

**DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS QUE NODULAM
LEGUMINOSAS, ISOLADAS DE TRÊS SISTEMAS
DE USO DA TERRA, NA REGIÃO DO ALTO
SOLIMÕES - AM**

EDERSON DA CONCEIÇÃO JESUS

2004

EDERSON DA CONCEIÇÃO JESUS

**DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS QUE NODULAM LEGUMINOSAS,
ISOLADAS DE TRÊS SISTEMAS DE USO DA TERRA, NA REGIÃO DO
ALTO SOLIMÕES - AM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em Microbiologia
Agrícola para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof.^a Dra .Fátima Maria de Souza Moreira

Co-orientador

Prof. Dr. Marcelo Silva de Oliveira

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Jesus, Ederson da Conceição

Diversidade de bactérias que nodulam leguminosas, isoladas de três diferentes sistemas de uso da terra, na Região do Alto Solimões-AM /Ederson da Conceição Jesus . -- Lavras : UFLA, 2004.

114 p. : il.

Orientadora: Fatima Maria de Souza Moreira

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Rizóbio. 2. Diversidade. 3. Leguminosa. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-632.8
-89.95

“Uma mente para a verdade, um coração para Deus”
Reformed Theological Seminary

Aos meus pais, Elias Silva de Jesus e Verginia da Conceição
Jesus, e ao meu irmão Gláucio da Conceição Jesus, dedico.

AGRADECIMENTOS

“E aprendi que se depende sempre de tanta, muita diferente gente. Toda pessoa sempre é as marcas das lições diárias de outras tantas pessoas.”

Como diz o trecho acima, retirado de uma canção de Gonzaguinha, somos todos frutos das lições que aprendemos diariamente com outras pessoas. Não apenas lições profissionais, como é o caso de um trabalho de mestrado, mas também lições de vida.. É como bem escreveu Salomão: “como o ferro com o ferro e afia, assim o homem ao seu companheiro” (Pv. 27.17). Por isso, gostaria de expressar aqui os meus agradecimentos àqueles que colaboraram com sua ajuda, ensinamentos, amizade e colaboração para que este trabalho viesse a ser concretizado.

Primeiramente, agradeço ao meu Senhor e Salvador Jesus Cristo pela vida e pela força para conclusão deste trabalho. Agradeço aos meus pais, Elias Silva de Jesus e Verginia da Conceição Jesus, pelos ensinamentos de toda uma vida, pelo incentivo, e por suas orações; à professora Fátima Moreira pela orientação, pelo incentivo e pela amizade; ao professor Marcelo Oliveira pela co-orientação e amizade; aos professores Siu Mui Tsai e Júlio Louzada, que gentilmente aceitaram participar da banca e que contribuíram com suas sugestões; a Capes, a qual concedeu-me a bolsa de mestrado; ao projeto TSBF-CIAT/GEF-UNEP, projeto *Conservation and Sustainable Management of Below Ground Biodiversity* fase 1 n° GF/275-02/4517 e GF/11030-02-05, pelo financiamento, indispensável para a realização deste trabalho; aos pesquisadores Sérgio Miana de Faria, Ricardo Louro Berbara e Elizabeth Correa, que colaboraram para que eu pudesse chegar ao mestrado; Aos amigos da microbiologia do solo pela amizade e, em especial, a Marlene, Maria Isabel, a

Ligiane, a Adriana, a Rafaela e ao Pablo que colaboram na realização deste trabalho; às amigas e aos amigos da microbiologia agrícola, em especial a Aramália, Fernanda, Claudinelli, Cláudia e ao Alexandre, pela amizade e incentivo; Ao Roberto, quem gentilmente disponibilizou os equipamentos do laboratório de nutrição mineral de plantas para realização do trabalho; aos amigos e amigas Jair, Aldrei, Daniel, Victor, Takeshi e Fabrício, Liana e Fabrícia que acompanharam de perto a minha trajetória no mestrado, pela sua amizade, colaboração e sugestões; aos professores do Programa de Pós-graduação em Microbiologia agrícola, Rosane, Eustáquio e Romildo, e ao professor Ludwig Pfenning, pela amizade e pelo incentivo; aos amigos da Aliança Bíblica Universitária de Lavras e da Segunda Igreja Presbiteriana de Lavras, pela amizade e apoio espiritual.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1. o potencial da Amazônia para estudos da diversidade de BNL	2
2.2. Importância dos estudos de diversidade de BNL	4
2.3. Avaliação da diversidade de BNL.....	5
2.4. Utilização de características culturais para a identificação de BNL	6
2.5. Índices de diversidade.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Áreas de estudo	16
3.2. Amostragem	18
3.3. Determinação da densidade populacional de BNL e captura de BNL através de plantas isca.....	20
3.4. Avaliação da eficiência das populações de BNL	21
3.5. Isolamento das bactérias dos nódulos	21
3.6. Caracterização dos isolados de BNL.....	22
3.7. Análise dos dados.....	25
4 RESULTADOS	27
4.1. Análises química e física das amostras de solo.....	27
4.2. Número mais provável.....	27
4.3. Eficiência das populações nativas de BNL na promoção do crescimento de plantas de siratro (<i>Macroptilium atropurpureum</i>).....	32
4.4. Caracterização cultural dos isolados	33
4.5. Agrupamento dos isolados com base na caracterização morfológica	54
4.6. Ajuste de modelos de abundância de espécies às comunidades de BNL	56
4.6. Ajuste de modelos de abundância de espécies às comunidades de BNL	57
5 DISCUSSÃO	64
6 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXOS	89

RESUMO

JESUS, Ederson da Conceição. **Diversidade de Bactérias que Nodulam Leguminosas, Isoladas de Três Diferentes Sistemas de Uso da Terra, na Região do Alto Solimões - AM**: UFLA, 2004. 111p. (Dissertação - Mestrado em Microbiologia Agrícola)*

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de três sistemas de uso da terra da região do Alto Solimões, Amazonas, Brasil, sobre a diversidade de bactérias que nodulam leguminosas (BNL). Os sistemas estudados foram um cultivo de mandioca, um cultivo de pupunheira e uma floresta virgem de terra firme, escolhidos de modo a se obter um gradiente de intensidade de utilização da terra. As bactérias foram isoladas das amostras de solo utilizando-se o siratro (*Macropitium artropurpureum*) como planta-isca. A densidade de BNL foi avaliada através da técnica do número mais provável. As maiores densidades foram observadas nas áreas cultivadas. Os isolados obtidos foram caracterizados com base em suas características culturais. Foram caracterizados 257 isolados, os quais formaram 50 grupos culturais a 80% de similaridade. Foram obtidos poucos isolados a partir da floresta, em virtude da baixa nodulação do siratro, enquanto nas áreas cultivadas a nodulação do siratro foi abundante. Os maiores valores para os índices de Shannon e Margalef foram observados na área cultivada com mandioca e os menores valores na floresta. Porém, quando realizada uma análise de rarefação, o número de grupos culturais que se esperaria encontrar em cada área foi bem próximo. As curvas de acumulação de grupos culturais para as três áreas demonstraram que as comunidades de BNL foram relativamente bem amostradas, embora a coleta de um maior número de isolados possa ser significativa para a avaliação da riqueza de grupos culturais. Foi encontrada maior proporção de isolados que acidificam o meio de cultura na floresta e maior proporção de isolados que alcalinizam o meio de cultura na área cultivada com pupunheira; segundo a análise pelo teste de qui-quadrado, esta distribuição pode ser explicada pela diferença entre os sistemas de uso da terra. Foi feito o ajuste dos modelos logarítmico e log normal de abundância de espécies às comunidades de BNL estudadas. Os modelos logarítmico e log normal se ajustaram bem a todas as comunidades de BNL estudadas. Conclui-se que houve influência dos sistemas de uso da terra sobre a densidade e diversidade de BNL e que os sistemas de cultivo, comparados à floresta, favoreceram as comunidades deste grupo de microrganismos.

*Comitê Orientador: Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA (Orientadora), Marcelo Silva de Oliveira - UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

JESUS, Ederson da Conceição. **Diversity of Leguminosae Nodulating Bacteria Isolated from Three Different Land Use Systems placed in the Alto Solimões Region - AM: UFLA, 2004. 111p. (Dissertation - Master Program in Agricultural Microbiology)***

The aim of this work was to evaluate the effect of three different land use systems from the Alto Solimões Region, Amazonas State, Brazil, on the diversity of Leguminosae Nodulating Bacteria (LNB). The land use systems studied were a cassava crop, a peach palm crop and an upland forest. These were chosen with the intention of composing a gradient of land use intensification. Bacteria were isolated from nodules of *Macropodium artropurpureum*, the plant species used as the trap host. The density of LNB was evaluated with the most probable number technique. The isolates were characterized with the assessment of their cultural characteristics. The highest bacterial density was found in the crop systems. Two hundred fifty-seven isolates were characterized and these were clustered into fifty groups of isolates with eighty percent similarity. Richness and diversity indices were calculated based on the cultural groups found and accumulation curves were also plotted. Few isolates were obtained from forest because the nodulation was poor with soil solution from this system, whereas the nodulation was abundant in the crop systems. The highest richness and diversity was found in the cassava crop and the lowest ones were found in the forest. However, the richness was similar for the three land use systems when the number of isolates was determined with a rarefaction analysis. The accumulation curves for the three communities studied showed that the sampling was relatively good, though the sampling of a larger number of isolates may reflect a significant increase for the richness indices values. The largest acid-producing isolate proportion was found in the forest and the largest alkali-producing isolate proportion was found in the peach palm crop. This difference can be explained by the difference amongst the systems, in accord with the chi-square analysis. Logarithmic and log normal species abundance models were fitted to the bacterial communities studied. These models fitted well to all bacterial communities. One can conclude that the land use systems influenced the LNB density and diversity and that the crop systems favored this group of microorganisms, when these systems were compared to the forest.

*Guidance Committee: Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA (Major Professor), Marcelo Silva de Oliveira – UFLA (Co-advisor).

1 INTRODUÇÃO

A utilização de terras para a agricultura pode levar à perda da diversidade de organismos do solo e, conseqüentemente, de serviços importantes para o bom funcionamento do ecossistema. A intensificação da atividade antrópica ocasiona, geralmente, uma redução na biodiversidade vegetal e uma mudança na disponibilidade de recursos, o que leva a uma diminuição na diversidade de animais e, provavelmente, de microrganismos. Essas mudanças podem levar a alterações nas funções do ecossistema, que afetarão sua produtividade e sua sustentabilidade. Como conseqüência disso, o ecossistema terá sua capacidade de resistir e de se recuperar de perturbações diminuída (Swift & Anderson, 1994).

Um sistema agrícola não tem necessariamente que se caracterizar pela pobreza em espécies. Existe uma diversidade de sistemas agrícolas e estes podem ter diversos efeitos sobre a comunidade de organismos presentes (Moreira & Siqueira, 2002; Moreira et al., 1999). Acredita-se que a maior diversidade de organismos em um ecossistema seja responsável por uma maior estabilidade e pela maior resiliência deste ecossistema, necessárias para que este se apresente como um sistema sustentável. Os organismos do solo assumem papel importante neste processo, visto que são responsáveis por diversas atividades essenciais para o funcionamento dos ecossistemas como a fragmentação e decomposição da matéria orgânica, a disponibilização de nutrientes no solo, incluindo a fixação biológica de nitrogênio (FBN), e a agregação das partículas do solo, dentre outras (Moreira & Siqueira, 2002).

A avaliação do impacto dos diversos usos da terra sobre a população dos organismos do solo torna-se importante para o delineamento de políticas adequadas de uso da terra, que permitam a sustentabilidade dos

agroecossistemas. Pela sua importância ecológica e seu potencial de utilização na agricultura, as bactérias que nodulam leguminosas (BNL) apresentam-se como um dos grupos de organismos a serem estudados.

Segundo Kahindi et al. (1997) os benefícios futuros oriundos da simbiose BNL-leguminosas dependerão da exploração da diversidade natural de leguminosas e de estirpes de BNL presentes em solos tropicais. Assim, propõe-se avaliar, através deste trabalho, o efeito de três diferentes sistemas de uso da terra da região amazônica sobre a diversidade de BNL.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O potencial da Amazônia para estudos da diversidade de BNL

A Região Amazônica possui uma imensa diversidade de espécies vegetais. Um hectare de floresta amazônica pode conter 100 a 300 espécies diferentes de árvores, dependendo do sítio e do diâmetro mínimo de caule escolhido como limite interior para a amostragem (CIMA, 1991). Esta diversidade vegetal se traduz em uma grande diversidade animal, principalmente insetos (Erwin, 1997), devido ao grande número de nichos existentes.

Também é de se esperar que a diversidade de organismos do solo também seja afetada por esta alta diversidade vegetal. Um exemplo da riqueza de microrganismos que pode ser encontrada nos solos da Região Amazônica são os dados encontrados por Bornerman & Triplett (1997). Estes autores encontraram uma grande diversidade de seqüências de 16S rDNA de microrganismos no solo da Amazônia Oriental, inclusive seqüências de Archea. Segundo estes autores, as seqüências encontradas podem pertencer a novas espécies de microrganismos.

Dentre as famílias botânicas presentes na Amazônia a família Leguminosae é a mais rica em espécies e a quinta em densidade (Ducke, 1949; Black et al., 1950; Prance et al., 1976 citados por Moreira et al., 1992). Uma das particularidades desta família é que grande parte das espécies conhecidas é capaz de formar nódulos em simbiose com bactérias diazotróficas, comumente conhecidas como rizóbios, aqui chamadas de bactérias que nodulam leguminosas (BNL), em virtude da existência de outras bactérias que não rizóbios capazes de induzirem a formação de nódulos em leguminosas.

De acordo com Faria et al. (1989), estima-se que apenas 20% das espécies de leguminosas existentes foram examinadas para nodulação e acredita-se que muitas espécies nodulantes ainda possam ser descobertas. Grande parte das espécies examinadas são nodulantes, a saber: 97% das espécies da subfamília Papilionoideae, 90% das espécies de Mimosoideae e 23% de espécies de Caesalpinoideae (Faria et al, 1989). A grande diversidade de espécies de leguminosas na região tropical e especialmente na Amazônia pode refletir-se numa grande diversidade de BNL e os estudos sobre a nodulação de leguminosas nativas dessa região, bem como de bactérias isoladas destas leguminosas, podem contribuir grandemente para o conhecimento desta diversidade. Um exemplo deste potencial é o trabalho de Moreira et al. (1992), onde os quais verificaram que 85% das espécies estudadas nodularam quando cultivadas em solo de várzea, sendo que para 98 espécies foram obtidos os primeiros registros de nodulação.

Até pouco tempo as espécies conhecidas de BNL eram todas oriundas de regiões temperadas e poucos estudos existiam com estirpes isoladas de regiões tropicais. Posteriormente, várias espécies novas foram descobertas com o estudo de isolados de regiões tropicais (Dreyfus et al., 1988; Chen et al., 1997; de Lajudie et al., 1998; Nick, 1998; de Lajudie et al, 1994). Moreira et al. (1998), em um estudo em que examinaram a seqüência do gene 16S rDNA de 48

estirpes de BNL isoladas de várias regiões do Brasil, observaram uma grande diversidade genética entre os isolados, embora tenham encontrado poucas seqüências novas.

Atualmente sabe-se que outras bactérias pertencentes a outros gêneros, como *Burkholderia*, *Methylobacterium*, *Blastobacter*, *Devosia* e *Ralstonia*, também podem induzir a formação de nódulos em leguminosas (Sy et al., 2001a; Sy et al., 2001b; Chen et al., 2001; Moulin et al., 2001; Rivas et al., 2002; van Berkum & Eardly, 2002), sendo todos estes encontrados dentre estirpes isoladas de regiões tropicais. Estas descobertas recentes mostram que a diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio em simbiose com leguminosas pode ser bem maior do que se esperava e que os estudos com isolados de regiões tropicais podem contribuir muito para o conhecimento desta diversidade.

2.2 Importância dos estudos de diversidade de BNL

O estudo da diversidade de BNL apresenta os seguintes pontos de importância:

Novos isolados podem apresentar potencial para serem utilizados como inoculantes de espécies de leguminosas cultivadas e florestais. Os isolados obtidos podem ser selecionados para serem utilizados como inoculantes de leguminosas cultivadas para a produção de alimentos, adubação verde e para a revegetação de áreas degradadas. Lacerda et al. (2004), estudando a eficiência na fixação biológica de nitrogênio (FBN) de estirpes de BNL isoladas da região amazônica em caupi (*Vigna unguiculata*), selecionou, dentre estes isolados, estirpes de alta eficiência, que apresentaram desempenho superior ao da estirpe oficialmente recomendada para a espécie. Também, a utilização de espécies vegetais nativas para a revegetação de áreas degradadas torna o aproveitamento

desta diversidade de suma importância, uma vez que estirpes eficientes ainda não foram selecionadas para as mesmas.

A descoberta de diazotróficos simbióticos pertencentes a novos gêneros também pode apresentar novas aplicações. Por exemplo, os pesquisadores responsáveis pela descoberta de nodulação de leguminosas por bactérias do gênero *Burkholderia* sugeriram a hipótese de que leguminosas noduladas com esta bactéria poderiam ser utilizadas para a revegetação de solos contaminados, visto que bactérias deste gênero possuem a capacidade de degradar determinados compostos orgânicos (sciencenet. 2002).

Progresso dos estudos de taxonomia de BNL e compreensão da história evolutiva deste grupo. Segundo Kahindi et al. (1997), as limitações da taxonomia de BNL são amplamente devidas à limitação do número de isolados que foram estudados. Os estudos de isolados oriundos de regiões tropicais como a Amazônia podem contribuir muito para o conhecimento da diversidade de organismos deste grupo bem como para a compreensão da evolução dos mesmos. As bactérias isoladas podem ser guardadas em coleções e constituem fonte de material genético (informação genética) e material para futuros trabalhos com fixação biológica de nitrogênio.

2.3 Avaliação da diversidade de BNL

Existem diversas técnicas que podem ser utilizadas tanto para a caracterização como para a avaliação da diversidade de bactérias, que se baseiam em características fenotípicas ou em características genotípicas. Atualmente esta avaliação tem sido fortemente influenciada pelo uso de técnicas moleculares. De acordo com Woese (1987), a capacidade de se realizar o seqüenciamento de ácidos nucleicos teve um grande impacto sobre a

microbiologia e sobre a classificação dos microrganismos. Diferentemente do que ocorre com os organismos superiores, a morfologia das bactérias, embora bastante diversa (Moreira & Siqueira, 2002), não permite o uso de caracteres morfológicos para uma classificação filogenética adequada destes organismos. Com o advento da tecnologia de seqüenciamento de ácidos nucléicos o problema da filogenia de bactérias tornou-se tratável (Woese, 1987).

Alguns exemplos de técnicas que podem ser utilizadas para a caracterização e para a avaliação da diversidade de microrganismos são a avaliação de características culturais, a avaliação da composição celular de ácidos graxos, a avaliação de perfis de proteína total por eletroforese em gel de poliacrilamida - SDS-PAGE (Sodium Dodecil Sulphate – Poliacrylamide Gel Electrophoresis), a eletroforese de enzimas multilocus (MLEE), a eletroforese em campo pulsado, o polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD), a amplificação de elementos repetitivos do genoma (rep-PCR), o polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP), a amplificação de espaçadores intergênicos (ITS-PCR), o polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) e a hibridização DNA-DNA (de Bruijn, 1997; Harrison et al., 1992; Laguerre et al., 1993; Laguerre et al., 1994; Moreira et al., 1993; Moreira et al., 1998; Odee et al., 1997; Parker & Lunk, 2000; Pereira, 2000; Vinuesa et al., 1998).

