, Sprent JI, Vandamme P. *Burkholderianodosa* sp. nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*. Int J Syst Evol Micr, Spencers Wood. 2007; 57:1055-1059. doi: [10.1099/ijs.0.64873-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.64873-0)
- Chung EJ, Park TS, Jeon CO, Chung YR. *Chitinophaga oryzae* sp. nov., isolated from the rhizosphere soil of rice (*Oryza sativa* L.). Int J Syst Evol Micr. 2012; 62: 3030-3035. doi: [10.1099/ijs.0.036442-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.036442-0)
- Collavino MM, Sansberro PA, Mroginski LA, Aguilar OM. Comparison of in vitro solubilization activity of diverse phosphate-solubilizing bacteria native to acid soil and their ability to promote *Phaseolus vulgaris* growth. Biol Fert Soils. 2010; 46:727-738. doi:10.1007/s00374-010-0480-x
- Costa, E. M.; Nobrega, R. S. A.; Carvalho, F.; Trochmann, A.; Ferreira, L. D. V. M.; Moreira FM. S. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. Pesqui Agropecu Bras, 2013; 48:1275-1284. doi: 10.1590/S0100-204X2013000900012
- Costa ML. Introdução ao intemperismo laterítico e à lateritização. In: Licht OAB, Mello CSB, Silva CR. (Org.). Prospecção Geoquímica depósitos minerais metálicos, não-metálicos, óleo e gás. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Geoquímica SBGq/CPRM Serviço Geológico do Brasil, 2007, p.200-236.
- Costa PF. Diversidade e eficiência simbiótica de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas do quadrilátero ferrífero e capturadas por siratro

(*Macrottilium atropurpureum*) e caupi (*Vigna unguiculata*) [tese].

Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2016.

Dall'Agnol RF, Plotegher F, Souza RC, Mendes IC, dos Reis Junior FB, Béna G, Hungria M. *Paraburkholderia nodosa* is the main N<sub>2</sub>-fixing species trapped by promiscuous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Brazilian “Cerradão”. FEMS Microbiol Ecol. 2016; 92:1-14. doi: 10.1093/femsec/fiw108

De Carvalho Filho A, Curi N, Shinzato E. Relações solo-paisagem no Quadrilátero Ferrífero em Minas Gerais. Pesqui Agropecu Bras. 45: 903-916. doi: 10.1590/s0100-204X2010000800017

Ferreira DF. (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia. 2010; 17: 1039-1042. doi:10.1590/s1413-70542011000600001

Florentino LA, Guimarães AP, Rufini M, Silva KD, Moreira FMS. *Sesbania virgata* stimulates the occurrence of its microsymbiont in soils but does not inhibit microsymbionts of other species. Sci Agric. 2009; 66:667-676. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162009000500012>

Frank B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. Ber Deut Bot Ges, Stuttgart. 1889; 7: 332-346.

Fred EB, Waksman SA. Laboratory manual of general microbiology. New York: McGraw-Hill. 1928; p. 143.

Gardener BBM. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural systems. Phytopathology. 2004; 94: 1252-1258. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.11.1252

Gu CT, Wang ET, Tian CF, Han TX, Chen WF, Sui XH, Chen WX. *Rhizobium miluonense* sp. nov., a symbiotic bacterium isolated from

Lespedeza root nodules. *Int J Syst Evol Micr.* 2008; 58: 1364-1368.

doi: [10.1099/ijs.0.65661-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.65661-0)

Guimarães AA, Jaramillo PMD, Nobrega RSA, Florentino LA, Silva KB, Moreira FMS. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea as the trap plant. *Appl Environ Microb.* 2012; 6726-6733. doi:

10.1128/AEM.01303-12

Halverson LJ, Handelsman J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW85 in the field and in a growth chamber. *Appl Environ Microb.* 1991; 57: 2767-2770. doi: 0099-2240/91/092767-

04\$02.00/0

Hara FAZ, Oliveira LA. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas.

*Pesqui Agropecu Bras.* 2005; 40: 667-672. doi:

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005000700007>.

Hoagland DR, Arnon DT. The water culture method for growing plants without soil. Berkley, University of California. 1950; 347, p.32.

Jacobi CM, Carmo FF. The contribution of ironstone outcrops to plant diversity in the Iron Quadrangle, a threatened Brazilian landscape.