2.4 Utilização de características culturais para a identificação de BNL

Embora se afirme que características culturais e morfológicas não sejam diversas o bastante para permitirem uma classificação filogenética adequada dos microrganismos (Woese, 1987), isto não significa que estas características não tenham sua importância. Na verdade, a avaliação das características culturais e

morfológicas é o primeiro passo para a identificação de novas taxa de microrganismos. Microbiologistas experientes são capazes de identificar os microrganismos com os quais trabalham sem técnicas sofisticadas e se baseiam em características culturais e morfológicas. Estas características podem indicar diferenças fisiológicas importantes entre microrganismos, que podem ser detectadas posteriormente através de estudos mais refinados (Pelczar et al., 1981). Por não precisar de aparelhos sofisticados para a sua realização e por ser de baixo custo, a caracterização cultural é extremamente útil em laboratórios que não têm acesso a tecnologias sofisticadas.

Atualmente, busca-se uma taxonomia polifásica e as características culturais fazem parte dos caracteres utilizados para esta classificação (Vandamme et al., 1996). Embora as técnicas moleculares possam dar uma idéia da diversidade existente em diversos ambientes, por si só elas não têm muito valor se não estiverem associadas aos estudos clássicos de microbiologia. Atualmente, um grande número de seqüências de 16S rDNA está depositado nos bancos de dados de seqüências de genes, mas muitas destas seqüências são de microrganismos ainda não cultivados e, por isso, não têm um maior aplicabilidade. Daí a importância do isolamento do microrganismo e de sua caracterização com as várias técnicas disponíveis.

Dentre as características culturais que podem ser avaliadas temos a produção de exopolissacarídeos, o tamanho, o formato, a cor, e o tempo de formação de colônias e a alteração do pH do meio de cultura (Vincent, 1970; Moreira et al., 1993; Odee et al., 1997; Martins et al., 1997). Características importantes para essa avaliação em BNL são a alteração do pH do meio de cultura com extrato de levedura e manitol, com azul de bromotimol como indicador, e a taxa de crescimento das colônias, que indicam claramente diferenças fisiológicas entre gêneros (Jordan, 1984).

Desde o início do estudo das BNL percebeu-se que estas poderiam ser diferenciadas com base na capacidade de alterar o pH do meio de cultura. Em 1965, Norris sugeriu a divisão de BNL em dois grandes grupos, BNL produtores de ácidos e BNL produtores de álcali os quais, posteriormente, foram classificados como *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, respectivamente (Norris, 1965). Com o estudo de novas estirpes isoladas e com o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, novas espécies foram descobertas e descobriu-se que dentro das estirpes classificadas como *Rhizobium* estavam outros gêneros, *Sinorhizobium* e *Allorhizobium* (de Lajudie et al., 1998). Atualmente, o gênero *Allorhizobium* foi reclassificado e novamente incluído no gênero *Rhizobium*, juntamente com o gênero *Agrobacterium* (Young et al., 2001), embora esta nova classificação ainda seja um pouco controversa e discutida por especialistas na área. No gênero *Mesorhizobium* foram incluídos isolados que apresentavam características similares às de *Rhizobium*, porém apresentavam características fenotípicas diferenciadas, inclusive algumas estirpes apresentando taxa de crescimento intermediária, sugerindo a existência de diferenças metabólicas importantes (Jarvis et al., 1997; de Lajudie et al., 1998; Young et al., 2001).

Atualmente, no caso de BNL, estas podem ser divididas em quatro grandes grupos com base nas características culturais: gêneros *Rhizobium* e *Sinorhizobium*, isolados de crescimento rápido que acidificam o meio de cultura; *Mesorhizobium*, isolados de crescimento intermediário, que acidificam ou não alteram o pH do meio de cultura; *Bradyrhizobium*, isolados de crescimento lento, que alcalinizam o meio de cultura; e *Azorhizobium*, isolados de crescimento rápido a intermediário, que alcalinizam o meio de cultura (Dreyfus et al., 1988; Moreira, 1991; Odee et al, 1997; Moreira & Pereira, 2001). Porém, há exceções a estas regras (Moreira, 1991; Padmanabhan et al., 1990) e também há as novas espécies que não pertencem ao grupo dos rizóbios e podem apresentar características peculiares. Um exemplo são estirpes do gênero

Burkholderia, as quais alteram o pH do meio e cultura de maneira diferenciada (Moreira, comunicação pessoal).

As diferenças na mudança de pH do meio de cultura entre culturas de crescimento rápido e de crescimento lento se devem à utilização preferencial de açúcares, por isolados de crescimento rápido e de compostos nitrogenados, constituintes do extrato de leveduras, por isolados de crescimento lento (Tan & Broughton, 1981; Padmanabhan et al., 1990). Porém, a reação observada pode variar com o meio de cultura utilizado e exceções à regra podem ser encontradas (Moreira, 1991; Padmanabhan et al., 1990). De acordo com Tan & Broughton (1981), rizóbios de crescimento rápido requerem menos N, P e K e são mais seletivos na utilização de açúcares do que isolados de crescimento lento. Segundo estes autores, a taxa de crescimento lenta estaria relacionada com a baixa eficiência na utilização de substratos.

A produção de polissacarídeos, além de servir como base para diferenciação entre isolados, pode estar relacionada à tolerância à acidez (Cunningham & Munns, 1984), à indução e desenvolvimento de nódulos (Gray & Rolfe, 1990; Kosenko et al., 2003) e a mudanças fisiológicas na planta hospedeira (Kosenko et al., 2003).

A avaliação das características culturais de isolados de bactérias diazotróficas foi utilizada com sucesso por Melloni (2001), Melloni et al. (2004) e Nóbrega et al. (2004) na diferenciação de isolados provenientes de áreas de mineração em diferentes estágios de reabilitação, localizadas no estado de Minas Gerais. Melloni (2001) conseguiu diferenciar as áreas de mineração através da avaliação de características culturais de BNL isolados dessas áreas. Melloni et al. (2004) e Nóbrega et al. (2004) encontraram uma grande diversidade cultural de diazotróficos associativos nestas áreas de mineração e Nóbrega et al. (2004) verificaram que houve relação entre os grupos culturais encontrados e os grupos formados após a caracterização através do perfil de proteína total em

eletroforese em gel de poliacrilamida. Dentre os isolados encontrados por Nóbrega et al. (2004) há, inclusive, alguns que podem representar novas espécies.

2.5 Índices de diversidade

Existe uma variedade de formas de se realizar a análise dos dados de diversidade de comunidades biológicas (Magurran, 1987) e recentemente se tem discutido a aplicabilidade dessas abordagens para o estudo de comunidades de microrganismos (Kennedy & Smith, 1995; Watve & Gangal, 1996; Izsák & Papp, 2000; Hughes et al., 2001; Hill et al., 2003). Nos últimos anos, vários trabalhos têm sido publicados com este enfoque (Coutinho et al., 1999; Hughes et al., 2001; Andrade et al., 2002; Hill et al., 2003). Hughes et al. (2001) compararam comunidades de organismos superiores, para os quais estas abordagens foram desenvolvidas, e concluíram que a aplicação das mesmas para os estudos de comunidades microbianas é possível.

No caso das BNL, os estudos de diversidade se restringem, em sua maioria, a comparações do número de espécies ou estirpes encontradas em comunidades diferentes (Odee et al., 2002; Aguilar et al., 2001; Moreira et al., 1998; Gao et al., 2001; Bala et al., 2002; Tamimi, 2002). Em alguns outros estudos o índice de Shannon é empregado, o qual também considera a componente uniformidade da diversidade (Andrade et al., 2002). Contudo, neste trabalho apenas consideram a comunidade com maior valor para o índice como a mais diversa, sem a realização de uma comparação estatística. Foi encontrado apenas um trabalho em que esta comparação foi realizada (Coutinho et al., 1999). O índice de Shannon é normalmente distribuído e, por isso pode ser analisado através de testes paramétricos – e.g., o teste t de Student e a ANOVA

(Magurran, 1987; Odum, 1988). Quando a utilização destes testes não é possível, pode-se utilizar a técnica de Jack-Knife para estabelecer intervalos de confiança, o que permite a comparação estatística dos índices (Magurran, 1987; Coutinho et al., 1999).

As medidas de diversidade, de acordo com Magurran (1987), podem ser divididas em 3 tipos principais: índices de riqueza de espécies, modelos de abundância de espécies e índices baseados na abundância proporcional de espécies.

Os **índices de riqueza de espécies** são essencialmente uma medida do número de espécies presente na comunidade. A determinação do número total de espécies de uma comunidade é extremamente útil (Magurran, 1987), mas geralmente isto não é possível, principalmente para comunidades microbianas. Neste caso, o número de espécies é *estimado* com base em amostras retiradas da comunidade estudada e a estimativa é realizada através do uso de *índices* ou *estimadores de riqueza de espécies*. Exemplos destes estimadores são os índices de Margalef e Menhinick (Magurran, 1987).

Uma desvantagem da utilização do número de espécies como uma medida de diversidade é que ele é muito sensível a variações no tamanho das amostras. Quanto maior o tamanho das amostras, maior será o número de espécies encontrado e, no caso de comunidades microbianas, este problema é significativo devido ao grande tamanho dessas comunidades. Assim, é importante definir o tamanho adequado das amostras, de modo que elas sejam representativas da comunidade, o que pode ser feito através do *Pielou's pooled quadrature method* (Magurran, 1987).

No caso de BNL a maior amostragem depende do número de nódulos de onde as bactérias são isoladas (Coutinho et al., 1999) e da utilização do maior número possível de espécies vegetais diferentes como plantas-isca (Handley et al., 1998). Quanto maior o número de nódulos examinados e quanto maior o

número de espécies vegetais utilizadas como plantas-isca, maior será a diversidade de isolados encontrados. Para conseguir capturar grande número de espécies da comunidade é necessário utilizar várias espécies vegetais como plantas-isca, várias diluições, pois os grupos de isolados variam de acordo com a diluição das amostras de solo (Dowdle & Bohlool, 1985; Bala et al.; 2001), e examinar todos os nódulos formados.

Infelizmente, não é possível capturar toda a diversidade de uma comunidade de BNL devido à laboriosidade da utilização de muitas espécies de planta-isca e da análise de grande número de nódulos e devido ao longo período de tempo exigido para realização do trabalho. Além disso, nem todas as BNL presentes no solo possuem a capacidade de nodular leguminosas (Laguerre et al., 1993; Sullivan et al., 1996).

Recentemente, Zézé et al. (2001) conseguiram avaliar a diversidade de *Rhizobium leguminosarum* a partir de DNA extraído diretamente do solo, com o auxílio de *primers* específicos para o gene NodD. Esta se apresenta como uma alternativa para superar o problema da especificidade da planta-isca, porém encontra o problema da variabilidade na seqüência dos genes Nod (Young, comunicação pessoal).

Os **modelos de abundância de espécies** são extremamente interessantes porque mostram padrões seguidos pela comunidade, os quais podem revelar características interessantes sobre ela. Hughes et al. (2001) enumeraram impedimentos para a utilização desses modelos, porém Hill et al. (2003) consideram possível a utilização desses modelos para o estudo de comunidades microbianas. De acordo com Hill et al. (2003), “esses modelos devem ser utilizados mesmo quando a cobertura da comunidade é baixa porque eles mostram toda a distribuição, ajudando nas comparações por revelarem tendências, bem como mudanças específicas em classes de abundância particulares”.

Magurran (1987) apresenta quatro tipos principais de modelos: a série geométrica, a série logarítmica, a série log normal e o *broken stick* (figura 1). Alguns autores afirmam que as comunidades microbianas são geralmente descritas pelo modelo log normal (Parkin & Robinson, 1994; Curtis et al., 2002; Hill et al., 2003). Hill et al. (2003) verificaram que além da série log normal, a série logarítmica também se ajustou à comunidade de bactérias de solo contaminado com zinco. A alternância entre os padrões de distribuição apresentados para uma dada comunidade pode revelar o efeito de impactos ambientais sobre as comunidades e também é possível determinar se um ou poucos fatores estão controlando a distribuição dos indivíduos e espécies dentro da mesma (Magurran, 1987).

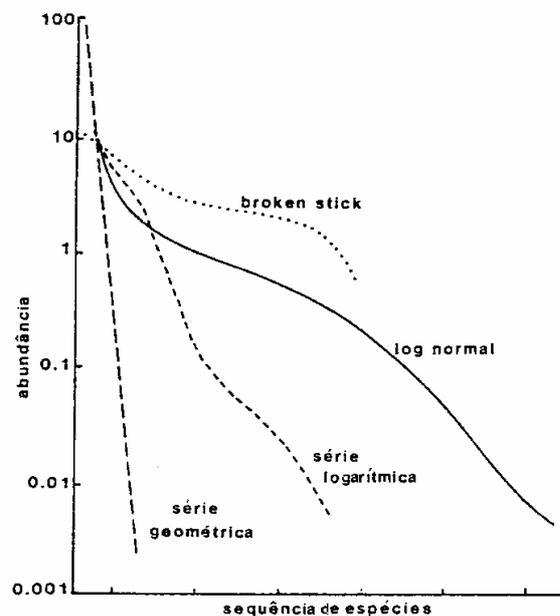


FIGURA 1. Gráfico ilustrando a forma típica de quatro modelos de abundância de espécies: série geométrica, série logarítmica, série log normal e *broken stick* (Magurran, 1987).

Os **índices não paramétricos** são considerados por Hughes et al. (2001) como os mais promissores para estudos de comunidades microbianas. Dentre estes os mais conhecidos são os índices de Shannon e de Simpson. O índice de Shannon é o mais amplamente utilizado, principalmente em estudos de diversidade de BNL. Porém, Hill et al. (2003) criticam a sua utilização, destacando seus pontos fracos, e concluem que o índice de Shannon é útil para medidas de diversidade, embora não totalmente compreensível. Outro índice que se mostrou promissor para a utilização com microrganismos é o índice de riqueza Chao1 (Hughes et al., 2001; Hill et al. 2003).

Surgiram, atualmente, novos índices que combinam a abundância proporcional de espécies com a diversidade filogenética (Watve & Cangal, 1996; Iszák & Papp, 2000; Hill et al., 2003). Estes índices permitem trabalhar com dados obtidos através de técnicas de biologia molecular e análise filogenética. A utilização destas técnicas é ampla nos estudos com microrganismos e estes novos índices permitem uma análise interessante dos dados obtidos através delas. Hill et al. (2003) apresentam alguns índices deste tipo; e. g. o índice baseado na dissimilaridade média (Watve & Cangal, 1996) e o índice quadrático de entropia (Iszák & Papp, 2000).

O índice baseado na dissimilaridade média (Watve & Cangal, 1996) é apresentado como uma solução para a análise de diversidade de comunidades de organismos sem uma definição taxonômica precisa. Este é caso dos microrganismos, para os quais os estudos se baseiam na definição de unidades taxonômicas operacionais, a qual pode variar com a técnica utilizada para a caracterização destes microrganismos e com o nível de similaridade definido para a diferenciação entre indivíduos (Watve & Cangal, 1996; Hughes et al., 2001). O índice é baseado na obtenção de médias dos coeficientes de dissimilaridade e na variância destes de modo que a média fornece uma medida

de diversidade *per se* e a variância fornece informação adicional sobre a comunidade.

O índice quadrático de entropia considera a soma das diferenças entre espécies como uma medida adequada de diversidade. A relação entre as espécies, considerada como a distância taxonômica entre elas, tem influência no valor do índice de modo que este liga o conceito de índices de diversidade ecológica e de medidas de biodiversidade (Iszák & Papp, 2000; Hill et al., 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de estudo

O presente trabalho fez parte de um projeto mais amplo, cujo título é *Conservation and sustainable Management of Below-Ground Biodiversity* (BGBG), implementado pelo *United Nations Programme* e executado em sete países: Brasil, Costa do Marfim, Índia, Indonésia, Kênia, México e Uganda. No Brasil, a coordenação está a cargo da Universidade Federal de Lavras.

O objetivo do BGBD é promover o conhecimento e a compreensão da biodiversidade do solo, importante para a produção agrícola sustentável em áreas tropicais, através da demonstração de métodos para a conservação e manejo sustentável. Deste modo, vários grupos de organismos do solo são contemplados pelo projeto. Dentre os grupos a serem estudados estão as bactérias fixadoras de nitrogênio, em especial as bactérias que nodulam leguminosas (BNL), as quais foram contempladas pelo presente trabalho. As áreas de estudo no Brasil estão localizadas na região amazônica e incluem comunidades indígenas do município de Benjamin Constant, no estado do Amazonas. As áreas estudadas no presente estudo estão localizadas em uma dessas comunidades indígenas.

O sítio localiza-se a aproximadamente 1.100Km a oeste de Manaus, no município de Benjamin Constant, na base do Rio Solimões (figura 2). Não há estradas disponíveis para o acesso ao local, o qual é realizado através de barco ou avião. A intensidade de uso da terra é baixa, mas a prática da agricultura itinerária é comum. As comunidades indígenas estão organizadas em associações, interagindo com pesquisadores desde 1995, através do Projeto para

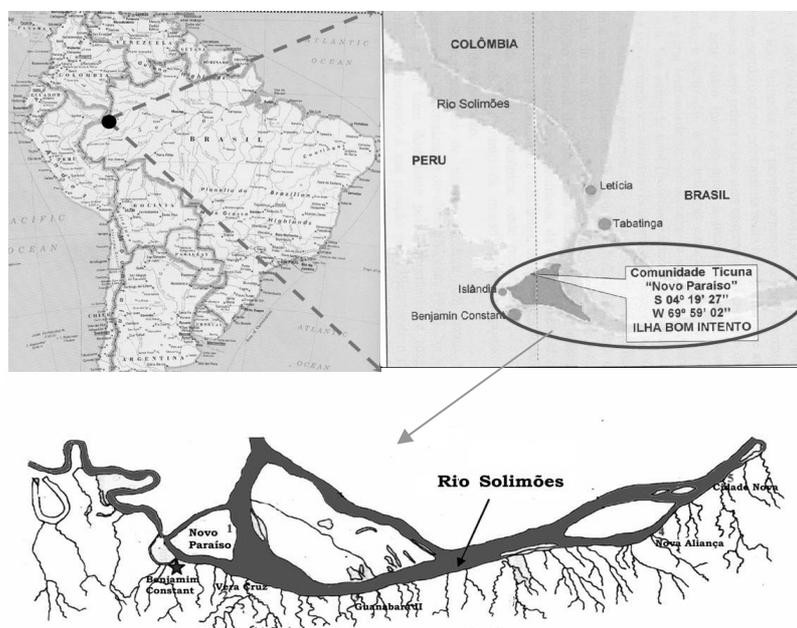


FIGURA 2. Localização do município de Benjamin Constant e algumas comunidades indígenas da região. O presente trabalho foi realizado na comunidade indígena Guanabara II, atualmente, Guanabara III (UNEP-GEF TSBF-CIAT PROJECT, 2002).

o Desenvolvimento Sustentado do Alto Solimões - PRODESAS, praticando agricultura de pequena escala, agrofloresta, *logging* e extrativismo vegetal.

As áreas avaliadas estão localizadas na comunidade Guanabara III (anteriormente chamada Guanabara II). A comunidade, existente há 22 anos, é formada por representantes dos índios Ticuna, e é, atualmente, reserva da Fundação Nacional do Índio (FUNAI) desde o segundo semestre de 2003. Esta comunidade foi escolhida por ser uma das maiores comunidades da região e, por isso, com uma utilização mais intensa das terras para o cultivo.