*AMBIO: A Journal of the Human Environment.* 2008; 37:324-326. doi:

[http://dx.doi.org/10.1579/0044-7447\(2008\)37\[324:TCOIOT\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1579/0044-7447(2008)37[324:TCOIOT]2.0.CO;2)



- Jaramillo PMD, Guimarães AA, Florentino LA, Silva KB, Nóbrega RSA, Moreira FMS. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems in the Western Amazon. *Sci Agric*. 2013; 70: 397-404. doi: 10.1590/S0103-90162013000600004
- Jesus EC, Marsh TL, Tiedje JM, Moreira FMS. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *The ISME Journal*. 2009; 3:1004-1011. doi: 10.1038/ismej.2009.47
- Kampfer P, Rosseló R, Falsen E, Busse HJ, Tindall BJ. *Cohnella thermotolerans* gen. nov., sp. nov., and classification of “*Paenebacillus hongkongensis*” as *Cohnella hongkongensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Micr*. 2006; 56: 781-786. doi: 10.1099/ijs.0.63985-0
- Kan FL, Chen ZY, Wang ET, Tian CF, Sui XH, Chen WX. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai–Tibet plateau and in other zones of China. *Arch Microbiol*. 2007; 188:103-115. doi:10.1007/s00203-007-0211-3
- Kim MK, Jung HY. *Chitinophaga terrae* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Micr*. 2007; 57:1721-1724. doi:[10.1099/ijs.0.64964-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.64964-0)
- Lacerda AM, Moreira FMS, Andrade MJB, Soares ALL. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. *Revista Ceres*. 2004; 51:67-82.
- Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M. (Ed.). *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. 1991; 5:115-175.
- Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across

land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*. 2008; 40: 2407-2415. doi:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>

Lee DW, Lee JE, Lee SD. *Chitinophaga rupis* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Micr*. 2009; 59: 2830-2833.

doi: [10.1099/ijs.0.011163-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.011163-0)

Lee HG, An DS, Im WT, Liu QM, Na JR, Cho DH, Yang DC.

*Chitinophaga ginsengisegetis* sp. nov. and *Chitinophaga ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea. *Int J Syst Evol Micr*. 2007; 57: 1396-1401. doi: [10.1099/ijs.0.64688-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.64688-0)

Li JH, Wang ET, Chen WF, Chen WX. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. *Soil Biology and Biochemistry*. 2008; 40: 238-246. doi:[10.1016/j.soilbio.2007.08.014](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.014)

Li L, Sun L, Shi N, Liu L, Guo H, Xu A, Yao N. *Chitinophaga cymbidii* sp. nov., isolated from *Cymbidium goeringii* roots. *Int J Syst Evol Micr*. 2013; 63: 1800-1804. doi: [10.1099/ijs.0.040014-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.040014-0)

Lim HS, Kim S, Kim D. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and fungal mechanism against *Fusarium Solani*, an agent of plant root rot. *Appl Environ Microb*. 1991; 57:510- 516. doi: 0099-2240/91/020510-07\$02.00/0

Lima AS, Nobrega RSA, Barberi A, Da Silva K, Ferreira DF, Moreira FMS. Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Region as indicated by nodulation of siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Plant Soil*. 2009; 319: 27-145. doi: 10.1007/s11104-008-9855-2

- Lima AST. Maximização da fixação biológica do N<sub>2</sub> pela interação BPCPs X Rizóbios X FMA no caupi [dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2009.
- Marra LM, Soares CRFS, Oliveira SM, Ferreira PAA, Soares BL, Carvalho RF, Lima JM, Moreira FMS. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. *Plant Soil*. 2012; 357:289-307. doi:10.1007/s11104-012-1157-z
- Marra LM, Oliveira SM, Soares CRF, Moreira FMS. Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. *Sci Agric*. 2011; 68: 603–609. doi: 10.1590/S0103-90162011000500015
- Mathew A, Eberl L, Carlier A L. A novel siderophore-independent strategy of iron uptake in the genus *Burkholderia*. *Mol Microbiol*, 91: 805-820. doi: 10.1111/mmi.12499
- Mehlich A. (1953) Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH<sub>4</sub>. Raleigh: North Carolina Soil Testing Division. 2014; 1953:23-89.
- Melloni R, Moreira FMS, Nóbrega RSA, Siqueira JO. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 2006; 30: 235-246. doi:10.1590/S0100-06832006000200005
- Mhamdi R, Mrabet M, Laguerre G, Tiwari R, Aouani ME. Colonization of *Phaseolus vulgaris* nodules by *Agrobacterium* like strains. *Canadian J Microbiology*, 2005; 51:105-111. doi: 10.1139/w04-120
- Moreira FMS. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: Moreira FMS, Huising EJ, Bignell DE, editores.

Manual de biologia dos solos tropicais: Amostragem e caracterização da biodiversidade. Lavras, 2010; 279-312.

Moreira F MS. Nitrogen-fixing Leguminosae-nodulating bacteria. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussaard L. Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford, CAB International Publishing. 2006; 237-270.

Moreira FMS, Siqueira JO. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. Ed. Lavras, 2006; 729 p.

Moulin L, Munive A, Dreyfus B, Boivin-Masson C. Nodulation of legumes by members of the  $\beta$ -subclass of Proteobacteria. Nature. 2001; 411:948-950. doi:10.1038/35082070

Muresu R, Polone E, Sulas L, Baldan B, Tondello A, Delogu G, Cappuccinelli P, Alberghini S, Benhizia Y, Benhizia H, Benguedoguar A, Mori B, Calamassi R, Dazzo F, Squartini A. Coexistence of predominantly non culturable rhizobia with diverse, endophytic bacterial taxa within nodules of wild legumes. FEMS Microbiol Ecol. 2008; 63:383-400. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00424.x>

Nakamura LK. *Bacillus brevis* Migula 1900 taxonomy: reassociation and base composition of DNA. Int J Syst Evol Micr. 1991; 41:510-515. doi: 10.1111/j.1574-6941.2007.00424.x

Niemann S, Puehler A, Tichy HV, Simon R, Selbitshka W. Evaluation of the resolving power of three different DNA fingerprinting methods to discriminate among isolates of a natural *Rhizobium meliloti* population. Journal of Applied Microbiology. 1997; 82:477-484. doi:10.1046/j.1365-2672.1997.00141.x

Olivares FL, James EK, Baldani JI, Döbereiner J. Infection of mottled stripe disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. *New Phytol.* 1997; 135:723-737. doi: <http://www.jstor.org/stable/2559004>

Panizzon JP, Junior H LP, Knaak N, Ziegler DR, Ramos RC, Fiuza LM. Bacteria-Soil-Plant Interaction: This Relationship to Generate can Inputs and New Products for the Food Industry. *Rice Research: Open Access.* 2016; 4:1-6. doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2375-4338.1000165>

Powlson DS, Prookes PC, Christensen BT. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology and Biochemistry.* 1987; 19:159-164. doi: [10.1016/0038-0717\(87\)90076-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90076-9)

Reis Jr FB, Simon MF, Gross E, Bodey RM, Elliot GN, Neto NE, Noren A. Nodulation and nitrogen fixation by *Mimosa* spp. In the Cerrado and Caatinga biomes of Brazil. *New Phytol.* 2010; 186:934-946. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03267.x

Richards LA. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *Soil Science.* 1954, v. 78, p.154.

Rufini M, Silva MAP, Ferreira PAA, Souza AC, Soares L, Andrade MJB, Moreira FMS. Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. *Biol Fert Soils.* 2014; 50:115-122. doi: 10.1007/s00374-013-0832-4

Scott AJ, Knott MA. Cluster analysis method for grouping means in the 19 analysis of variance. *Biometrics.* 1974; 30:507-512. doi: 10.2307/2529204

Shida O, Takagi H, Kadowaki K, Komagata K. Proposal for Two New Genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinibacillus* gen. nov. Int J Syst Evol Micr. 1996; 46:939-946.

Shoemaker HE, McLean EO, Prat PF. Buffer methods for determining lime requirements of soils with appreciable amounts of extractable aluminum. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 1961; 25:274-277.

doi:10.2136/sssaj1961.03615995002500040014x

Siddiqui ZA, Mahmood I. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. Bioresource Technol. 1999; 69:167-179.

[doi: 10.1016/S0960-8524\(98\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00122-9)

Silva VN, Silva LESF, Martinez CR, Seldin L, Burity HÁ, Figueiredo MVB. Estirpes de *Paenibacillus* promotoras de nodulação específica na simbiose *Bradyrhizobium*-caupi. Acta Scientiarum Agronomy. 2007; 29:331-338. doi: 10.4024/actasciagron.v29i3.277

Siqueira JO, Moreira FMS, Grisi BM, Hungria M, Araújo RS.

Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão; Centro Nacional de Pesquisa de Soja: EMBRAPA, 1994; 145 p.

Soares ALL, Pereira JPAR, Ferreira PAA, Vale HMM, Lima AS, Andrade MJB, Moreira FMS. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I – caupi. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 2006; 30:795-802. doi:

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832006000500005>

Sousa PM, Moreira FMS. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. Extensão, Uberlândia, 2011; v. 10, n. 2.

Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil. 2003; 255:571-586. doi: 10.1023/A:1026037216893

Vettori L. Métodos de análise do solo. Rio de Janeiro: Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo. 1969.

Vial L, Groleau MC, Dekimpe V, Deziel É. *Burkholderia* diversity and versatility: an inventory of the extracellular products. J Microbiol Biotechn. 2007; 17:1407-1429.