As amostras de solo foram coletadas de três diferentes sistemas de uso da terra: uma área de mata de terra firme e duas áreas cultivadas com mandioca

(*Manihot esculenta*) e pupunheira (*Bactris gasipaes*). Estas áreas foram escolhidas de modo a constituírem um gradiente de intensidade de utilização da terra.

A floresta representa o ecossistema natural. O cultivo da pupunheira, uma cultura perene, representa um cultivo em que há uma menor intensidade de utilização da terra. O cultivo de mandioca, uma cultura anual, representa um cultivo tradicional da região, onde há uma intensidade maior de utilização da terra. A caracterização destas áreas é apresentada na tabela 1.

3.2 Amostragem

Foram coletadas 4 amostras compostas por área de estudo. Cada amostra constituiu-se de 20 amostras simples, coletadas à profundidade de 0-20cm. As amostras simples foram coletadas aleatoriamente dentro um quadrado de 5X5m. Este tipo de amostragem foi escolhido porque se adequou bem às áreas cultivadas, as quais são de tamanho relativamente pequeno, formando uma “colcha de retalhos” na paisagem.

A serrapilheira foi retirada antes da coleta das amostras e os instrumentos de coleta foram flambados antes e após a coleta de diferentes amostras compostas para evitar a contaminação entre amostras e com BNL exóticas. Trezentos gramas de cada amostra composta foram destinados para a análise microbiológica e 200g, para a análise das características físicas e químicas do solo no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As amostras destinadas para a análise microbiológica foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis Millipore, e armazenadas em recipientes de isopor com gelo, para sua conservação, e levadas o mais rápido possível para o laboratório, onde foram conservadas a 4°C.

TABELA 1. Caracterização das áreas de floresta de terra firme e cultivo de mandioca e pupunha onde foi avaliada a diversidade de BNL, localizadas no município de Benjamin Constant – AM.

Ecossistema	Localização Geográfica		Caracterização
	Elevação (m)	Coordenadas geográficas	
Floresta de terra firme	84	S 04° 25' 20,8'' W 069° 54' 49,7''	Vegetação característica de mata de terra firme. Floresta virgem.
Cultivo de mandioca	93	S 04° 24' 44,9'' W 069° 54' 42,3''	Anteriormente era uma capoeira. Foi cultivada com bananeira por 5 anos e a cultura plantada na ocasião da coleta das amostras era a mandioca-brava, presente na área há 9 meses. Juntamente com a mandioca havia batata-doce revestindo o solo. Na área havia presença de plantas jovens de <i>Inga edulis</i> , leguminosa nodulante.
Cultivo de pupunheira	85	S 04° 25' 03,9'' W 069° 54' 42,1''	A área era recoberta por vegetação nativa de terra firme. Depois, foi desmatada para o plantio de mandioca (9 meses). Posteriormente, foi plantada pupunheira, a qual na ocasião da coleta das amostras, estava na área a 5 anos.

3.3 Determinação da densidade populacional de BNL e captura de BNL através de plantas isca

O experimento foi montado em sacos plásticos estéreis da Millipore, de 300mL, com solução nutritiva de Jensen, sem nitrogênio (Jensen, 1942; Vincent, 1970). Foram colocadas 2 plantas de siratro (*Macropodium artropurpureum*) por saco, as quais posteriormente foram inoculadas com diluições das amostras de solo. Foram adicionados mais dois tratamentos: uma testemunha absoluta, para garantia da ausência de contaminação e para comparações com as plantas inoculadas, e uma testemunha com nitrogênio mineral, para comparações com as plantas inoculadas. As plantas cresceram em uma câmara de crescimento com temperatura de 22°C e regime de 12 horas de luz.

Cada uma das amostras de solo coletadas foi submetida a diluições decimais seriadas antes da inoculação da planta-isca. Foram diluídos 60g de cada amostra em 60mL de solução de salina NaCl 0,85% (Zuberer, 1994). Os frascos contendo as amostras de solo foram agitados por 30 minutos, a 50 RPM. Posteriormente, foi transferido 1mL de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9mL de solução salina, constituindo uma diluição de 10 vezes (10^{-1}). O processo de diluição foi repetido sucessivamente até a obtenção da diluição de 10^{-6} . As plantas foram inoculadas com 1mL de cada diluição (1mL/ saco plástico). Foram Utilizadas 3 repetições por diluição, ou seja, para cada diluição das amostras de solo havia três sacos plásticos com plantas de siratro.

O aparecimento de nódulos nas raízes foi avaliado periodicamente e as plantas foram coletadas 60 dias após a montagem do experimento. A densidade da população de BNL foi estimada através da técnica do número mais provável (Woomer et al., 1990), com a utilização do programa *Most Probable Number Enumeration System* - MPNES (Bennett et al., 1990).

Os nódulos foram utilizados para o isolamento das estirpes de BNL e a parte aérea das plantas foi coletada para a avaliação da eficiência das populações em promover o crescimento do siratro.

3.4 Avaliação da eficiência das populações de BNL

O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições. Para esta avaliação foram consideradas as plantas inoculadas com a diluição de 10^{-1} . Cada uma das áreas de coleta de amostras de solo – floresta, mandioca e pupunha - constituíram um tratamento e cada uma das amostras de solo foi considerada como repetição. A parte aérea das plantas inoculadas com a diluição de 10^{-1} foi seca em estufa a 65°C e pesada para determinação da matéria seca. Também foram adicionados mais dois tratamentos controle (uma testemunha absoluta, em substrato esterilizado e sem inoculação com BNL) e uma testemunha com nitrogênio mineral (para comparação com os tratamentos inoculados com as populações de BNL). As testemunhas com nitrogênio mineral receberam nitrogênio na forma de uma solução de nitrato de potássio (KNO_3), de modo que em cada saco plástico houvesse 70 ppm de nitrogênio ou 0,5% de KNO_3 (Vincent, 1970).

3.5 Isolamento das bactérias dos nódulos

Todos os nódulos formados nas plantas-isca foram utilizados para o isolamento de BNL. Estes nódulos foram primeiramente imersos em álcool etílico 95%, por 30 segundos, com o objetivo de quebrar a tensão superficial, imersos posteriormente em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por 1 minuto, para desinfestar a superfície do nódulo, e depois lavados várias vezes em água

esterilizada para a retirada do H₂O₂. Os nódulos então foram esmagados, com o auxílio de uma pinça devidamente esterilizada, em placas contendo meio de cultura YMA ou 79 (Fred & Waksman, 1928; Vincent, 1970) com azul de bromotimol, pH 6,8; o material interno foi riscado nas placas para a obtenção de colônias isoladas.

3.6 Caracterização dos isolados de BNL

Após o isolamento, os isolados foram caracterizados de acordo com suas características culturais. As características avaliadas foram alteração do pH do meio e cultura, produção de goma (polissacarídeos extracelulares), taxa de crescimento e características das colônias (tamanho, formato, borda, elevação, superfície, transmissão de luz e coloração das colônias). A caracterização foi realizada 7 dias após a inoculação do meio de cultura. Quando as colônias apareceram após este período, a caracterização foi realizada com 12 dias de crescimento.

Abaixo são apresentadas as características estudadas, baseadas em Moreira (1991), Moreira et al. (1993) e Pereira (2000), com uma maior discriminação em relação ao pH, coloração de colônia e produção de goma realizada no presente trabalho. Na figura 3 são apresentadas fotos de alguns isolados, exemplificando as faixas de produção de goma utilizadas, dentre outras características.

Avaliação do pH - foi realizada através da comparação da coloração do meio de cultura com cada isolado de BNL com placas com meio YMA com pH ajustado para os valores 5,0, 6,0, 6,3, 6,5, 6,7, 6,8, 7,0, 7,2, 7,5, 8,0 e 9,0. O pH de 5,0 foi considerado muito ácido; os pHs de 6,0 a 6,7, pouco ácidos; o pH 6,8, neutro; os pHs de 7,0 a 7,2, pouco básicos; e os pHs de 7,5 a 9,0, muito básicos.

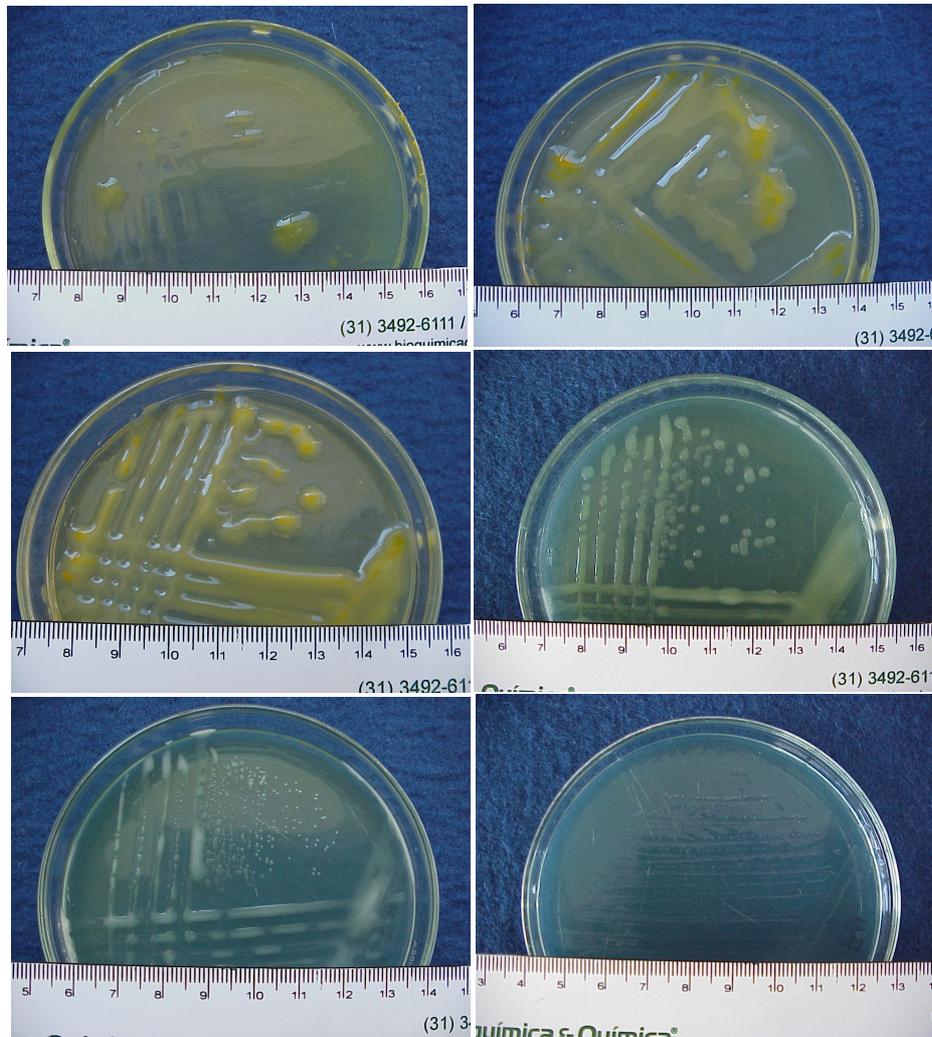


FIGURA 3. Isolados de bactérias que nodulam leguminosas e algumas de suas características culturais. Da direita para a esquerda, de cima para baixo: M73 – goma abundante, efusa. M93 – goma abundante. M87 – muita goma. M52 – goma intermediária. M3 – pouca goma. BR5410 – seca ou muito pouca goma.

Coloração das colônias- a coloração foi avaliada com o auxílio de uma carta de Munsell e expressa na forma de matiz, valor e croma indicada na carta. A coloração também foi classificada como branca, creme e amarela, que foram as cores bservadas nos isolados estudados.

Taxa de crescimento - foram consideradas as seguintes faixas de dias de aparecimento de colônia: 1 dia, crescimento muito rápido; 2-3 dias, crescimento rápido; 4-5 dias, crescimento intermediário; 6-10 dias, crescimento lento; mais de 10 dias, crescimento muito lento. A produção de goma foi dividida em 6 faixas: goma abundante, muita goma, produção intermediária, pouca goma, seca e muito seca.

Transmissão de luz - as colônias foram caracterizadas como opacas, semitranslúcidas e translúcidas. Foram consideradas opacas as colônias que não permitiram nenhuma passagem de luz através de si; translúcidas, aquelas que permitiram passagem total de luz; e semitranslúcidas, aquelas que permitiram passagem de luz nas bordas das colônias, mas com o centro da colônia opaco. As demais características foram avaliadas de acordo com Eklund & Lankford (1967).

Os isolados foram agrupados com base na caracterização cultural, juntamente com estirpes tipo e/ou referência de espécies já descritas de BNL: CIAT899^T (BR322^T), *Rhizobium tropici*, LMG 6214^T (BR 10055^T), *Rhizobium galegae* bv *orientalis*, USDA205^T (BR 112), *Sinorhizobium fredii* cv *fredii*, USDA1037^T (BR 525^T), *Sinorhizobium medicae*, ATCC33669^T (BR7801^T), *Mesorhizobium loti*, USDA76^T (BR29), *Bradyrhizobium elkanii* e ATCC10324^T (BR111^T), *Bradyrhizobium leguminosarum*. Os dendrogramas foram construídos através do método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean), com a utilização do coeficiente de Jaccard, com o programa estatístico NTSYS (*Numerical Taxonomic and Multivariate Analysis System, version 2.0, Applied Biostatistics, New York*).

3.7 Análise dos dados

As amostras foram consideradas separadamente para efeito de contagem de células de BNL no solo (densidade), do cálculo de eficiência das populações e de avaliação do resultado da análise de fertilidade das amostras de solo. Os dados de densidade foram utilizados para avaliação da correlação deste parâmetro com características químicas e físicas do solo.

Avaliou-se a diferença estatística entre os teores de cálcio, alumínio, fósforo, potássio, matéria orgânica e valores de pH entre as áreas estudadas através da análise de variância e do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram feitas através dos programas SAEG (Universidade Federal de Viçosa) e SISVAR (Universidade Federal de Lavras).

Para o cálculo dos índices de diversidade e para o ajuste de distribuições, as amostras dentro de cada área foram consideradas de forma conjunta, ou seja, os isolados de cada amostra de floresta foram considerados conjuntamente, e das amostras da área cultivada com mandioca os isolados da área cultivada com pupunheira. Neste caso, as amostras passaram a ser o número de isolados obtidos em cada área, o que corresponderia a um isolado por nódulo.

Os dados de caracterização cultural foram utilizados para o ajuste de modelos de abundância às comunidades de BNL e para a aplicação de índices de diversidade, de acordo com Magurran (1987). Os modelos de distribuição ajustados foram os modelos de distribuição logarítmica e de distribuição log normal. Os índices utilizados foram os parâmetros α e λ , das distribuições logarítmica e log normal; o índice de riqueza de Margalef; o índice de diversidade de Shannon-Weaver; o índice de homogeneidade de Shannon e o índice de dominância de Berger-Parker. Os índices de Shannon foram submetidos ao teste t de Student com o objetivo de avaliar se eram estatisticamente diferentes entre si.

Os índices de Shannon e o número de grupos culturais observados para diferentes números de isolados, utilizados para construção das curvas de variação do índice de Shannon em função do número de isolados e das curvas de acumulação, foram calculados com o auxílio do programa EstimateS, versão 5.0 (Colwell, 1997). Para isto, cada isolado foi considerado como sendo oriundo de um nódulo. O programa seleciona os isolados ao acaso de modo a constituir amostras com um até o número total de isolados. Os dados foram aleatorizados 100 vezes. Para efeito de comparação é apresentada a curva de acumulação de espécies vegetais de um banco de sementes estudado por Colwell & Coddington (1994), para dar uma idéia da quantidade de informação contida nas amostras das comunidades de BNL. A comunidade do banco de sementes foi bem amostrada e serve como uma referência para avaliação da eficiência da amostragem realizada para as comunidades de BNL.

Para comparação entre as áreas na seleção de grupos diferentes de BNL foi utilizado o teste de qui-quadrado.

4 RESULTADOS

4.1 Análises química e física das amostras de solo

Os resultados da análise das amostras de solo coletadas nas três áreas estudadas são apresentados na tabela 2. Os solos das três áreas estudadas apresentaram acidez elevada e altos teores de alumínio, associados a altos teores de cálcio e magnésio. A acidez potencial também se apresentou elevada. A saturação por alumínio se apresentou alta na área cultivada com pupunheira e média na área de floresta e cultivada com mandioca. As áreas apresentaram teores médios de matéria orgânica no solo. Os teores de Zn, Mn e Fe são altos em todos os solos. Os teores de Cu são médios e os teores de B, baixos nas áreas de floresta e cultivada com pupunheira e altos e médios na área cultivada com mandioca. As CTC efetiva e em pH 7,0 se apresentaram muito elevadas, embora a saturação por bases tenha sido baixa. Não houve diferença significativa entre as áreas para os valores de pH, cálcio, K, P, Fe e matéria orgânica. Houve diferença estatisticamente significativa apenas entre os teores de alumínio; o solo da floresta apresentou menores teores de alumínio que as áreas cultivadas. A textura das amostras das áreas cultivadas com mandioca e pupunheira é argilosa, enquanto a textura do solo da floresta é predominantemente média.

4.2 Número mais provável

Os resultados do número mais provável (NMP) para a contagem de células de BNL nos três sistemas de uso da terra, com os seus respectivos

TABELA 2. Resultado da análise química de amostras de solo coletadas em áreas de floresta e cultivadas com pupunha na região do Alto Solimões – AM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott, a 5 % de probabilidade.

Análises	Floresta					Mandioca					Pupunha				
	F1	F2	F3	F4	X	M1	M2	M3	M4	X	P1	P2	P3	P4	X
pH H ₂ O	4,5	4,7	4,6	4,7	4,6A	4,5	4,4	4,7	4,7	4,6A	4,9	4,8	4,5	5,1	4,8A
P (mg.dm ⁻³)	5,2	4,3	4,3	4,3	4,5A	4,3	6,5	5,5	5,2	5,4A	5,5	4,0	4,9	3,7	4,5A
K (mg.dm ⁻³)	56,0	47,0	59,0	48,0	52,5A	39,0	52,0	64,0	50,0	51,3A	84,0	42,0	64,0	38,0	57,0A
Na (mg.dm ⁻³)	3,7	3,7	5,5	3,7	4,2A	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7A	5,5	5,5	5,5	3,7	5,1A
Ca ⁺² (cmol _c .dm ⁻³)	2,5	3,6	2,5	2,1	2,7A	3,8	5,1	4,9	5,3	4,8A	6,9	3,6	2,2	6,2	4,7A
Mg ⁺² (cmol _c .dm ⁻³)	1,3	1,6	1,4	1,8	1,5A	0,9	2,0	2,1	2,0	1,8A	1,7	1,5	0,8	2,1	1,5A
Al ⁺³ (cmol _c .dm ⁻³)	4,0	3,4	3,3	4,7	3,9B	7,9	5,8	4,7	7,3	6,4A	4,5	8,4	8,8	5,4	6,8A
H ⁺ Al (cmol _c .dm ⁻³)	15,3	13,7	13,7	17,1	15,0	23,9	21,4	17,1	23,9	21,6	15,3	23,9	26,7	19,1	21,3
SB (cmol _c .dm ⁻³)	4,0	5,3	4,1	4,0	4,4	4,8	7,3	7,2	7,4	6,7	8,8	5,2	3,2	8,4	6,4
CTC (t) (cmol _c .dm ⁻³)	8,0	8,7	7,4	8,7	8,2	12,7	13,1	11,9	14,8	13,1	13,3	13,6	12,0	13,8	13,2
CTC (T) (cmol _c .dm ⁻³)	19,3	19,0	17,8	21,1	19,3	28,7	28,7	24,3	31,4	28,3	24,1	29,1	29,9	27,5	27,7
V (%)	20,6	28,0	22,9	19,1	22,7	16,8	25,3	29,6	23,8	23,9	36,6	29,1	29,9	27,5	30,8
IS Al (%)	50,0	39,0	45,0	54,0	47,0	62,0	44,0	40,0	49,0	48,8	34,0	62,0	73,0	39,0	52,0
IS Na (%)	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2

Continua...