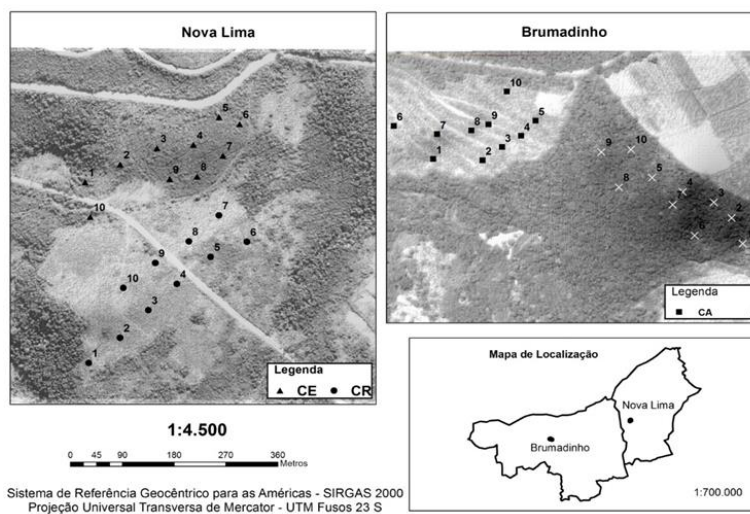
Wang LL, Wang ET, Liu J, LI Y, Chen WX. Endophytic occupation of root nodules and roots of *Melilotus dentatus* by *Agrobacterium tumefaciens*. Microbial Ecol. 2006; 52:436-443. doi: 10.1007/s00248-006-9116-y

Weon HY, Yoo SH, Kim YJ, Son JA, Kim BY, Kwon SW, Koo BS. *Chitinophaga niabensis* sp. nov. and *Chitinophaga niastensis* sp. nov., isolated from soil. Int J Syst Evol Micr. 2009; 59:1267-1271. doi: [10.1099/ijs.0.004804-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.004804-0)

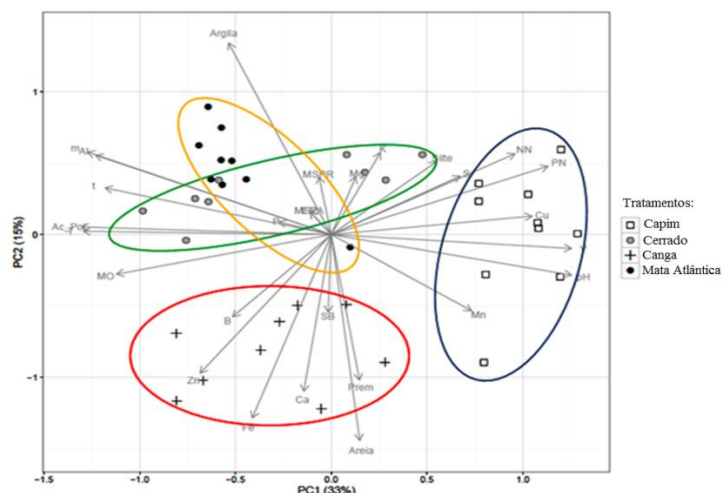
Zahran HH. Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. Microbiol Mol Biol. 1999; 63: 968-989. doi 1092-2172/99/\$04.00+0

Zhou L, Li H, Zhang Y, Han S, Xu H. *Sphingomonas* from petroleum-contaminated soils in Shenfu, China and their PAHs degradation abilities. Brazilian Journal of Microbiology. 2016; 47: 271-278. doi:[10.1016/j.bjm.2016.01.001](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.001)

## Figuras

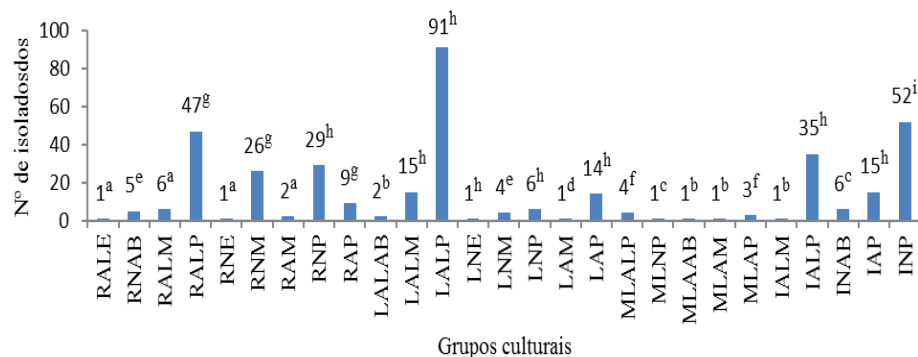


**Figura 1** Mapa mostrando a localização dos pontos de coleta nos municípios de Brumadinho-MG e Nova Lima-MG nas áreas de Cerrado (CE), Canga (CR), Mata Atlântica (F) e Capim (CA).



**Figura 2** Análise de componentes principais (PCA) relacionando características físicas e químicas do solo e as variáveis biológicas (MSPA – matéria seca da parte aérea, MSR – matéria seca da raiz, MSN – matéria seca de nódulos, NN – número de nódulos e ER – eficiência relativa) dos diferentes tipos de vegetação no Quadrilátero Ferrífero. Atributos químicos do solo – H+Al – acidez potencial, SB – soma de bases, t – CTC efetiva, M.O – matéria orgânica, P-rem – fósforo remanescente, V – saturação por bases, m – saturação por alumínio, T – CTC pH 7.





**Figura 3** Número de isolados dos solos das diferentes áreas distribuídos em 27 grupos culturais baseados no tempo de crescimento e alteração do pH do meio de cultura e produção de muco. Rápido alcalino escasso (RALE), rápido neutro abundante (RNAB), rápido alcalino moderado (RALM), rápido alcalino pouco (RALP), rápido neutro escasso (RNE), rápido neutro moderado (RNM), rápido ácido moderado (RAM), rápido ácido pouco (RAP), lento alcalino abundante (LALAB), lento alcalino moderado (LALM), lento alcalino pouco (LALP), lento neutro escasso (LNE), lento neutro moderado (LNM), lento neutro pouco (LNP), lento ácido moderado (LAM), lento ácido pouco (LAP), muito lento alcalino pouco (MLALP), muito lento neutro pouco (MLNP), muito lento ácido abundante (MLAAB), muito lento ácido moderado (MLAM), muito lento ácido pouco (MLAP), intermediário alcalino moderado (IALM), intermediário alcalino pouco (IALP), intermediário neutro abundante (INAB), intermediário ácido pouco (IAP) e intermediário neutro pouco (INP). Bactérias isoladas das áreas: <sup>a</sup> Cerrado; <sup>b</sup> Mata Atlântica; <sup>c</sup> Capim; <sup>d</sup> Canga; <sup>e</sup> Capim e Cerrado; <sup>f</sup> Cerrado e Mata Atlântica; <sup>g</sup> Capim, Cerrado e Mata Atlântica; <sup>h</sup> Capim, Cerrado, Mata Atlântica e Canga, <sup>i</sup> Capim, Canga e Mata Atlântica.

## Tabelas

Tabela 1 Análise química e física dos solos coletados nas áreas sob vegetação de Canga, Capim, Cerrado e Mata Atlântica no Centro de Tecnologia de Ferrosos – CTF Miguelão e na Mina Córrego do Feijão, da Vale S/A.

Áreas	pH <sup>1</sup>	K <sup>2</sup>	P <sup>2</sup>	Ca <sup>1</sup>	Mg <sup>1</sup>	Al <sup>1</sup>	H+Al <sup>4</sup>	SB <sup>1</sup>	t <sup>1</sup>	T <sup>1</sup>	V <sup>1</sup>	m
Canga	4,72 b	56,80 b	1,59 b	1,28 a	0,24 a	0,85 b	12,64 a	1,66 a	2,51 a	14,31 a	13,56 b	33,78 b
Capim	5,60 a	88,20 a	1,66 b	0,75 a	0,30 a	0,09 c	1,94 b	1,27 a	1,36 b	3,21 b	40,73 a	6,76 c
Cerrado	4,97 b	72,60 a	1,36 b	0,91 a	0,38 a	1,56 a	15,46 a	1,47 a	3,03 a	16,94 a	12,72 b	46,13 b
Mata Atlântica	4,21 c	75,60 a	2,15 a	0,99 a	0,45 a	1,90 a	12,26 a	1,63 a	3,53 a	13,89 a	13,64 b	59,30 a
	M.O <sup>1</sup>	P-rem <sup>2</sup>	Zn <sup>2</sup>	Fe <sup>2</sup>	Mn <sup>2</sup>	Cu <sup>2</sup>	B <sup>1</sup>	S <sup>3</sup>	Argila <sup>1</sup>	Silte <sup>1</sup>	Areia <sup>1</sup>	
	dag kg <sup>-1</sup>	mgL <sup>-1</sup>	----- mg dm <sup>-3</sup> -----				----- dag kg <sup>-1</sup> -----					
Canga	7,58 a	12,71 a	3,29 a	403,7 a	88,88 a	0,57 b	0,26 a	26,58 b	21,40 c	17,40 a	61,20 a	
Capim	1,38 c	11,03 a	1,60 b	150,8 b	104,00 a	2,14 a	0,15 a	45,14 a	24,90 c	26,20 a	48,90 b	
Cerrado	8,30 a	4,56 b	3,13 a	134,5 b	112,29 a	0,79 b	0,20 a	36,29 a	37,60 b	24,30 a	38,10 c	
Mata Atlântica	4,94 b	11,02 a	1,92 b	124,7 b	40,76 b	0,80 b	0,20 a	29,06 b	45,60 a	18,80 a	35,60 c	