M. orgânica (dag.dm ⁻³)	2,9	3,1	2,7	2,2	2,7A	2,6	3,6	3,1	3,1	3,1A	4,1	2,4	3,4	1,6	2,9A
P-rem. (mg.L ⁻¹)	12,2	12,9	12,2	11,5	12,2	10,9	11,5	13,2	9,4	11,3	9,9	7,2	7,2	7,7	8,0
Zn (mg.dm ⁻³)	4,1	4,0	4,6	4,2	4,2A	3,0	8,2	3,7	4,6	4,9A	3,2	2,9	3,7	2,8	3,2A
Fe (mg.dm ⁻³)	81,0	156,8	139,2	170,6	136,9A	135,9	107,6	132,1	86,1	115,4A	51,4	85,1	138,3	97,8	93,2A
Mn (mg.dm ⁻³)	59,0	53,9	70,8	55,4	59,8A	16,7	31,3	25,7	19,8	23,4B	42,1	27,0	33,1	21,8	31,0B
Cu (mg.dm ⁻³)	0,9	1,4	1,3	0,9	1,1B	1,6	1,7	1,9	1,4	1,7A	1,1	0,8	0,8	1,2	1,0B
B (mg.dm ⁻³)	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1C	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5A	0,1	0,3	0,3	0,4	0,3B
S (mg.dm ⁻³)	3,3	3,7	3,3	4,1	3,6A	3,7	4,5	4,1	4,1	4,1A	8,4	4,1	5,8	3,3	5,4A
Areia (%)	28	23	27	34	28,0	-	15	-	20	17,5	4	4	4	4	4,0
Silte (%)	37	41	38	32	37,0	-	43	-	37	40,0	39	43	46	36	41,0
Argila (%)	35	36	35	34	35,0	-	42	-	43	42,5	57	53	50	60	55,0
Classe textural	M	A	M	M	M	-	A	-	A	A	A	A	A	A	A

P-Na-K-Fe-Zn-Mn-Cu – Extrator Mehlich 1. Ca-Mg-Al – Extrator KCl 1N. H+Al – Extrator SMP. B – Extrator água quente. S – Extrator fosfato monocálcico em ácido acético. SB = soma de bases trocáveis. CTC (t) – Capacidade de troca catiônica efetiva. CTC (T) – Capacidade de troca catiônica a pH 7,0. V – Índice de saturação de bases. IS Al – Índice de saturação de alumínio. IS Na – Índice de saturação de sódio. M. orgânica – Oxidação Na₂Cr₂O₃ 4N + H₂SO₄ 10N. P-rem. – Fósforo remanescente

intervalos de confiança, são apresentados na figura 4. A faixa de transição para os padrões de nodulação encontrados ao longo das séries de diluição foi determinada com o objetivo de avaliar a confiabilidade dos resultados.

De acordo com Woomer (1994), a faixa de transição é o número de passos da série de diluição entre o primeiro resultado não inteiramente positivo e o último resultado não inteiramente negativo. Os padrões encontrados, as faixas de transição e suas respectivas probabilidades são apresentados na tabela 3.

Das doze amostras, cinco apresentaram probabilidade inferior a 0,001, a qual é recomendada por Woomer (1994) como limite para a rejeição de resultados. Porém, como este limite de probabilidade ainda é baixo, foram somente conside-

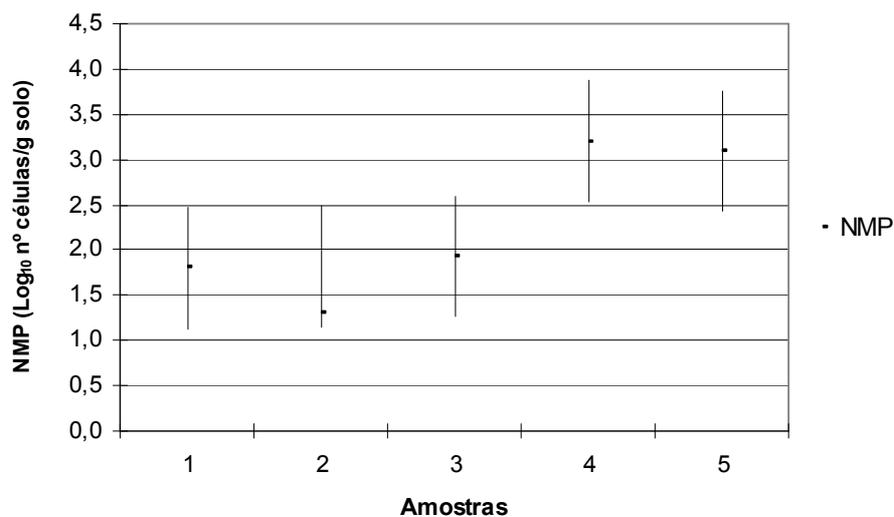


FIGURA 4. Número mais provável (NMP) de células de BNL em floresta e áreas cultivadas com mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM. 1-2. Floresta.. 3-4. Mandioca. 5. Pupunheira.

TABELA 3. Padrão de nodulação, número mais provável (NMP) de células de BNL, faixa de transição (ROT) e probabilidade dos padrões de nodulação para amostras de solo de áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunha na região do alto Solimões – AM.

Ecossistema	Amostra	Padrão	NMP	Log		
				NMP	ROT	P
Floresta	I	1-1-2-0-0-0	63,25	1,80	3	0,023
	II	1-3-1-0-0-0	85,56	1,30	3	0,023
	III	1-1-0-0-1-1	56,96	1,76	6	0,00002
	IV	0-0-0-1-1-0	69,49	1,84	6	0,00002
Mandioca	I	1-2-2-0-0-0	84,58	1,93	4	0,023
	II	0-2-2-1-1-0	78,31	1,89	5	0,0002
	III	2-3-3-0-1-0	238,42	2,38	5	0,0002
	IV	3-3-0-1-0-0	1588,24	3,20	2	0,193
Pupunha	I	3-2-2-1-0-0	1235,92	3,09	3	0,023
	II	2-3-2-0-2-0	274,34	2,44	4	0,002
	III	2-3-3-0-1-0	247,03	2,39	5	0,0002
	IV	2-3-3-2-2-0	422,12	2,63	4	0,002

rados os valores de NMP que apresentaram probabilidade de ocorrência maior ou igual a 0,023. Dos padrões observado,s os que atenderam a este critério foram as amostras 1 e 2 de floresta, 1 e 4 de mandioca e 1 de pupunheira. Os valores encontrados variaram de 1,298 a 3,201 células₁₀ por grama de solo. Os maiores valores foram encontrados nas áreas cultivadas com mandioca e pupunheira e os menores, na área de floresta.

Os dados de densidade apresentaram correlação apenas com o teor de cálcio, sendo esta correlação positiva (figura 5). A correlação foi significativa no nível de 8% de probabilidade. Verificou-se relação linear entre y e x, suportada pela probabilidade de 8% encontrada para o coeficiente angular.

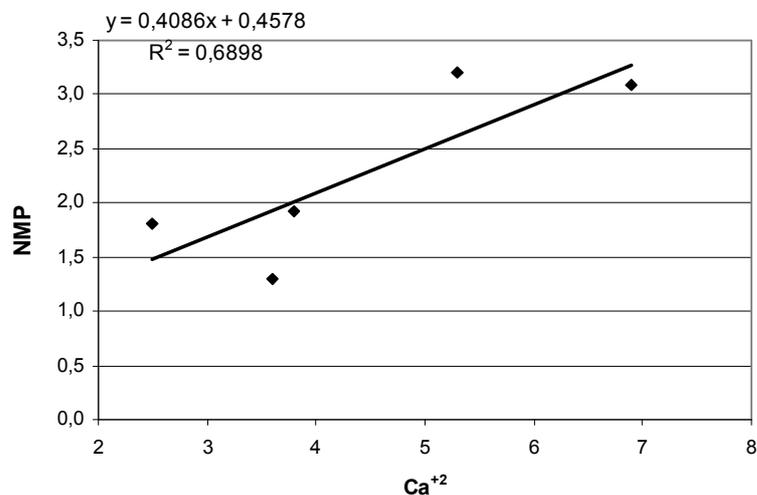


FIGURA 5. Correlação do número mais provável (NMP) de células de BNL com teores de cálcio.

4.3 Eficiência das populações nativas de BNL na promoção do crescimento de plantas de siratro (*Macropodium artropurpureum*).

As populações nativas de BNL não foram eficientes na promoção do crescimento das plantas de siratro. O acúmulo de matéria seca na parte aérea das plantas inoculadas não diferiu estatisticamente do apresentado pelas testemunhas não inoculadas (figura 6). O maior acúmulo de matéria seca ocorreu nas plantas inoculadas com nitrogênio mineral.

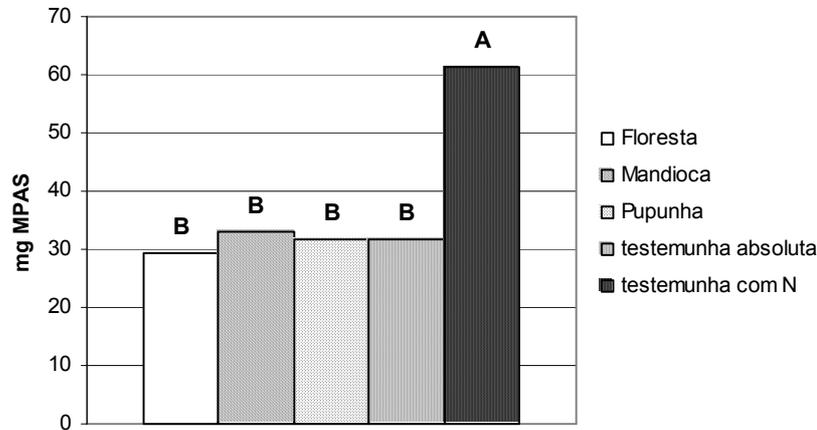


FIGURA 6. Eficiência das populações de BNL de áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunha na promoção do crescimento de siratro (*Macropitilium atropurpureum*). Média de quatro repetições. Letras iguais indicam que não houve diferença pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 53,67%.

4.4 Caracterização cultural dos isolados

Foram caracterizados 257 isolados a partir dos nódulos de siratro, considerando as três áreas, floresta, cultivo de mandioca e cultivo de pupunheira, com a utilização de meio de cultura YMA com pH 6,8. Estes foram agrupados pelo método UPGMA. A razão da escolha do nível de 80% de similaridade é que grupos fenotípicos formados a aproximadamente este nível de similaridade são comumente equivalentes a uma mesma espécie de bactéria (Goor et al., 1990).

Cinqüenta grupos foram formados a 80% de similaridade (tabela 4 e 5). Os isolados presentes em cada grupo cultural e as suas principais características são apresentados na tabela 4. As áreas cultivadas com mandioca e pupunheira apresentaram maior número de nódulos, aumentando assim a probabilidade de

TABELA 4. Grupos culturais de isolados de BNL encontrados em áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunha na região do Alto Solimões – AM e principais características dos isolados de cada grupo.

Grupo	Isolados	Características
1A	F14, F20, M102, F17, M62, P88, M74, P77, P85.	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, opacas, com goma intermediária a abundante, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
2A	F26, P67.	Crescimento rápido a intermediário (1 e 5 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, opacas, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
3A	F15, F21, F27, F32, M61, M65, M75, M84, M90, P66, P68, P72, P73, P82, P84, P89, P91, P93, F28, M67, P79, P80, P87, P92, M100, M109, P83, P86, P94	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, opacas e semitranslúcidas, com goma intermediária a abundante, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
4A	M56, M77, M83, M105, M110	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, semitranslúcidas, com goma intermediária a muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador

Continua...

TABELA 4, Cont.		
5A	F30, F31, M101, P90, M96	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, opacas ou semitranslúcidas, muita goma, coloração creme, superfície concêntrica. Absorvem indicador.
6A	P71	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, opacas, muita goma, coloração creme (5Y 8,5/2), superfície lisa. Não absorve indicador.
7A	M53, M97	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, semitranslúcidas, goma abundante, consistente, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
8A	M82	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, grandes, semitranslúcidas, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
9A	M57, M81, M106, M94, M103, M104	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, de tamanho grande, semitranslúcidas, com goma intermediária, coloração creme (5Y 8/4), superfície lisa. Absorvem indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.		
10A	M92, M93, M111, M113, M112	Crescimento rápido (2 dias), acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, convexas, de tamanho médio, opacas ou semitranslúcidas, goma abundante, coloração creme, consistentes, superfície lisa. Absorvem indicador.
11A	F19, F22, M86	Crescimento rápido (2 dias) ou intermediário (5 dias), acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, consistentes, opacas ou semitranslúcidas, com goma intermediária, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
12A	M59, M78, P104, P107, M63, M66, M68	Crescimento rápido (2 dias), acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas ou semitranslúcidas, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
13A	P99	Crescimento rápido (2 dias), acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, grandes, planas, opacas, com goma abundante, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
14A	F16	Crescimento muito rápido (1 dia), acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, semitranslúcidas, com goma intermediária, coloração creme, consistentes, superfície lisa. Não absorvem indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.		
15A	F25	Crescimento muito rápido (1 dia), acidificam muito o meio de cultura. Colônias de tamanho médio, convexas, semitranslúcidas, com goma intermediária, coloração creme (5Y 9/2), superfície lisa. Absorvem indicador.
16A	F23, P76, P75, P81	Crescimento muito rápido (1 dia), acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas, translúcidas ou semitranslúcidas, com muita goma, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
17A	P78, P109	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, semitranslúcidas, consistentes, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
18A	M60, P105, P106	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
19A	M79	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas, com muita goma, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.

20A	M55	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas, com pouca goma, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
21A	M91	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, semitranslúcidas, com goma intermediária, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
22A	M89	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, semitranslúcidas, com goma abundante, consistentes, coloração creme, superfície concêntrica. Absorvem indicador.
23A	M98	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, convexas, opacas, com muita goma, consistentes, coloração amarela, superfície lisa. Não absorvem indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.

24A	M107	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias grandes, coalescentes, efusas, aquosas, opacas, com goma abundante, coloração creme, superfície lisa. Absorvem indicador.
25A	F18, M71, P69, P96	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito ou pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, consistentes, coloração creme superfície lisa. Alguns isolados absorvem o indicador e outros não.
26A	M76	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, opacas, consistentes, coloração creme superfície lisa. Não absorvem o indicador.
27A	P110	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, opacas, consistentes, coloração creme superfície lisa. Não absorvem o indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.		
28A	M88	Crescimento intermediário (4 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho pequeno, convexas, opacas, com goma abundante, opacas, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
29A	M69	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, opacas, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
30A	M51	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, opacas, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Absorvem o indicador.
31A	P108	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, convexas, opacas, com goma intermediária, opacas, consistentes, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.		
32A	F24	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, planas, opacas, com goma intermediária, opacas, viscosas, coloração creme, superfície lisa. Absorvem o indicador.
33A	M80	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, planas, opacas, com goma intermediária, opacas, viscosas, coloração creme, superfície concêntrica. Absorvem o indicador.
34A	M95	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, com pouca goma, planas, opacas, consistentes, coloração creme, superfície concêntrica. Absorvem indicador.
35A	P70	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, com goma intermediária, planas, translúcidas, consistentes, coloração amarela, superfície lisa. Não absorvem indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.

36A	F29, P74	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam muito o meio de cultura. Colônias coalescentes, efusas, com goma abundante, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem indicador.
37A	M72, M73, M99	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias coalescentes, efusas, com goma abundante, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem indicador.
38A	M85, P102, P103	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, grandes, coalescentes, efusas, aquosas, com muita goma, planas, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem indicador.
39A	M64	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, coalescentes, efusas, aquosas, com goma intermediária, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.

40A	M70	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, coalescentes, convexas, aquosas, com muita goma, translúcidas, coloração amarela, superfície lisa. Não absorvem indicador.
41A	M87	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, coalescentes, efusas, aquosas, com muita goma, opacas, coloração 5y 8,5/1, superfície lisa. Não absorvem indicador.
42A	P101	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, com muita goma, planas, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
43A	M52, M58	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, com muita goma, planas, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.

44A	M54	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, com muita goma, planas, translúcidas, coloração creme, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
45A	P112	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, com goma intermediária, planas, opacas, consistentes, brancas, superfície lisa. Absorvem o indicador.
46A	M108	Crescimento rápido (2 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, com pouca goma, planas, opacas, consistentes, brancas, superfície lisa. Absorvem o indicador.
47A	P111	Crescimento intermediário (4 dias). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, com goma intermediária, convexas, opacas, consistentes, brancas, superfície lisa. Não absorvem o indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.		
48A	P97, P98	Crescimento rápido (2 dias). Não alteram o pH do meio de cultura. Colônias pequenas, com pouca goma, planas, opacas, consistentes, brancas, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
49A	P100	Crescimento rápido (2 dias). Não alteram o pH do meio de cultura. Colônias puntiforme, com pouca goma, planas, opacas, viscosas, brancas, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
50A	P95	Crescimento muito rápido (1 dia). Acidificam pouco o meio de cultura. Colônias grandes, com goma intermediária, planas, opacas, consistentes, brancas, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
1B	F1, F2	Crescimento intermediário e lento (5-6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho médio, com goma intermediária, brancas, opacas, aquosas, efusas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
2B	F7, P43, P56, M33, P31, P42, P63, F11, M44, P11, P51, M45	Crescimento intermediário a lento (5-8 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho puntiforme a pequeno, planas, com goma intermediária, brancas, opacas, consistentes, aquosas ou viscosas, superfície lisa. Não absorvem indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.		
3B	M32, M34	Crescimento lento (6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias de tamanho pequeno a médio, planas, com goma intermediária, brancas, opacas, aquosas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
4B	P16, P28, P64	Crescimento intermediário a lento (5-6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, pequenas, planas, com pouca goma, brancas ou cremes, opacas, aquosas ou consistentes, superfície lisa. Não absorvem indicador.
5B	F8, P23, P26, P50, P19, P6, P7, P13, P30, P48, P49, P55, P2, P25, P27, P29	Crescimento intermediário a lento (5-6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, pequenas a médias, com goma intermediária, brancas, translúcidas, aquosas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
6B	P15, P57, P58	Crescimento lento (6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, puntiformes a médias, com muita goma, brancas, translúcidas, planas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
Continua...		

TABELA 4, Cont.		
7B	F3, F4, F9, F10, M15, M17, M29, M37, M50, F5, M5, M18, M25, M26, M31, M46, P33	Crescimento intermediário (4-5 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, tamanho médio, produção de pouca a muita goma, brancas, opacas, consistentes, superfície lisa. Não absorvem indicador.
8B	M16, M24, M30, M40, M43, M28M35, P37	Crescimento intermediário (4-5 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, pequenas, planas, produção de pouca ou muita goma, brancas, translúcidas, aquosas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
9B	F6, P21, P36, P2, F13, M19, M20, M21, M39, M49, P3, P4, P17, P18, P59, M2, M3, M4, M9, M11, M12, M13, M14, M22, M42, P5, P8, P9, P12, P14, P20, P39, P47, P54, P60, P62, P65, F14, M6, M7, M27, M36, M47, P40, P41, P44, P45, P46, P52, P53, M38, M41, P35, P38, M1	Crescimento lento intermediário a lento (4-6 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, puntiformes, com pouca goma, planas ou convexas, brancas, aquosas ou consistentes, efusas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
10B	M23, P24, M8, M10, P22, P32, P61	Crescimento lento (7 dias), alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, de tamanho pequeno a médio, convexas, com pouca goma, opacas, brancas, aquosas, viscosas ou consistentes, superfície lisa. Não absorvem indicador.