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade. pH em água; Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1mol/L; SB= Soma de bases trocáveis; CTC (T) – Capacidade de Troca catiônica a pH 7,0; m= Índice de Saturação de Alumínio; P-rem: Fósforo remanescente; Mat. Org. (MO) – Oxidação: Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>4N+H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10N; S – Extrator – Fosfato monocálcico ácido acético; P – Na – K – Fe – Zn – Mn – Cu – Extrator Melich1; H + Al – Extrator: SMP; CTC (t) – Capacidade de Troca Catiônica Efetiva; V= Índice de Saturação de Bases; B – Extrator água quente. Atributos analisados de acordo com as metodologias propostas por: 1. Vettori (1969). 2. Mehlich (1953). 3. Richards (1954). 4. Shoemaker et al (1961)

Tabela 2 Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN) e eficiência relativa (ER) nas plantas inoculadas com soluções dos solos sob vegetação de Canga, Capim, Cerrado e Mata Atlântica (MA) do Centro de Tecnologia de Ferrosos da Vale AS.

Tratamentos	NN -	MSN mg planta <sup>-1</sup>	MSR ----- g planta <sup>-1</sup> -----	MSPA	ER %
Cerrado	18,56 a	0,01 b	0,22 a	0,68 a	36,80 a
Canga	1,26 b	0,00 c	0,16 b	0,70 a	37,86 a
Capim	21,89 a	0,03 a	0,18 b	0,74 a	40,12 a
Mata Atlântica	5,56 b	0,00 c	0,16 b	0,78 a	42,02 a
CV%	71,93	70,75	11,65	12,36	12,36

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3 Análise de componentes principais dos atributos físicos, químicos e biológicos dos solos sob diferentes tipos de vegetação em ambientes do Quadrilátero ferrífero.

Variáveis	PC1	PC2
	Correlação com os componentes principais	
Matéria seca da parte aérea (MSPA)	-0,11	0,16
Matéria seca da raiz (MSR)	-0,06	0,40
Número de nódulos (NN)	<b>0,96</b>	0,57
Matéria seca de nódulos (MSN)	<b>1,13</b>	0,48
Eficiência relativa (ER)	-0,11	0,16
pH	<b>1,25</b>	-0,28
K	0,26	0,57
P	-0,27	0,09
Ca	-0,14	<b>-1,10</b>
Mg	0,13	0,40
Acidez trocável (Al)	<b>-1,23</b>	0,56
Acidez potencial (H+Al)	<b>-1,30</b>	0,05
Soma de bases (SB)	-0,02	-0,54
CTC efetiva (t)	<b>-1,18</b>	0,33
CTC pH 7 (T)	<b>-1,29</b>	0,02
Saturação por bases (V)	<b>1,25</b>	-0,10
Saturação por Al (m)	<b>-1,27</b>	0,58
Matéria orgânica (M.O)	<b>-1,12</b>	-0,28
P - remanescente	0,15	<b>-1,02</b>
Zn	-0,68	<b>-0,97</b>
Fe	-0,41	<b>-1,28</b>
Mn	<b>0,73</b>	-0,53
Cu	<b>1,05</b>	0,13
B	-0,51	-0,57
S	0,67	0,41
Argila	-0,54	<b>1,34</b>
Silte	0,55	0,51

Areia	0,15	<b>-1,44</b>
Variância explicada %		
Individual	33	15
Acumulada	33	48

PC – componente principal. Os valores em negrito maiores ou iguais a 0,7 indicam forte correlação para a interpretação dos componentes principais.

Tabela 4 Identificação das estirpes nodulíferas com base nas sequencias do gene 16S rRNA mais similares encontradas no Genbank.

Código UFLA <sup>1</sup>	Área de origem	Grupos fenotípicos <sup>2</sup>	NPB <sup>3</sup>	Sequencia mais similar encontrada no GenBank		
				Espécie	SI% <sup>4</sup>	Acesso
UFLA 03-597	Canga	RNP	1304 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-598	Canga	RNP	1273 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-599	Canga	RNP	1337 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773198
UFLA 03-600	Canga	IALP	1295 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-602	Canga	INP	1295 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-603	Canga	INP	1308 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-605	Canga	INP	1296 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-606	Canga	INP	1329 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-607	Canga	INP	1264 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	GU120632
UFLA 03-608	Canga	INP	1267 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-595	Canga	INP	1278 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-604	Canga	INP	1364 <sup>F</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AM284972
UFLA 03-513	Capim	RNAB	1302 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia lata</i>	100%	AM905038
UFLA 03-516	Capim	RNAB	1280 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	NR044063
UFLA 03-521	Capim	RNP	1204 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	99%	KR232948
UFLA 03-522	Capim	RNP	1279 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i> sp.	99%	JQ518349
UFLA 03-525	Capim	RNP	1384 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i> sp.	99%	JQ518344
UFLA 03-530	Capim	RNM	1267 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	99%	KM979037
UFLA 03-531	Capim	RNM	1317 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i> sp.	99%	JQ518349
UFLA 03-536	Capim	RNM	1245 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	99%	KR232948
UFLA 03-537	Capim	RNM	1261 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	100%	KR232948
UFLA 03-538	Capim	RNM	1349 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	JN896360
UFLA 03-540	Capim	RNM	1223 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	99%	KJ128395

UFLA 03-541	Capim	RNM	1232 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium tropici</i>	99%	KT962907
UFLA 03-547	Capim	RNM	1236 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	GU120632
UFLA 03-549	Capim	RNM	1222 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	GU120632
UFLA 03-550	Capim	RNM	1243 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	GU120632
UFLA 03-554	Capim	LALP	1150 <sup>C</sup>	<i>Bradyrhizobium paxllaeri</i>	100%	NR133708
UFLA 03-571	Capim	INP	1391 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i> sp.	99%	JQ518351
UFLA 03-577	Capim	INAB	1323 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia caribensis</i>	99%	CP013103
UFLA 03-578	Capim	INAB	1292 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	99%	FJ025129
UFLA 03-579	Capim	INAB	1353 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium</i> sp.	98%	KM979037
UFLA 03-580	Capim	INAB	1236 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium tropici</i>	99%	KP687377
UFLA 03-581	Capim	INAB	1261 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	100%	GU120632
UFLA 03-587	Capim	INP	1209 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	100%	GU120632
UFLA 03-539	Capim	RNM	465 <sup>F</sup>	<i>Rhizobium multihospitium</i>	100%	JN896359
UFLA 03-544	Capim	RNM	564 <sup>F</sup>	<i>Rhizobium alarii</i>	99%	GU552885
UFLA 03-545	Capim	RNM	712 <sup>F</sup>	<i>Bradyrhizobium</i> sp. AM 7	99%	KF927053
UFLA 03-546	Capim	RNM	581 <sup>F</sup>	<i>Rhizobium multihospitium</i>	100%	EF035077
UFLA 03-636	Capim	RNM	1262 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	100%	GU120632
UFLA 03-484	Cerrado	RNP	575 <sup>F</sup>	<i>Rhizobium multihospitium</i>	99%	EF035077
UFLA 03-461	Cerrado	RALP	1314 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-463	Cerrado	RALP	1306 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-464	Cerrado	RALP	1351 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	100%	AM284971
UFLA 03-465	Cerrado	RALP	1316 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773198
UFLA 03-466	Cerrado	RALP	1348 <sup>C</sup>	<i>Rhizobium miluonense</i>	99%	KF979146
UFLA 03-467	Cerrado	RALP	1341 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-470	Cerrado	RALP	1366 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-471	Cerrado	RALP	1333 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-473	Cerrado	RALP	1304 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-474	Cerrado	RALP	1311 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AM284970
UFLA 03-476	Cerrado	RALP	1369 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i>	99%	AY773192

UFLA 03-477	Cerrado	RNP	1361 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-485	Cerrado	RNP	1381 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AM284971
UFLA 03-491	Cerrado	IALP	1295 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia nodosa</i>	99%	AY773192
UFLA 03-506	Cerrado	RALP	1701 <sup>R</sup>	<i>Paraburkholderia sabiae</i>	93%	KT390903
UFLA 03-629	MA	LALP	507 <sup>F</sup>	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	100%	KP744139
UFLA 03-609	MA	RNM	965 <sup>F</sup>	<i>Rhizobium milluonense</i>	99%	KF979146

Código UFLA<sup>1</sup> - Grupos fenotípicos<sup>2</sup>: formados à partir do tempo de crescimento, alteração do pH do meio e produção de muco: RNAB – Rápido Neutro Abundante; RALP – Rápido Alcalino Pouco; RNM – Rápido Neutro Moderado; RNP – Rápido Neutro Pouco; RAP – Rápido Ácido Pouco; LALP – Lento Alcalino Pouco; LAP – Lento Ácido Pouco; IALP – Intermediário Alcalino Pouco; INAB – Intermediário Neutro Abundante; IAP – Intermediário Ácido Pouco; INP – Intermediário Neutro Pouco. NPB<sup>3</sup>: número de pares de bases; SI (%)<sup>4</sup>: percentagem de similaridade no GenBank. <sup>C</sup>Contig – <sup>F</sup>Foward – <sup>R</sup>Reverse.

Tabela 5 Identificação das estirpes não nodulíferas com base nas sequencias do gene 16S rRNA mais similares encontradas no Genbank.