Continua...

TABELA 4, Cont.

11B	M49	Crescimento lento (6 dias), alcalinizam muito o meio de cultura. Colônias redondas, puntiformes, convexas, com pouca goma, opacas, brancas, superfície lisa. Não absorvem indicador.
12B	F12, P10	Crescimento lento e muito lento (7 e 11 dias). Alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, puntiformes, com pouca goma, convexas, brancas, opacas, superfície lisa. Não absorvem o indicador.
13B	P34	Crescimento intermediário (5 dias). Alcalinizam pouco o meio de cultura. Colônias redondas, puntiformes, planas, aquosas, brancas, opacas, com goma abundante, superfície lisa. Não absorvem o indicador.

TABELA 5. Abundância dos grupos culturais de BNL formados a 80% de similaridade.

Grupo	Floresta	Mandioca	Pupunheira
1A	3	3	3
2A	1	0	1
3A	5	8	15
4A	0	5	0
5A	2	2	1
6A	0	0	1
7A	0	2	0
8A	0	1	0
9A	0	6	0
10A	0	5	0
11A	2	1	0
12A	0	5	2
13A	0	0	1
14A	1	0	0
15A	1	0	0
16A	1	0	3
17A	0	0	2
18A	0	1	2
19A	0	1	0
20A	0	1	0
21A	0	1	0
22A	0	1	0
23A	0	1	0
24A	0	1	0
25A	1	1	2
26A	0	1	0
27A	0	0	1
28A	0	1	0
29A	0	1	0
30A	0	0	1
31A	0	1	0
32A	1	0	0

Continua...

TABELA 5, Cont.

33A	0	1	0
34A	0	1	0
35A	0	0	1
36A	1	0	1
37A	0	3	0
38A	0	1	2
39A	0	1	0
40A	0	1	0
41A	0	1	0
42A	0	0	1
43A	0	1	0
44A	0	0	1
45A	0	0	2
46A	0	0	1
47A	0	2	0
48A	0	1	0
49A	0	0	1
50A	0	0	1
1B	2	0	0
2B	2	3	7
3B	0	2	0
4B	0	0	3
5B	1	0	15
6B	0	0	3
7B	5	11	1
8B	0	7	1
9B	3	23	29
10B	0	3	4
11B	0	1	0
12B	1	0	1
13B	0	0	1

ser encontrado um maior número de isolados diferentes, o que se refletiu também em um maior número de grupos diferenciados.

Em todas as áreas foram encontrados isolados que acidificaram o meio de cultura e isolados que alcalinizaram o meio de cultura. Todos os isolados de crescimento rápido acidificaram o meio de cultura e grande parte deles apresentou características culturais dos gêneros *Rhizobium* e *Sinorhizobium*, como apresentado por Jordan (1984), Moreira & Pereira (2001) e Young et al. (2001) como colônias de coloração creme, circulares, convexas, semitranslúcidas ou opacas, muitas com o centro amarelado devido à absorção do indicador azul de bromotimol, aparecimento de colônias isoladas em até 3 dias, diâmetro de 2-4mm dentro de 3-5 dias de crescimento após o plaqueamento e produção abundante de exopolissacarídeos.

Grande parte dos isolados que alcalinizaram o meio de cultura apresentou características culturais do gênero *Bradyrhizobium*, como apresentado por Jordan (1984) e Moreira & Pereira (2001), a saber: colônias com coloração branca, circulares, com diâmetro de até 1mm em até 7 dias de após o plaqueamento e alcalinização do meio de cultura. Embora tenham apresentado características típicas do gênero *Bradyrhizobium*, vários isolados que alcalinizaram o meio de cultura apresentaram crescimento intermediário (aparecimento de colônias entre 4-5 dias).

Na área cultivada com pupunheira houve predominância de isolados de crescimento intermediário a lento, que alcalinizaram o meio de cultura (IALM), com 58% dos isolados pertencentes a este grupo (figura 7). Na área de floresta, 58% dos isolados apresentaram características de crescimento rápido e acidificação do meio de cultura, e os outros 42%, de crescimento intermediário a lento e alcalinização do meio de cultura. Na área cultivada com mandioca, 56% dos isolados apresentaram crescimento rápido e acidificaram o meio de cultura e 44% alcalinizaram o meio de cultura. É interessante destacar que, se colocados

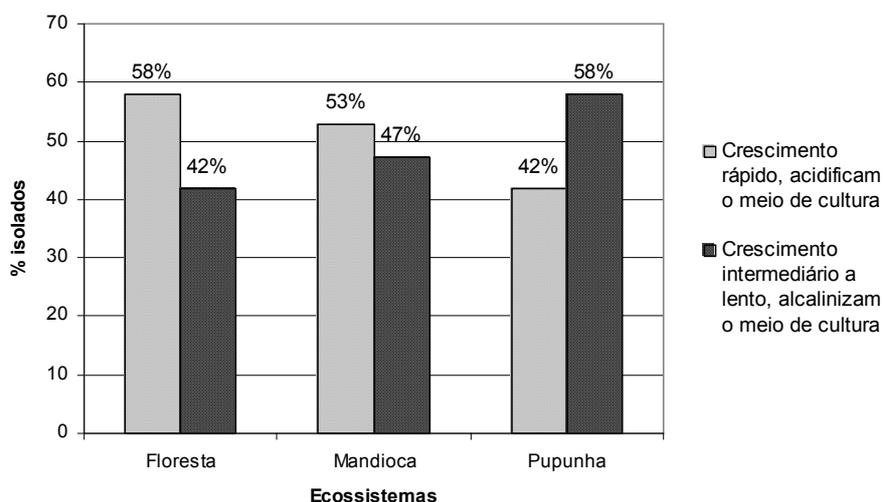


FIGURA 7. Porcentagem do número de isolados de crescimento rápido que acidificam o meio de cultura (IAM.) e de isolados de crescimento intermediário a lento que alcalinizam o meio de cultura (IALM) em áreas de floresta e de cultivo de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.

na ordem floresta-mandioca-pupunheira (figura 7), a proporção de isolados de crescimento rápido, que acidificam o meio de cultura (IAM), decresce no sentido floresta-pupunheira, enquanto a proporção de IALM cresce no mesmo sentido. Esta proporção diminuiu em direção à pupunheira, com 56% em mandioca e 42% em pupunheira. Para avaliar se este padrão foi dependente do sistema de uso da terra ou se ocorreu devido ao acaso, os dados foram submetidos ao teste de qui-quadrado. Verificou-se que esta alteração na proporção de isolados destes grandes grupos não ocorreu por mero acaso, mas que está relacionada com o tipo de ecossistema avaliado.

Nas áreas cultivadas havia a presença de plantas jovens de ingá, possivelmente *Inga edulis*, devido à característica típica das folhas. Espécies deste gênero nodulam com isolados de crescimento rápido e lento (Moreira, 1991; Moreira, 1995) e isolados destes dois grupos de isolados foram encontrados em nódulos coletados no campo (dados não apresentados).

As áreas foram agrupadas com base na presença de grupos culturais comuns com base no índice de similaridade de Jaccard. As áreas cultivadas com pupunha e floresta se apresentaram com maior similaridade entre si, 32%. Estas, por sua vez, são similares à mandioca em 19% (figura 8).

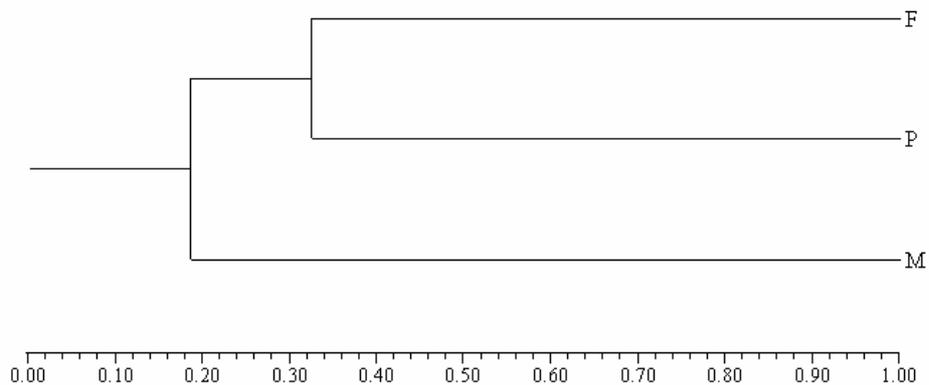


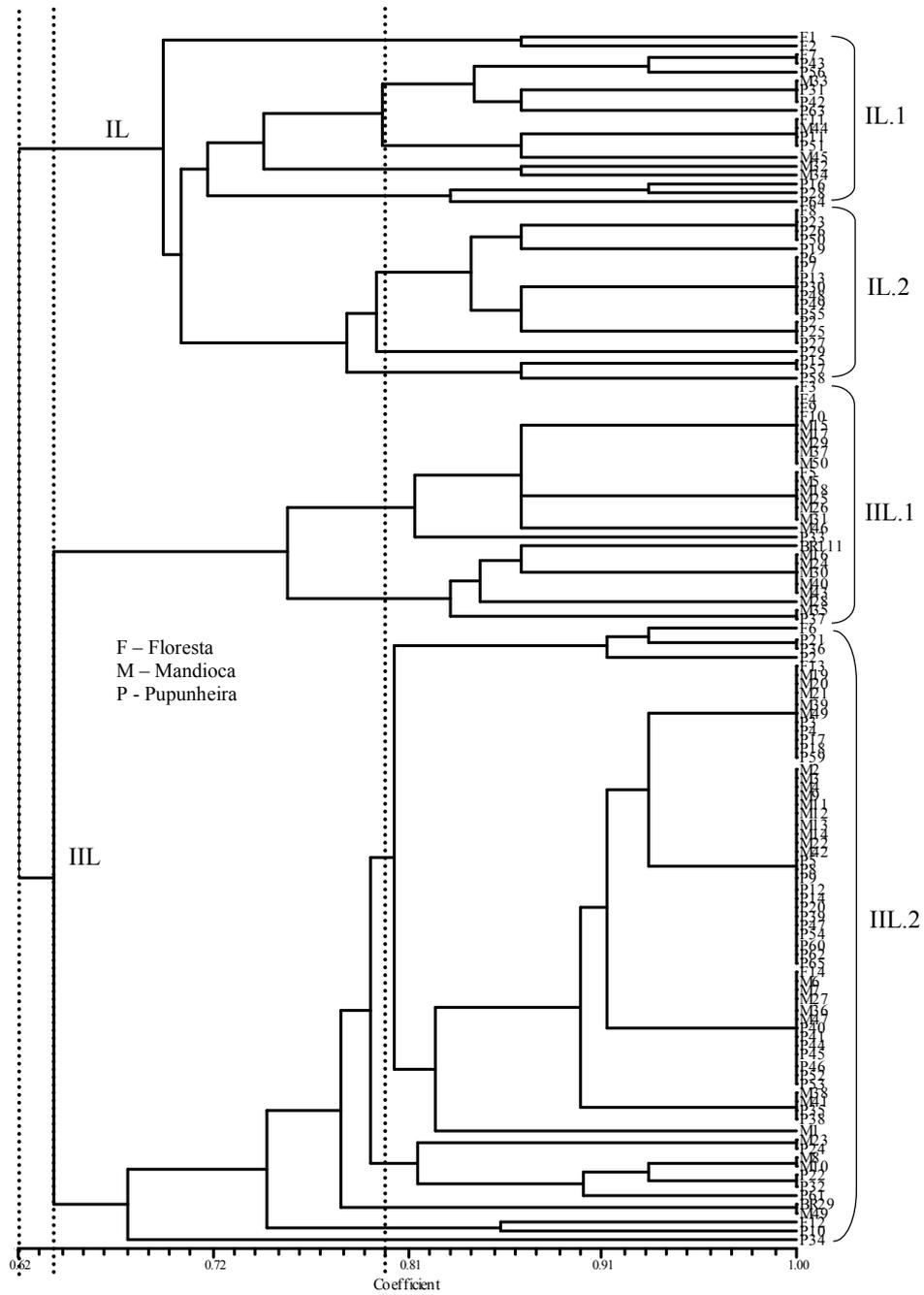
FIGURA 8. Agrupamento das áreas de floresta (F) e cultivadas com mandioca (M) e pupunheira (P) com base na presença de grupos culturais em comum. UPGMA, índice de Jaccard.

4.5 Agrupamento dos isolados com base na caracterização morfológica

O dendrograma formado pelo agrupamento dos isolados de IALM é apresentado na figura 9. Formaram-se dois grandes grupos a 62% de similaridade. A maioria dos isolados se agrupou no grupo II. Este grupo se divide em dois outros grupos a aproximadamente 64% de similaridade, aqui denominados grupos IIL-1 e IIL-2.

Os isolados do grupo IIL-1 se agruparam com a estirpe BR111, estirpe referência de *Bradyrhizobium japonicum*. A maior parte dos isolados deste grupo foi oriunda da área cultivada com mandioca. Também neste grupo está a maioria dos isolados de IALM da floresta. Já os isolados do grupo IIL-2 se agruparam com a estirpe BR29, estirpe referência de *Bradyrhizobium elkanii* e utilizada como inoculante para a soja. Este grupo está constituído, em sua maior parte, por isolados oriundos das áreas cultivadas, sendo dez isolados pertencentes à área de floresta. O grupo I não se agrupou com nenhuma das estirpes tipo de *Bradyrhizobium* e é praticamente constituído por isolados oriundos da área cultivada com pupunheira.

O dendrograma formado pelo agrupamento dos isolados de IAM é apresentado na figura 10. Podem-se distinguir dois grandes grupos a 23% de similaridade. No grupo I estão quase todas as estirpes referência de *Rhizobium* e *Sinorhizobium*, com exceção da estirpe referência de *Sinorhizonium meliloti* (BR7411), que está no grupo II. Semelhantemente ao grupo II dos isolados de crescimento lento, o grupo I dos isolados de crescimento rápido pode ser dividido em dois subgrupos, denominados aqui de grupos IR-1 e IR-2. Pode-se verificar que a maioria dos isolados se agrupou no grupo IR-1. Porém, os isolados das áreas cultivadas com pupunheira e mandioca não apresentaram um padrão de distribuição claro entre os grupos formados, como ocorreu para os isolados de crescimento lento.



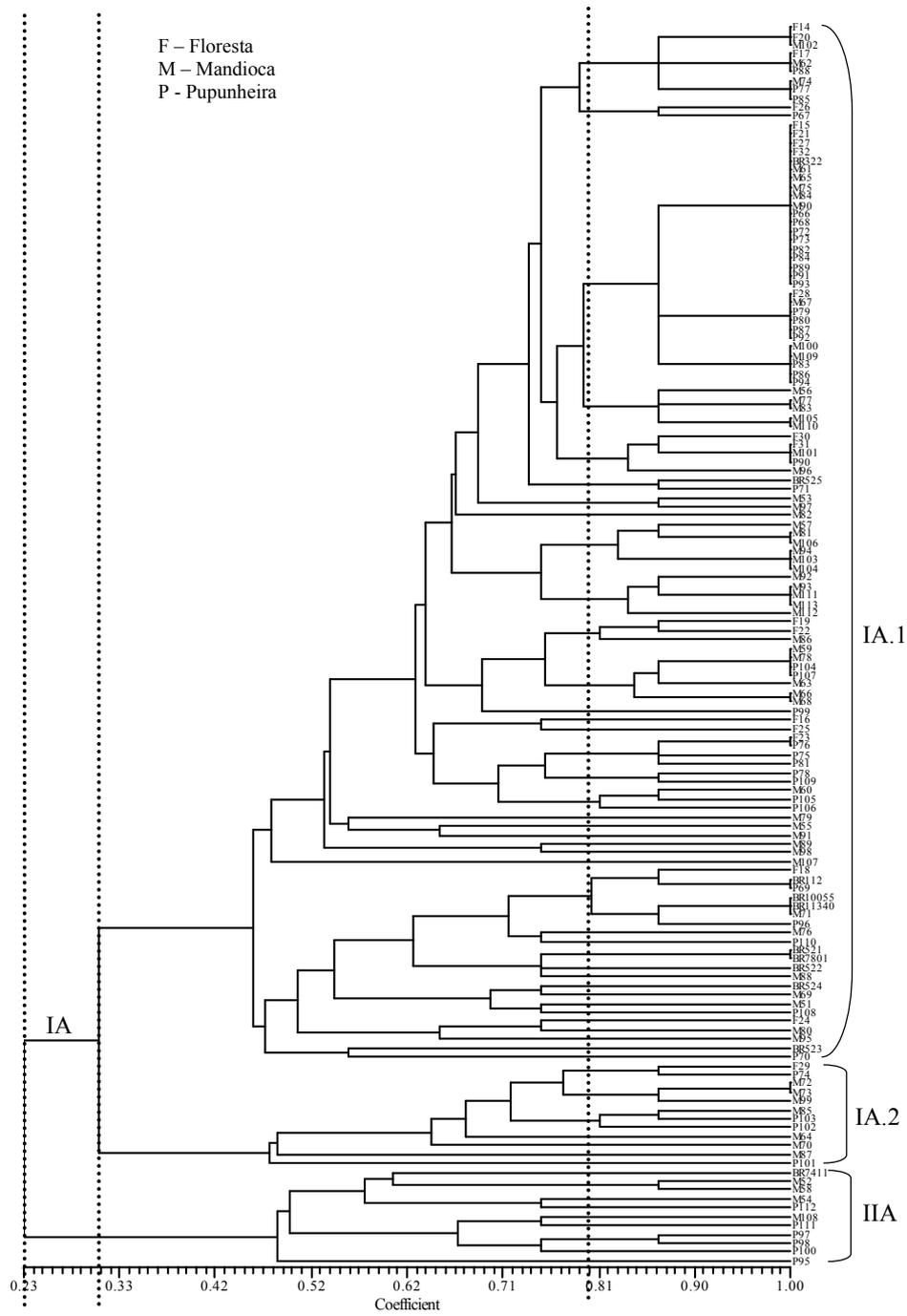


FIGURA 10. Dendrograma de similaridade entre isolados de BNL de crescimento rápido que acidificam o meio de cultura (IAM), baseado na caracterização cultural destes isolados.

4.6 Ajuste de modelos de abundância de espécies às comunidades de BNL

Para os cálculos de ajuste das distribuições de abundância e dos índices de diversidade foram considerados os grupos formados a 80% de similaridade, apresentados nos tabelas 4 e 5.

Na figura 11 são apresentadas curvas de acumulação para as comunidades de BNL das três áreas estudadas. Os dados para a construção das curvas são apresentados na forma de proporção de grupos culturais *versus* proporção de indivíduos amostrados, para permitir a comparação entre amostras de diferentes tamanhos.