Código UFLA <sup>1</sup>	Área de origem	Grupos fenotípicos <sup>2</sup>	NPB <sup>3</sup>	Sequencia mais similar encontrada no GenBank		
				Espécie	SI% <sup>4</sup>	Acesso
UFLA 03-601	Canga	IALP	1384 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia acidipaludis</i>	98%	AB513181
UFLA 03-515	Capim	RNAB	1272 <sup>C</sup>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	99%	JX110605
UFLA 03-517	Capim	RNP	1273 <sup>C</sup>	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	99%	GU433469
UFLA 03-519	Capim	RNP	1391 <sup>C</sup>	<i>Bacteroidetes bacterium</i>	99%	FJ786046
UFLA 03-523	Capim	RNP	1355 <sup>C</sup>	<i>Bacillus subtilis</i>	99%	KP192484
UFLA 03-524	Capim	RNP	1279 <sup>C</sup>	<i>Pseudomonas fuscovaginae</i>	99%	KP197056
UFLA 03-527	Capim	RNP	1365 <sup>C</sup>	<i>Terriglobus</i> sp.	99%	AY587229
UFLA 03-528	Capim	RNP	1370 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia kururiensis</i>	99%	KP974790
UFLA 03-529	Capim	RNM	1289 <sup>C</sup>	<i>Pseudomonas koreensis</i>	99%	KC790283
UFLA 03-532	Capim	RNM	1305 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia metallica</i>	100%	NR042636
UFLA 03-535	Capim	RNM	1274 <sup>C</sup>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	99%	KJ921039
UFLA 03-548	Capim	RNM	1312 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia</i>	99%	EF178438

				<i>kururiensis</i>		
UFLA 03-551	Capim	RAP	1298 <sup>C</sup>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	99%	GU120632
UFLA 03-552	Capim	RAP	1300 <sup>C</sup>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	99%	EU882855
UFLA 03-565	Capim	INP	1294 <sup>C</sup>	<i>Bacteroidetes bacterium</i>	99%	FJ786046
UFLA 03-567	Capim	INP	1279 <sup>C</sup>	<i>Pseudomonas koreensis</i>	99%	KC790283
UFLA 03-568	Capim	INP	1289 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia kururiensis</i>	99%	EF178438
UFLA 03-569	Capim	INP	1384 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia kururiensis</i>	99%	KP974790
UFLA 03-570	Capim	INP	1322 <sup>C</sup>	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	99%	NR112211
UFLA 03-573	Capim	RAP	1335 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia gladioli</i>	99%	GQ337697
UFLA 03-594	Capim	INP	1256 <sup>C</sup>	<i>Bacteroidetes bacterium</i>	99%	FJ786046
UFLA 03-566	Capim	INP	1027 <sup>R</sup>	<i>Burkholderia kururiensis</i>	100%	EF178438
UFLA 03-486	Cerrado	RNP	603 <sup>F</sup>	<i>Bacillus sp. GM-1-2</i>	100%	KT957627
UFLA 03-507	Cerrado	RALP	759 <sup>R</sup>	<i>Paraburkholderia tropica</i>	99%	KP974788
UFLA 03-612	MA	IALP	1297 <sup>C</sup>	<i>Burkholderia kururiensis</i>	98%	AB568319
UFLA 03-613	MA	IALP	1240 <sup>C</sup>	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i>	99%	HF930753
UFLA 03-617	MA	IAP	1305 <sup>C</sup>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	99%	JN084141
UFLA 03-622	MA	INP	1281 <sup>C</sup>	<i>Chitinophaga filiformis</i>	99%	NR040909
UFLA 03-633	MA	LAP	1416 <sup>C</sup>	<i>Paenibacillus cineris</i>	99%	KF979149
UFLA 03-614	MA	IALP	1082 <sup>C</sup>	<i>Brevibacillus nitrificans</i>	99%	NR112926
UFLA 03-630	MA	LALP	1406 <sup>C</sup>	<i>Paenibacillus cineris</i>	99%	KF979149

Código UFLA<sup>1</sup> - Grupos fenotípicos<sup>2</sup>: formados à partir do tempo de crescimento, alteração do pH do meio e produção de muco: RNAB – Rápido Neutro Abundante; RALP – Rápido Alcalino Pouco; RNM – Rápido Neutro Moderado; RNP – Rápido Neutro Pouco; RAP – Rápido Ácido Pouco; LALP – Lento Alcalino Pouco; LAP – Lento Ácido Pouco; IALP – Intermediário Alcalino Pouco; INAB – Intermediário Neutro Abundante; IAP – Intermediário Ácido Pouco; INP – Intermediário Neutro Pouco. NPB<sup>3</sup>: número de pares de bases; SI (%)<sup>4</sup>: percentagem de similaridade no GenBank. <sup>C</sup>Contig – <sup>F</sup>Foward – <sup>R</sup>Reverse.