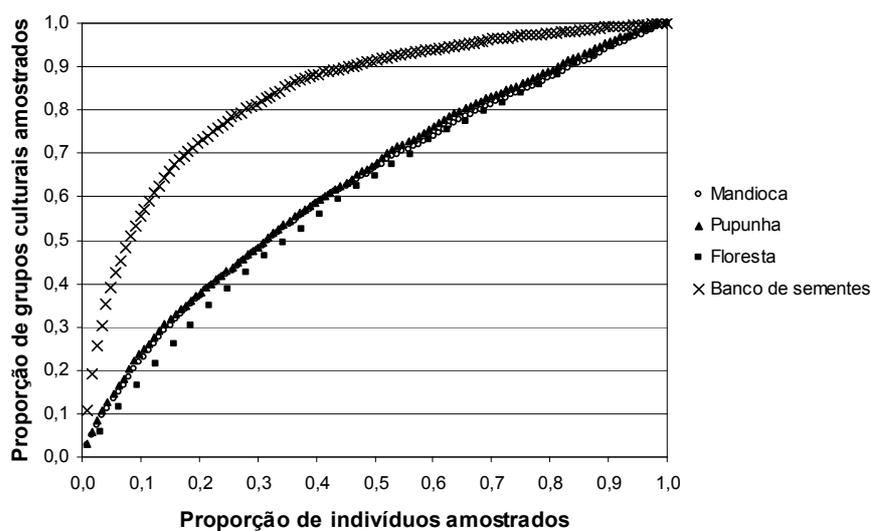


FIGURA 11. Curvas de acumulação para comunidades de BNL isolados de áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM. UTOs – unidades taxonômicas operacionais.

As curvas de acumulação de grupos culturais para as comunidades de BNL apresentaram concavidade menor que a curva de acumulação de espécies para a comunidade do banco de sementes estudado por Colwell & Coddington (1994). Pode-se observar que as comunidades de BNL das três áreas estudadas foram amostradas relativamente com a mesma intensidade, visto que as curvas se aproximam entre si, embora haja diferença no número de isolados obtidos em cada área.

Para comparação da área com base no número de grupos culturais encontrados em cada uma foi realizada uma análise de rarefação, em virtude de o tamanho das amostras (número de isolados) ser diferente entre as áreas estudadas. Sabe-se que o número de espécies ou grupos taxonômicos encontrados em uma área aumenta com o aumento do tamanho das amostras ou da intensidade de amostragem (Magurran, 1987). Quando não há como garantir que todas as amostras tenham o mesmo tamanho ou sejam coletadas com a mesma intensidade, para que estas sejam comparadas com base no número de grupos encontrados em cada amostra é necessário realizar a sua rarefação. É o caso deste trabalho, em que se considerou como o tamanho da amostra, para efeitos de análise da diversidade, o número de isolados obtidos em cada área.

Na área de floresta foram obtidos 33 isolados em virtude da baixa nodulação das plantas deste tratamento, enquanto nas áreas cultivadas com mandioca e pupunheira foram obtidos 111 e 113 isolados, respectivamente. De acordo com a análise de rarefação, se fossem coletados 33 nódulos de mandioca e 32 nódulos de pupunha, o número de grupos culturais encontrados em cada área, respectivamente, seria de aproximadamente 18 e 15 grupos culturais (tabela 6). A floresta apresentou 17 grupos culturais.

Foram calculados os índices de Shannon, Margalef e Berger-Parker e os coeficientes α e λ . Os resultados encontrados são apresentados na tabela 7. A diversidade da área cultivada com mandioca de acordo com o índice de Shannon

TABELA 6. Rarefação para os isolados de BNL das áreas cultivadas com mandioca e pupunha na região do Alto Solimões – AM.

Mandioca			Pupunha		
Grupo	Ni	Nº esperado de grupos culturais	Grupo	Ni	Nº esperado de grupos culturais
9B	23	1,00	9B	29	1,00
7B	11	0,98	3A	15	1,00
3A	8	0,94	5B	15	1,00
8B	7	0,92	2B	7	0,92
9A	6	0,88	10B	4	0,76
4A	5	0,83	16A	3	0,66
10A	5	0,83	1A	3	0,66
12A	5	0,83	4B	3	0,66
2B	3	0,65	6B	3	0,66
10B	3	0,65	12A	2	0,51
1A	3	0,65	17A	2	0,51
37A	3	0,65	18A	2	0,51
3B	2	0,50	38A	2	0,51
5A	2	0,50	45A	2	0,51
7A	2	0,50	47A	2	0,51
8A	1	0,50	11B	1	0,30
11A	1	0,29	12B	1	0,30
18A	1	0,29	13A	1	0,30
19A	1	0,29	26A	1	0,30
20A	1	0,29	27A	1	0,30
21A	1	0,29	2A	1	0,30
22A	1	0,29	30A	1	0,30
23A	1	0,29	35A	1	0,30
24A	1	0,29	36A	1	0,30
28A	1	0,29	42A	1	0,30
29A	1	0,29	44A	1	0,30
31A	1	0,29	46A	1	0,30
33A	1	0,29	49A	1	0,30
34A	1	0,29	5A	1	0,30
38A	1	0,29	6A	1	0,30
39A	1	0,29	7B	1	0,30
40A	1	0,29	8B	1	0,30
41A	1	0,29	50A	1	1,00
43A	1	0,29	-	-	-
48A	1	0,29	-	-	-
S	108	18,53	S	112	15,41

¹Grupo cultural de BNL formado a 80% de similaridade.

²Número de indivíduos por grupo cultural na amostra a ser rarificada.

³Total de grupos culturais.

TABELA 7. (a) Diversidade de BNL em áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira utilizando uma variedade de índices de diversidade e o (b) ajuste de 2 tipos de distribuição de abundância de espécies.

	Floresta	Mandioca	Pupunheira
<u>(a) Diversidade</u>			
Riqueza de grupos culturais (S)	17	39	32
Indivíduos (N)	33	113	111
Margalef	4,58	8,04	6,58
Berger-Parker	0,15	0,20	0,26
Shannon	2,64	3,11	2,73
Homogeneidade de Shannon	0,93	0,85	0,79
Série logarítmica (α)	15,18	21,01	15,05
Log normal (λ)	65,29	102,94	80,34
<u>(b) Ajuste de modelos</u>			
Série logarítmica	Sim	Sim	Sim
Log normal	Sim	Sim	Sim

foi a maior dentre as três áreas estudadas. Esta diferiu de forma significativa da diversidade das áreas de floresta e cultivada com pupunheira, de acordo com a análise estatística. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as áreas de floresta e cultivada com pupunheira com relação ao índice de Shannon. A área cultivada com pupunheira apresentou maior valor do índice de Shannon que a área de floresta, porém esta diferença não foi significativa.

O índice λ apresentou a mesma resposta do índice de Shannon, com maiores valores encontrados para área cultivada com mandioca, seguida pela área cultivada pela pupunheira e, por último pela floresta.

De acordo com o índice de riqueza de Margalef, a riqueza foi maior na área cultivada com mandioca e menor na área de floresta. Os índices de Berger-Parker e homogeneidade de Shannon mostram que a área com maior dominância e menor homogeneidade foi a cultivada com pupunheira e a área com menor dominância e maior homogeneidade foi a floresta.

Também foram construídas curvas com a variação no índice de Shannon em função do número de isolados coletados (figura 12). A diminuição da variação no valor do índice de Shannon com o aumento no número de isolados analisados, a qual é demonstrada com as curvas das comunidades de BNL das áreas cultivadas, indica que foi realizada uma boa estimativa da diversidade com base neste índice. Já para a comunidade da floresta, a curva indica que a variação ainda pode ser significativa com a coleta de maior número de isolados. Mas é possível perceber que a curva tende a alcançar um platô, de modo que se pode concluir que a eficiência da amostragem foi razoável. Pode-se observar também que a curva da comunidade da floresta acompanha a curva da comunidade da área cultivada com mandioca.

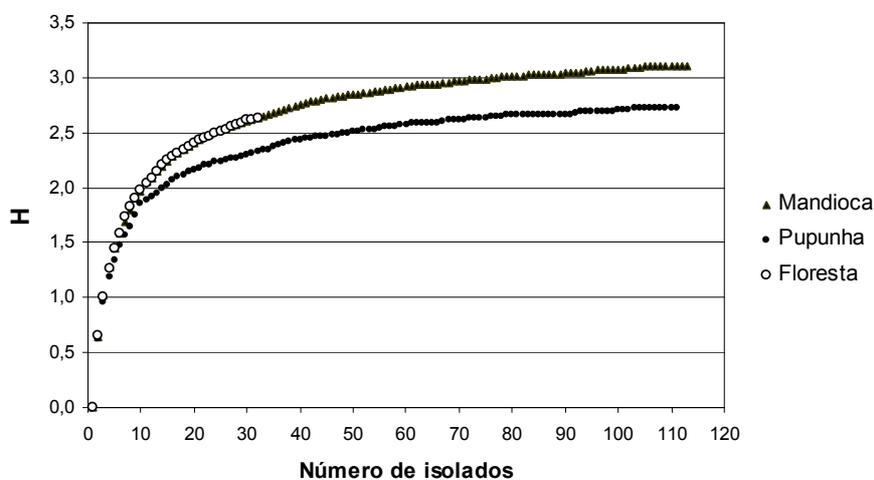


FIGURA 12. Valores do índice de Shannon-Weaver para comunidades de BNL coletadas em áreas de floresta e cultivo de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM, calculados em função do tamanho da amostra (número de isolados).

Os gráficos de abundância de grupos culturais com as distribuições observadas e ajustadas são apresentados nas figuras 13 e 14. Todos os modelos de distribuição se ajustaram às distribuições das comunidades de floresta e das áreas cultivadas com mandioca e pupunheira, a 5% de probabilidade, de acordo com o teste de qui-quadrado (figuras 13 e 14). O número esperado de grupos culturais para estes modelos de distribuição foi bem próximo ao observado, o que se refletiu no ajuste às distribuições observadas.

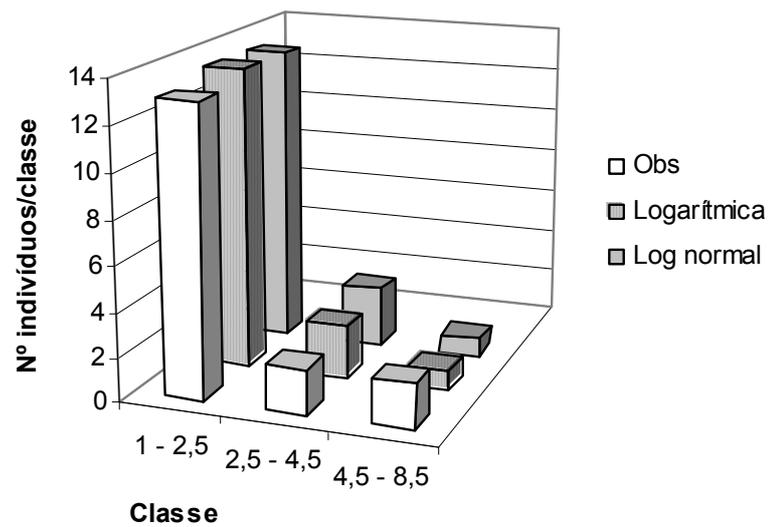


FIGURA 13 Distribuições de abundância observada (Obs) e ajustadas à população de BNL da área de floresta.

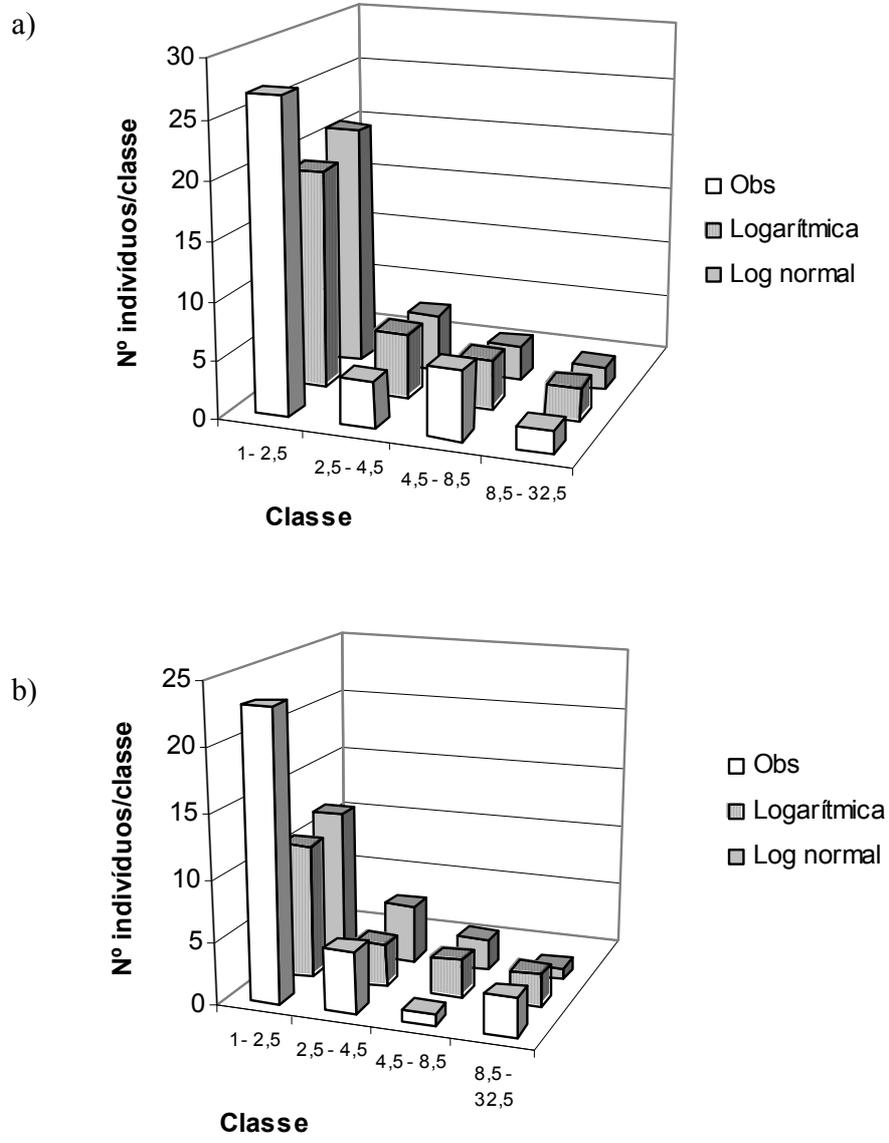


FIGURA 14. Distribuições de abundância observada (Obs) e ajustadas à população de BNL das áreas cultivadas com mandioca (a) e com pupunheira (b) na região do Alto Solimões – AM.

5 DISCUSSÃO

O maior valor de densidade de células de BNL foi encontrado na área cultivada com mandioca, 1588 células de BNL por grama de solo. Pereira (2000) encontrou valor de densidade semelhante em área também cultivada com esta cultura em Theobroma - RO, 2112 células por grama de solo. Se considerado o intervalo de confiança encontrado por esta autora, 732 a 6088 células por grama de solo, não há diferença entre as populações encontradas em Theobroma e em Benjamin Constant. Este valor foi maior que o encontrado em floresta localizada no mesmo local (Theobroma), 210 células por grama de solo.

De modo geral, não houve diferença entre as áreas cultivadas, pois houve sobreposição do intervalo de confiança para as amostras das áreas cultivadas com mandioca e pupunheira, embora uma das amostras de mandioca tenha apresentado densidade semelhante às amostras de floresta.

Dentre todas as áreas, a floresta foi a que apresentou o menor número de células de BNL por grama de solo, em torno de 63 a 85 células por grama de solo. A nodulação foi muito baixa, o que se refletiu num menor número de isolados. Pereira (2000) encontrou populações de BNL variando de 210 a 1684 células por grama de solo em solos de floresta da Amazônia. Mas deve-se destacar que se forem considerados os intervalos de confiança encontrados por esta autora e os encontrados no presente trabalho, apenas o NMP de uma das áreas de floresta estudada por ela difere realmente do NMP de células de BNL aqui encontrados para floresta de terra firme.

Há vários relatos de que nódulos são raramente encontrados em floresta primária de terra firme (Silvester-Bradley et al., 1980; Magalhães et al., 1982; Bonetti et al., 1984; Moreira et al., 1992). Contudo, isto não significa que BNL

não estejam presentes, mas deve-se a condições desfavoráveis à nodulação (Magalhães et al., 1982).

Moreira et al. (1992) e Moreira (1995) verificaram que menos espécies de leguminosas nodulam em solo coletado de floresta de terra firme do que em solo de várzea. Estes autores atribuem o menor número de espécies nodulando em solo de floresta de terra firme a fatores limitantes do solo, visto que se verificou o aumento no número de espécies noduladas com a adubação do solo coletado. Moreira (1995) verificou que, além de um menor número de espécies nodularem em solo coletado de floresta de terra firme, aquelas que nodularam apresentaram um baixo número de nódulos, menos de 5 nódulos por planta, enquanto as que nodularam em solo de várzea apresentaram mais de 15 nódulos por planta. Isto pode ser indicativo de que, além de fatores limitantes à nodulação, possa haver uma baixa densidade de células de BNL nestes solos.

Os fatores limitantes do solo considerados por Moreira et al. (1992) e Moreira (1995) estariam ligados à fertilidade, visto que se observou maior nodulação em leguminosas plantadas em solo de mata terra firme adubado. Porém, é interessante destacar que os solos estudados apresentaram teores razoáveis de nutrientes, de modo que esta pode não ser a principal causa de um menor número de BNL no solo da floresta de terra firme. É possível que compostos químicos presentes no solo, liberados tanto por plantas como por microrganismos, também estejam contribuindo para que as populações de BNL sejam menores no solo da floresta. Sabe-se que as plantas da floresta produzem uma grande variedade de compostos secundários, sendo muitos deles substâncias de defesa contra predadores e parasitas (Janzen, 1980). O elevado teor destas substâncias na matéria orgânica da serrapilheira de algumas florestas da Amazônia poderia ser responsável pela alta longevidade dos resíduos de plantas na serrapilheira, de modo que os compostos secundários teriam que ser

primeiramente lixiviados para que os microrganismos pudessem continuar sua decomposição (Janzen, 1980).

Outra hipótese para explicar a baixa nodulação na floresta seria a presença de microrganismos antagonistas de BNL no solo de floresta. As plantas-isca são inoculadas com a diluição da suspensão de solo e nesta suspensão vão todos os microrganismos presentes no solo e não apenas BNL. Assim, microrganismos antagonistas podem estar presentes.

Vincent (1970) atribui a ausência de nodulação nas primeiras diluições de ensaios de determinação do NMP de BNL à presença de antagonistas, os quais quando eliminados ao longo da série de diluição, permitem a ocorrência de nodulação em plantas de diluições maiores. A ação de microrganismos do solo sobre a capacidade de nodulação é confirmada por resultados de Handelsman & Brill (1985), que relataram que isolados de *Erwinia herbicola* presentes na rizosfera de alfafa atrasaram a nodulação induzida por um isolado de *Rhizobium meliloti*. Também Pugashetti et al. (1982) relataram a existência de vários organismos antagonistas de *Bradyrhizobium japonicum* em solos, dentre eles fungos, bactérias e actinomicetos.

A maior densidade de BNL em solos cultivados pode ser em função do estímulo por parte das plantas cultivadas. Há trabalhos que mostram que espécies cultivadas podem ter efeito estimulante sobre populações de BNL, mesmo que não sejam hospedeiras. Venkateswarlu et al. (1997) verificaram que houve estímulo de populações de BNL em solos cultivados com sorgo, enquanto feijão castor e girassol desestimularam as populações. Pereira (2000) encontrou maiores populações de BNL em solos da Amazônia utilizados para pastagem, até mesmo maiores que em área cultivada com feijoeiro. A autora atribuiu este resultado a melhores condições químicas (e. g. maiores valores de pH, maior saturação de bases e menores teores de alumínio) encontradas no solo pastagem. Assim como as gramíneas, a pupunheira (*Bactris gasipaes*) possui um sistema

radicular fasciculado, o que propicia uma maior superfície específica e, conseqüentemente, um maior efeito das raízes no fornecimento de exsudados e outras substâncias passíveis de serem utilizadas para a manutenção de comunidades microbianas.

Verificou-se correlação positiva entre a densidade de células de BNL e teores de cálcio no solo, indicando uma tendência de se encontrar maiores densidades de BNL associadas a maiores teores de cálcio. Embora tenha sido determinada com a utilização de cinco pontos, o que pode parecer um número pequeno, esta correlação é suportada pela probabilidade de 8% de significância observada para o coeficiente angular, indicando que há uma relação linear entre x e y. Sabe-se a bastante tempo que o cálcio tem efeito sobre a nodulação de leguminosas. Dados da literatura mostram que a densidade e diversidade de BNL tendem a aumentar com o aumento nos teores de cálcio (Andrade et al., 2002).

Já altos teores de alumínio e baixos valores de pH estão correlacionados com baixa densidade e baixa diversidade de BNL (Andrade et al., 2002; Bala et al., 2003). Embora essas condições tenham sido encontradas nas amostras de solo analisadas, parece que as populações de BNL não foram afetadas por elas, visto que não foi observada correlação entre densidade de células e teores de alumínio ou entre densidade de células e valores de pH do solo.

Gamma & Kiehl (1999) verificaram que plantas cultivadas em alguns solos da Amazônia com altos teores de alumínio extraível não apresentavam sintomas de toxidez nem queda de produtividade. Isto também pôde ser verificado na comunidade Guanabara III. A explicação para estas observações, e que poderia também ser aplicada aos dados de densidade de BNL, é que nestes solos o teor de alumínio extraível encontrado provavelmente não tem correlação com o alumínio disponível na solução do solo. Esta afirmação é corroborada pelos dados encontrados Schroth et al. (2000) e por Marques et al. (2002).

Schroth et al. (2000) verificaram que embora a acidez trocável em solos de floresta e capoeira na Amazônia Central fosse muito elevada (90% da CTC), alumínio dificilmente apareceu na solução do solo. A concentração de alumínio em solução também foi baixa em solo cultivado com pupunheira e com baixa adubação, condição semelhante à encontrada na área cultivada com esta mesma . Além disso, os altos teores de cálcio encontrados podem estar favorecendo a sobrevivência das populações de BNL na presença de altas concentrações de alumínio.

Hara (2003) verificou que o cálcio proporcionou o aumento no crescimento de alguns isolados de BNL de solos da Amazônia, na presença de alumínio tóxico, indicando aumento na tolerância das bactérias em relação ao alumínio. Também, Gama & Kiehl (1999) sugeriram que os altos teores de cálcio presentes em solos com características químicas semelhantes às do solo amostrado em Benjamin Constant poderiam estar contribuindo para a ausência de toxidez do alumínio em plantas. Considerando os dados apresentados nos trabalhos citados acima e o resultado aqui encontrado, de que observou-se uma tendência para correlação positiva entre a densidade de BNL e teores de cálcio no solo na presença de altos teores de alumínio, é provável que, além da baixa disponibilidade de alumínio em solução, os altos teores de cálcio encontrados nos solos da comunidade Guanabara III possam estar contribuindo para a sobrevivência das populações de BNL.

Observou-se que a proporção de isolados que acidificam o meio e cultura (IAM) e isolados que alcalinizam o meio e cultura (IALM) diferiu entre as áreas, indicando que a utilização diferenciada das terras foi responsável pelas diferenças na proporção de isolados dentro de cada grupo. Este resultado é confirmado pelo teste de qui-quadrado, que mostrou que as diferenças nas frequências de IAM e IALM entre as áreas estudadas é dependente do tipo de utilização da terra. Formou-se um gradiente de diminuição da proporção de

isolados de IAM e de aumento de isolados de IALM de floresta em direção à pupunheira. A área cultivada com mandioca apresentou-se como uma transição entre estes dois ecossistemas. Esta área havia sido anteriormente cultivada com bananeira, porém não há como separar o efeito do cultivo de bananeira do efeito do cultivo de mandioca. Para isso, seria necessário comparar as áreas com uma área cultivada com bananeira. Desta forma, deve-se considerar o resultado observado como fruto de ambos os cultivos. É interessante destacar que Pereira (2000) também encontrou um maior número de isolados de crescimento lento, que alcalinizaram o meio de cultura, em área cultivada com mandioca, em Theobroma - RO, onde 57% dos isolados foram de crescimento lento. Isto pode indicar uma possível seleção de isolados de IALM em áreas cultivadas com mandioca.

A área cultivada com pupunheira foi anteriormente cultivada com mandioca. Se considerarmos que a mandioca tenha tido um efeito estimulante sobre populações de IALM, como foi verificado neste estudo e por Pereira (2000) em detrimento de IAM, pode-se esperar que o mesmo tenha acontecido na área de pupunheira quando esta era cultivada com mandioca e que o plantio posterior de pupunheira tenha favorecido mais ainda o aumento do número de isolados de IALM, levando aos resultados observados.

A grande proporção de isolados de IAM encontrados na floresta corrobora observações de Pereira (2000), que também encontrou maior número de isolados deste tipo em floresta localizada em Theobroma, Rondônia. A princípio este é um resultado inesperado, visto que grande parte de isolados de BNL obtidos a partir de leguminosas florestais do Brasil apresentou crescimento lento e alcalinização do meio de cultura, características do gênero *Bradyrhizobium* (Moreira, 1991). Isto indica que este grupo de bactérias pode ter um papel ecológico nos ecossistemas da Amazônia mais importante do que se tem imaginado. Sabe-se que além de realizarem simbiose com leguminosas, as

BNL também são capazes de viverem saprofiticamente (Kahindi et al., 1997) e algumas são capazes de solubilizarem fosfatos (Hara, 2002). Porém, para se fazer alguma afirmação sobre isto é necessário primeiro avaliar os isolados encontrados com respeito à capacidade de solubilização de fosfatos.

Outro fator que poderia contribuir para se encontrar mais IALM é a utilização de siratro (*M. artropurpureum*) como planta-isca. O siratro é considerado uma espécie bastante promíscua e que nodula principalmente com estirpes do gênero *Bradyrhizobium* (Gibson et al., 1982; Thies et al., 1991; Odee et al., 1997), que apresentam crescimento lento e alcalinizam o meio de cultura. Alguns autores, com base nesta característica, utilizaram o siratro para estimar a população de *Bradyrhizobium* no solo através da técnica do NMP (Woomer et al., 1988; Venkateswarlu et al., 1997). Porém, neste e em outros estudos (Pereira, 2000), não se verificou esta seletividade do siratro para estirpes de crescimento lento que alcalinizam o meio de cultura. Pelo contrário, na floresta, onde era esperado encontrar maior proporção de IALM, houve uma alta incidência de IAM. A maior frequência de IALM nas áreas de mandioca e pupunheira não foi devido à seletividade do siratro para este grupo de BNL, mas provavelmente ao uso diferenciado da terra, como indicado pelo teste de qui-quadrado. Se fossem utilizadas espécies nativas o resultado encontrado provavelmente seria predominância ou maior número de IALM (Moreira, 1991; Moreira, 1995).

Moreira (1995), ao estudar a nodulação de várias espécies de leguminosas, verificou que isolados de crescimento rápido foram obtidos apenas a partir de nódulos de plantas de *Leucaena* e *Gliricidia sepium*, que não são plantas características da Amazônia. Esses resultados demonstram que o siratro não foi seletivo para um ou outro grupo, o que é favorável à sua utilização como planta-isca para estudos de diversidade de BNL. A seletividade é uma característica que poderia mascarar as alterações nas comunidades quando do

exame com a técnica da planta-isca. Também a grande diversidade de grupos culturais obtidos contribui para a escolha do siratro como planta-isca.

Além das frequências diferentes de distribuição de isolados de IAM e IALM entre as áreas, observa-se que houve uma distribuição diferenciada dos isolados de IALM. Boa parte dos isolados de IALM oriundos da floresta se agrupou no grupo IIL-1, juntamente com isolados oriundos da área cultivada com mandioca. Grande parte dos isolados das áreas cultivadas com mandioca e pupunheira se agrupou no grupo IIL-2; no grupo IL-1 os isolados são predominantemente oriundos da área cultivada com pupunheira. Estes resultados indicam que o cultivo selecionou isolados de crescimento lento semelhantes entre si, tanto na área cultivada com mandioca como na cultivada com pupunheira. Os IAM, por sua vez, não apresentaram uma distribuição tão clara como os IALM.

Hungria et al. (2001) conseguiram diferenciar áreas com diferentes tipos de manejo através da análise de agrupamento de isolados de rizóbio com base em parâmetros morfológicos, fisiológicos e dados de utilização de fontes de carbono e nitrogênio. Estes autores estudaram rizóbios de crescimento rápido, isolados de nódulos de sete genótipos de soja, inoculados com solos sob diferentes tipos de manejo. Verificou-se que os dendrogramas posicionaram a maioria das estirpes oriundas de áreas sob cultivo convencional, com histórico de inoculação com rizóbio, na parte superior do dendrograma, enquanto a maior parte das estirpes oriundas de solos sob plantio direto permaneceu na parte inferior do dendrograma. Por sua vez, a maioria das estirpes oriundas de áreas não perturbadas se localizou no centro do dendrograma. Nos grupos IA-1, IA-2 encontram-se isolados provenientes de todos os sistemas de uso da terra estudados.

Embora apresente grande parte dos isolados de crescimento lento se agrupando no grupo IIL-2, a área de cultivo de pupunheira se assemelha de mais

à área de floresta. A maior semelhança entre as áreas de floresta e cultivo de pupunheira pode ser explicada pela maior proximidade geográfica entre elas.

A amostragem realizada nas três áreas estudadas foi avaliada através da construção de curvas de acumulação de grupos culturais para cada uma das comunidades de BNL. De acordo com Hughes et al. (2001), quanto mais côncava é a curva de acumulação de espécies (ou de unidades taxonômicas operacionais), melhor é a amostragem, isto é, mais informação as amostras contêm sobre a comunidade estudada. Pode-se perceber que as comunidades de BNL não foram tão bem amostradas como a comunidade de banco de sementes. As curvas indicam que o exame de um maior número de isolados, o que significa a coleta de um maior número de nódulos, se expressaria significativamente em um maior número de grupos culturais. Porém a concavidade das curvas indica que as amostras contêm uma quantidade razoável de informação sobre as comunidades estudadas. Pode-se observar que as comunidades de BNL das três áreas estudadas foram amostradas relativamente com a mesma intensidade, visto que as curvas se aproximam entre si, embora haja diferença no número de isolados obtidos em cada área.

A estimativa com base no índice de Shannon pode ser considerada boa devido à tendência de diminuição da variação no índice de Shannon com o aumento no número de isolados examinados. O índice de Shannon é razoavelmente independente do tamanho da amostra, de modo que é necessário um pequeno número de amostras para se obter um índice seguro para efeitos de comparação (Odum, 1988). Por outro lado, a variação na riqueza com a coleta de um maior número de isolados pode ser significativa. Assim, se a análise da diversidade for baseada na riqueza de grupos culturais, é de se esperar que os resultados possam variar significativamente em função do tamanho da amostragem.

O índice de Shannon apresentou um valor baixo na área de floresta, mas pode-se observar que a curva para o índice de Shannon da comunidade da floresta acompanha a curva da comunidade da área cultivada com mandioca. Deste modo, era de se esperar que o índice de Shannon fosse maior se um maior número de isolados fosse coletado na floresta. De fato, de acordo com a análise de rarefação, se fosse coletado o mesmo número de isolados de BNL na área cultivada com mandioca que foi coletado na floresta, o número de tipos culturais encontrados seria bem próximo, 17 grupos culturais na floresta e 19 isolados na área cultivada com mandioca. Deste modo, recomenda-se, em estudos posteriores, o exame de um maior número de isolados, para que seja detectada a diversidade real de BNL na floresta.

Os dois modelos de abundância de espécies utilizados se ajustaram aos dados das comunidades encontradas. O ajuste de mais de um tipo de distribuição a uma comunidade é destaque por Magurran (1987). De acordo com Magurran (1987), vários grupos de dados são bem descritos ao mesmo tempo pela série logarítmica e pela série log normal. Quando a distribuição log normal está truncada ela é virtualmente indistinguível da distribuição logarítmica. Se considerarmos que a comunidade foi relativamente bem amostrada, é razoável considerar o modelo logarítmico normal como o mais adequado (Magurran, 1987).

O ajuste dos dois modelos de distribuição à comunidade da área de floresta pode ser explicado pelo pequeno número de isolados obtidos na área de floresta. Porém, se considerarmos que foi realizada uma boa amostragem e que o menor valor qui-quadrado encontrado para o ajuste dos modelos foi o logarítmico, é razoável considerar este modelo como representativo da comunidade da floresta.

O valor de qui-quadrado para o ajuste da distribuição log normal à comunidade de BNL da área cultivada com mandioca foi menor, e mesmo um

exame do gráfico das distribuições mostra que a distribuição log normal se aproxima mais desta comunidade. Para a comunidade da área cultivada com pupunheira, o melhor ajuste foi da distribuição logarítmica.

É interessante destacar que os solos das áreas estudadas são bastante ácidos, com o pH variando de 4,4 a 5,1. Isolados provenientes destes solos podem ser utilizados para a seleção de estirpes eficientes para plantas nativas da região com potencial de utilização na agricultura e na área florestal, bem como para plantas já tradicionalmente cultivadas, como o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e o caupi (*Vigna unguiculata*), para serem cultivadas pelas populações da região (Pereira, 2000; Lacerda et al., 2004). E como a acidez é uma característica presente em solos de várias regiões do Brasil, isolados provenientes de solos ácidos da Amazônia poderiam ser utilizados para inoculação do feijoeiro nestes outros solos. O potencial da região tropical como fonte de novas estirpes é exemplificado pelo trabalho de Lacerda et al. (2004), os quais verificaram que estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solos da Amazônia foram altamente eficientes em caupi, até mesmo mais eficientes que a estirpe atualmente recomendada. E estas estirpes foram eficientes em solos do estado de Minas Gerais, mostrando também que estirpes oriundas da Amazônia podem ter potencial para serem utilizadas em outras regiões do Brasil.

6 CONCLUSÕES

1. Os sistemas de uso da terra alteraram as comunidades de BNL;
2. As áreas cultivadas apresentaram-se com maior densidade de células de BNL que a área de floresta;
3. Observou-se uma ampla diversidade de grupos culturais de BNL na região estudada;
4. A diversidade de grupos culturais foi maior na área cultivada com mandioca, porém a curva de acumulação para o índice de Shannon indica que há uma tendência de encontrar uma maior diversidade na floresta do que a que foi encontrada, se for analisado um maior número de isolados;
5. A riqueza pela análise de rarefação foi semelhante para as três áreas estudadas;
6. Os isolados de crescimento lento das áreas cultivadas apresentaram maior similaridade entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, O. M.; LÓPEZ, M. V.; RICCILLO, P. M. The diversity of rhizobia nodulating beans in Northwest Argentina as a source of more efficient inoculant strains. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, n. 2/3, p. 181-188, Oct. 2001.
- ANDRADE, D. S.; MURPHY, P. J.; GILLER, K. E. The diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* in Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 8, p. 4025-4034, Aug. 2002.
- BALA, A.; MURPHY, P.; GILLER, K. E. Genetic Diversity of rhizobia from natural samples varies with the soil dilution sampled. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 841-843, May 2001.
- BALA, A.; MURPHY, P.; GILLER, K. E. Occurrence and genetic diversity of rhizobia nodulating *Sesbania sesban* in African soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 11, p. 1759-1768, Nov. 2002.
- BALA, A.; MURPHY, P. J.; OSUNDE, A. O.; GILLER, K. E. Nodulation of tree legumes and ecology of their native rhizobial populations in tropical soils. Article in press. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 643, n. 3, p. 211-223, Mar. 2003.
- BARNET, Y. M.; CATT, P. C. Distribution and characteristics of root-nodule bacteria isolated from Australian *Acacia* spp. **Plant & Soil**, Dordrecht, v. 135, n. 1, p. 109-120, aug. 2001.
- BENNETT, J. E.; WOOMER, P. L.; YOST, R. S. **User manual for MPNES most-probable-number enumeration system ver. 1.0**. NifTAL project and University of Hawaii, 1990.
- BLACK, G. A.; DOBZHANSKY, T. H.; PAVAN, C. Some attempts to estimate species diversity and population density of trees in amazonian forest. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 3, n. 4, p. 413-425, 1950.
- BONETTI, R.; OLIVEIRA, L. A.; MAGALHÃES, F. M. M. População de Rhizobium spp. E ocorrência de micorriza V. A. em cultivos de essências florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 139-139, 1984. Edição Especial.

BORNERMAN, J.; TRIPLETT, E. W. molecular diversity in soils from Easter Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 7, p. 2647-2653, July 1997.

BRUIJN, F. J. de. Use of repetitive (repetitive estragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergenic consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 7, p. 2180-2187, July 1997.

BRUIJN, F. J. de; RADEMAKER, J.; SCHNEIDER, M. Rep-PCR Genomic Fingerprinting of Plant-Associated Bacteria and Computer-Assisted Phylogenetic Analyses. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS: biology of plant-microbe interaction, 8., 1996, New York. **Proceedings...** New York: APS Press, 1996. p. 497-502.

CHEN, W. M.; LAEVENS, S.; LEE, T. M.; COENYE, T.; VOS, P. de; MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 1729-1735, 2001.

CHEN, W. X.; TAN, Z. Y.; GAO, J. L.; LI, Y.; WANG, E. T. *Rhizobium hainanense* sp. nov., isolated from tropical legumes. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 47, n. 3, p. 870-873, July 1997.

COLWELL, R. K. **Estimates**: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 5. User's Guide and application published at: 1997. Disponível em: <<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>>. Acesso em 2004.

COLWELL, R. K.; CODDINGTON, J. A. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Bulletin**, London, v. 345, n. 1311, p. 101-118, July 1994.

COMISSÃO INTERMINISTERIAL PARA PREPARAÇÃO DA CONFERÊNCIA DAS NAÇÕES UNIDAS SOBRE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO - CIMA. **O desafio do desenvolvimento sustentável**: relatório do Brasil para a conferência das Nações Unidas sobre meio ambiente e desenvolvimento. Brasília: Cima, 1991. 204 p.

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M.; LOVATO, A.; MAIA, A. H. N.; MANFIO, G. P. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 159-167, Oct. 1999.

CUNNINGHAM, S. D.; MUNNS, D. N. The correlation between extracellular polysaccharide production and acid tolerance in *Rhizobium*. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 48, n. 6, p. 1273-1276, Nov./Dec. 1984.

CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T.; SCANNELL, J. W. Estimating diversity and its limits. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 99, n. 16, p. 10494-10499, Aug. 2002.

DE LAJUDIE, P.; LAURENT-FULELE, E.; WILLEMS, A.; TORCK, U.; COOPMAN, R.; COLLINS, M. D.; KERSTERS, K.; DREYFUS, B.; GILLIS, M. *Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 48, n. 4, p. 1277-1290, Oct. 1998.

DE LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; POT, B.; DEWETTINCK, D.; MAESTROJUAN, G.; NEYRA, M.; COLLINS, M. D.; DREYFUS, B.; KERSTERS, K.; GILLIS, M. Polyphasic taxonomy of rhizobia - emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb-nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 44, n. 4, p. 715-733, 1994.

DE LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; NICK, G.; MOREIRA, F.; MOLOUBA, F.; HOSTE, B.; TORCK, U.; NEYRA, M.; COLLINS, M. D.; LINDSTRÖM, K.; DREYFUS, B.; GILLIS, M. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 48, p. 369-382, 1998.

DOWDLE, S. F.; BOHLOOL, B. Predominance of fast-growing *Rhizobium japonicum* in a soybean field in the People's Republic of China. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, n. 5, p. 1171-1176, May 1985.

DREYFUS, B.; GARCIA, J. L.; GILLIS, M. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen-nov., sp-nov., a stem-nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 38, n. 1, p. 89-98, Jan. 1988.

DUCKE, A. Notas sobre a Flora Neotropica. II. As leguminosas da Amazônia brasileira. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Norte**, Belém, n. 18, 1949.

EKLUND, G.; LANKFORD, C. E. **Laboratory manual for general microbiology**. New Jersey: Prentice-Hall, 1967.

ERWIN, T. L. A copa da floresta tropical: o coração da diversidade biológica. In: WILSON, E. O. (Ed.). **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 158-165.

FARIA, S. M. de; LEWIS, G. P.; SPRENT, J. I. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, Cambridge, v. 111, n. 4, p. 607-619, Apr. 1989.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory manual of general microbiology** – with special reference to the microorganisms of the soil. New York: McGraw-Hill Book Company, 1928. 145 p.

GAMA, J. R. N.; KIEHL, J. C. Influência do alumínio de um podzólico vermelho-amarelo do Acre sobre o crescimento as plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 475-482, abr./jun. 1999.

GAO, J.; TEREFEWORK, Z.; CHEN, W.; LINDSTRÖM, K. Genetic diversity of rhizobia isolated from *Astragalus adsurgens* growing in different geographical regions of China. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, n. 2/3, p. 155-168, Oct. 2001.

GIBSON, A. H.; DREYFUS, B. L.; DOMMERGUES, Y. R. **Nitrogen fixation by legumes in the tropics**. Hague, Holanda: Martinez Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, 1982.

GOOR, M.; KERSTERS, K.; MERGAERT, J.; RYCKAERT, C.; SWINGS, J.; VANTOMME, R.; VAN DEN MOOER, M.; VERDONCK, L. Numerical Analysis of Phenotypic Features. In: KLEMENT, Z.; RUDOLPH, K.; SANDS, D. C. **Methods in Phytobacteriology**. Akadémiai Kiado, Budapest, 1990. p. 145-152.

GRAY, J. X.; ROLFE, B. G. Exopolysaccharide production in *Rhizobium* and its role in invasion. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 4, n. 9, p. 1425-1431, Sept. 1990.

HANDELSMAN, J.; BRILL, W. J. *Erwinia herbicola* isolates from alfalfa plants may play a role in nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 49, n. 4, p. 818-821, Apr. 1985.

HANDLEY, B. A.; HEDGES, A. J.; BERINGER, J. E. Importance of host plants for detecting the population diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 241-249, Feb. 1998.

HARA, F. A. dos S. **Ecologia de rizóbia em condições ácidas e de baixa fertilidade da Amazônia**. 2003. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus, AM.

HARRISON, S. P.; MYTTON, L. R.; SKOT, L.; DYE, M.; CRESSWELL, A. Characterization of *Rhizobium* isolates by amplification of DNA polymorphisms using random primers. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, n. 12, p. 1009-1015, Dec. 1992.

HILL, T. C. J.; WALSH, K. A.; HARRIS, J. A.; MOFFETT, B. F. Using ecological diversity measures with bacterial communities. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 1-11, Feb. 2003.

HUGHES, J. B.; HELLMANN, J. J.; RICKETTS, T. H.; BOHANNAN, J. M. Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 10, p. 4399-4406, Oct. 2001.

HUNGRIA, M.; CHUEIRE, L. M. de O.; COCA, R. G.; MEGÍAS, M. Preliminary characterization of fast growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 10, p. 1349-1361, Aug. 2001.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAÚJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.) **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado, 1997. p. 189-294.

ISZÁK, J.; PAPP, L. A link between ecological diversity indices and measures of biodiversity. **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 130, n. 1/3, p. 151-156, June 2000.

JANZEN, D. H. **Ecologia vegetal nos trópicos**. São Paulo: EPU, Editora da Universidade de São Paulo, 1980. 79 p.

JARVIS, B. D. W.; van BERKUM, P.; CHEN, W. X.; NOUR, S. M.; FERNANDEZ, M. P.; CLEYET-MAREL, J. C.; GILLIS, M. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium cicer*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshansense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 47, n. 3, p. 895-898, July 1997.

JENSEN, H. L. Nitrogen fixation in leguminous plants. I. General characters of root-nodule bacteria isolated from species of *Medicago* and *Trifolium* in Australia. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, Sidney, v. 66, p. 98-108, 1942.

JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae*. In: HRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.) **Bergey's manual of systematic bacteriology**, 1984. v. 1, p. 235-256.

KAHINDI, J. H. P.; WOOMER, P.; GEORGE, T.; MOREIRA, F. M. de S.; KARANJA, N. K.; GILLER, K. E. Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 55-76, Aug. 1997.

KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 170, n. 1, p. 75-86, Mar. 1995.

KOSENKO, L. V.; MYKHALKIV, L. M.; KRUGOVA, E. D.; MANDROVSKAYA, N. M.; ZATOVSKAYA, T. V.; KOTS, S. Y. A. The biological activity of *Sinorhizobium meliloti* glucan. **Microbiology**, New York, v. 72, n. 5, p. 564-568, Sept. 2003.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 51, n. 293, p. 67-82, 2004.

LAGUERRE, G.; ALLARD, M. R.; REVOY, F.; AMARGER, N. Rapid identification of rhizobia by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 1, p. 56-63, Jan. 1994.

LAGUERRE, G.; BARDIN, M.; AMARGER, N. Isolation from soil of symbiotic and nonsymbiotic *Rhizobium leguminosarum* by DNA hybridization. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 1142-1149, 1993.

LAGUERRE, G.; GENIAUX, E.; MAZURIER, S. I.; CASARTELLI, R. R.; ANARGER, N. Conformity and diversity among field isolates of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, bv. *Trifolii*, and bv. *Phaseoli* revealed by DNA hybridization using chromosome and plasmid probes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 39, n. 4, p. 412-419, Apr. 1993.

MAGALHÃES, F. M. M.; MAGALHÃES, L. M. S.; OLIVEIRA, L. A.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus, AM. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 12, n. 3, p. 509-514, set. 1982.

MAGURRAN, A. E. **Ecological diversity and its measurement**. New Jersey: Princeton, 1987. 179 p.

MARQUES, J. J.; TEIXEIRA, W. G.; SCHULZE, D. G.; CURTI, N. Mineralogy of soils with unusually high exchangeable Al from the western Amazon Region. **Clay Minerals**, London, v. 37, n. 4, p. 651-661, dec. 2002.

MARTINS, L. M. V.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 1005-1010, May/June 1997.

MELLONI, R. **Densidade e diversidade de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares em solos de mineração de bauxita**. 2001. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MELLONI, R.; NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 85-93, jan/fev 2004.

MOREIRA, F. M. S. **Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica**. 1991. 158 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.

MOREIRA, F. M. S. Nodulação e crescimento de leguminosas em dois solos da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 197-204, maio/ago. 1995.

MOREIRA, F. M. S.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSKERS, K.; FRANCO, A. A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical leguminosae by comparative polyacrylamide gel eletrophoresis of their total proteins. **Systematic and Applied Micorbiology**, Stuttgart, v. 17, n. 1, p. 135-146, Apr. 1993.

MOREIRA, F. M. S.; HAUKKA, K.; YOUNG, J. P. W. Biodiversity of rhizobia isolated from a wide range of forest legumes in Brazil. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 889-895, July 1998.

MOREIRA, F. M. S.; HUANG, S.; BARROS, E.; CARES, J.; COSTA, R.; FEIGL, B.; PEREIRA, E.; SWIFT, M. Indicators of change in bellow-ground ecosystems in Brazil. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, 1999, Salt Lake City, Utah. **Abstracts...** Salt Lake City, Utah: ASA/CSSA/SSSA, 1999. p. 49.

MOREIRA, F. M. S.; PEREIRA, E. G. Microsymbionts: Rhizobia. In: SWIFT, M.; BIGNELL, D. (Ed.). **Standard methods for assessment of soil biodiversity and land use practice**. Bogor, Indonesia, 2001. 34 p.

MOREIRA; F. M. S.; SILVA, M. F. da; FARIA, S. M. de. Ocurrance of nodulation in legume species in the Amazon region of Brazil. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, n. 4, p. 563-570, Aug. 1992.

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

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOIVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of proteobacteria. **Nature**, London, v. 411, n. 6850, p. 948-950, Aug. 2001.

NICK, G.; DE LAJUDIE, P.; EARDLY, B. D.; SUOMALAINEN, S.; PAULIN, L.; ZHANG, X.; GILLIS, M.; LINDSTRÖM, K. *Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov., two new species isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya. In: NICK, G. **Polyphasic taxonomy of rhizobia isolated from tropical tree legumes**. Hakapaino Oy, Helsinki, 1998.

NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; LIMA, A. S. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 2, 2004. No prelo.

NORRIS, D. O. Acid production by *Rhizobium* a unifying concept. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 22, n. 2, p. 143-166, 1965.

ODEE, D. W.; HAUKKA, K.; MCINROY, S. G.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M.; YOUNG, J. P. W. Genetic and symbiotic characterization of rhizobia isolated from tree and herbaceous legumes grown in soils from ecologically diverse sites in Kenya. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 801-811, June 2002.

ODEE, D. W.; SUTHERLAND, J. M.; MAKATIANI, E. T.; MCINROY, S. G.; SPRENT, J. I. Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 188, n. 1, p. 65-75, Jan. 1997.

ODUM, E. P. **Princípios de ecologia**. 1988.

PADMANABHAN, S.; HIRTZ, R. D.; BROUGHTON, W. J. Rhizobia in tropical legumes: cultural characteristics of *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* sp. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 23-28, 1990.

PARKER, M. A.; LUNK, A. Relationships of Bradyrhizobia from *Platypodium* and *Machaerium* (Papilionoideae: tribe Dalbergieae) on Barro Colorado Island, Panama. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology**, Basingstolke, v. 50, n. 3, p. 2279-2285, May 2000.

PARKIN, T. B.; ROBINSON, J. A. Statistical treatment of microbial data. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Eds.). **Methods of Soil analysis. Part 2, Microbial and Biochemical Properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 15-39. (SSSA Book Series, no. 5).

PELCZAR, M. S.; REID, R. D.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo; McGraw-Hill do Brasil, v. 1, 1981.

PEREIRA, E. G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia**. 2000. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PRANCE, G. T.; RODRIGUES, W. A.; SILVA, M. F. Inventário florestal de um hectare de mata de terra firme km 30 da Estrada Manaus-Itacoatiara. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 6, n. 1, p. 9-35, mar. 1976.

PUGASHETTI, B. K.; ANGLE, J. S.; WAGNER, G. H. Soils microorganisms antagonist towards *Rhizobium japonicum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 45-49, 1982.

RIVAS, R.; VELÁZQUEZ, E.; WILLEMS, A.; VIZCAÍNO, N.; SUBBA-RAO, N. S.; MATEOS, P. F.; GILLIS, M.; DAZZO, F. B.; MARTÍNEZ-MOLINA, E. A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans* (L. f.) Druce. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 11, p. 5217-5222, Nov. 2002.

SCIENCENET. New strains of symbiotic nitrogen fixing Proteobacteria. Disponível em: <<http://www.sciencenet.or.uk/slup/CuttingEdge/June01/Proteobacteria.html>>. Acesso em: 04 jan. 2002.

SCROCHT, G.; SEIXAS, R.; SILVA, L. F. da; TEIXEIRA, W. G.; ZECH, W. Nutrient concentrations and acidity in ferralitic soil under perennial cropping, fallow and primary Forest in central Amazônia. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 51, n. 2, p. 219-231, June 2000.

SULLIVAN, J. T.; EARDLY, B. D.; BERKUN, P. van; RONSON, C. W. Four unnamed species of nonsymbiotic rhizobia isolated from the rhizosphere of *Lotus corniculatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 8, p. 2818-2825, 1996.

SWIFT, M. J.; ANDERSON, J. M. Biodiversity and ecosystem function in agricultural systems. In: SCHULZE, E. D.; MOONEY, H. A. (Eds.). **Biodiversity and ecosystem function**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p. 15-41.

SY, A.; GIRAUD, E.; JOURAND, P.; GARCIA, N.; WILLEMS, A.; DE LAJUDIE, P.; PRIN, Y.; NEYRA, M.; GILLIS, M.; BOIVIN-MASSON, C.; DREYFUS, B. Methylophilic Methylobacterium bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v. 183, n. 1, p. 214-220, Jan. 2001a.

SY, A.; GIRAUD, E.; SAMBA, R.; DE LAJUDIE, P.; GILLIS, M.; DREYFUS, B. Certaines légumineuses du genre *Crotalaria* sont spécifiquement

nodulées par une nouvelle espèce de *Methylobacterium*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 47, n. 6, p. 503-508, June 2001b.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; OLIVEIRA, L. A.; PODESTÁ FILHO, J. A.; ST. JOHN, T. V. Nodulations of legumes, nitrogen activity of roots and occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* spp. in representative soil of Central Amazonia. **Agro. Ecosystems**, Amsterdam, v. 6, p. 249-266, 1980.

TAMIMI, S. M. Genetic diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the soils of the Jordan valley. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 183-190, Feb. 2002.

TAN, I. K. P.; BROUGHTON, W. J. Rhizobia in tropical legumes. XIII. Biochemical basis of acid and alkali reactions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 14, n. 3, p. 389-393, 1981.

THIES, J. E.; BOHLOOL, B.B.; SINGLETON, P. W. Subgroups of the cowpea mescellany: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogea* and *Macroptilium atropurpureum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, n. 5, p. 1540-1545, May 1991.

UNEP-GEF TSBF-CIAT PROJECT. **Conservation and sustainable management of below-ground biodiversity. Start-up Workshop Report**. Wageningen Agricultural University, Department of Plant Sciences, Wageningen, The Netherlands, 26-20 Ago. 2002.

VAN BERKUM, P.; EARDLY, B. D. The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a nitrogen-fixing symbiont of *Aescynomeme indica*. **Applied and Environmental Micorbiology**, v. 68, n. 3, p. 1132, 2000.
Disponível em: <<http://www.aem.asm.org/cgi/content/abstract/68/3/1132>>
Acesso em: 06 mar. 2002.

VANDAMME, P.; POT, B.; GILLIS, M.; DE VOS, P.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. **Microbiological Reviews**, v. 60, n. 2, p. 407-438, June 1996.

VENKATESWARLU, B.; HARI, K.; KATYAL, J. C. Influence of soil and crop factors on the native rhizobial populations in soils under dryland farming. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 1-10, Dec. 1997.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria.** Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. (International Biological Programme Handbook, n. 15.)

VINUESA, P.; RADEMAKER, J. L. W.; BRUIJN, F. J. de; WERNER, D. Genotypic characterization of Bradyrhizobium strains nodulating endemic wood legumes of the Canary Islands by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of gene encoding 16S rRNA (16S rDNA) and 16S-23S rDNA intergenic spacers, repetitive extragenic palindromic PCR genomic fingerprinting, and partial 16S rDNA sequencing. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 6, p. 2096-2104, June 1998.

WATVE, M. G.; CANGAL, R. M. Problems in measuring bacterial diversity and a possible solution. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 2, n. 11, p. 4399-4406, Nov. 1996.

WOESE, C. R. Bacterial evolution. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 51, n. 2, p. 221-271, June 1987.

WOOMER, P. L. Most Probable Number Counts. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Eds.). **Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties.** Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 59-79. (SSSA Book Series, no. 5).

WOOMER, P.; SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Ecological indicators of native rhizobia in tropical soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 5, p. 1112-1116, May 1988.

YOUNG, J. M.; KUYKENDALL, L. D.; MARTÍNEZ-ROMERO; KERR, A.; SAWADA, H. A revision of Rhizobium Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Basingstoke, v. 51, n. 1, p. 89-103, Jan. 2001.

ZÉZÉ, A.; MUTCH, L. A.; YOUNG, P. W. Direct amplification of nodD from community DNA reveals the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* in soil. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 363-370, June 2001.

ZUBERER, D. A. Recovery and enumeration of viable bacteria. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (Eds.). **Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties.** Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 119-143. (SSSA Book Series, no. 5).

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Descrição de características morfológicas em meio de cultivo YMA com azul de bromotimol, pH 6,8, de 257 isolados de BNL isoladas de áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.....	93
ANEXO B		
TABELA 1B	Frequências observadas de isolados BNL em floresta e cultivos de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.	104
TABELA 2B	Frequências esperadas de isolados BNL em floresta e cultivos de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.	104
TABELA 3B	Valores de qui-quadrado.....	105
ANEXO C		
TABELA 1C	Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada na floresta.	106
TABELA 2C	Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada na floresta.	106
TABELA 3C	Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com mandioca.	106
TABELA 4C	Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com mandioca.....	107

TABELA 5C	Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com pupunheira.....	107
TABELA 6C	Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com pupunheira.....	107
ANEXO D		
TABELA 1D	Quadros de análise de variância avaliando valores de pH em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	108
TABELA 2D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Ca em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	108
TABELA 3D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Mg em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	109
TABELA 4D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Al em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	109
TABELA 5D	Quadros de análise de variância avaliando teores de K em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	109
TABELA 6D	Quadros de análise de variância avaliando teores de P em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	110

TABELA 7D	Quadros de análise de variância avaliando teores de S em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.	110
TABELA 8D	Quadros de análise de variância avaliando teores de matéria orgânica em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	110
TABELA 9D	Quadros de análise de variância avaliando teores de B em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.	111
TABELA 10D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Cu em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	111
TABELA 11D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Mn em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	111
TABELA 12D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Zn em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.	112
TABELA 13D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Na em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	112
TABELA 14D	Quadros de análise de variância avaliando teores de Fe em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.....	112

ANEXO E

TABELA 1E	Valores de R múltiplo, R quadrado, R quadrado ajustado e erro padrão, calculados para a análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.	113
TABELA 2E	Análise da variância para a análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.	113
TABELA 3E	Significância dos valores de coeficientes linear e angular da equação obtida a partir da análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.	113

ANEXO F

TABELA 1F	Quadros de análise de variância avaliando a eficiência das populações de bactérias que nodulam leguminosas em promover o crescimento das plantas de siratro (massa da parte aérea seca).	114
-----------	---	-----

ANEXO A

TABELA 1A. Descrição de características morfológicas em meio de cultivo YMA com azul de bromotimol, pH 6,8, de 257 isolados de BNL isoladas de áreas de floresta e cultivadas com mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.

Código ¹	TC (dias) ²		pH ³	Goma ⁴	Formato ⁵	Diâmetro ⁶	Bordo	Elevação ⁷	Coloração ⁸	TL ⁹	AI ¹⁰	SP ¹¹
F1	5	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
F2	6	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
F3	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F4	4	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F5	4	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F6	5	I	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F7	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
F8	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
F9	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F10	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F11	5	I	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F12	11	ML	B-	1	Redonda	PF	Inteiro		Branca	O	-	LS
F13	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
F14	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

F15	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
F16	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F17	1	MR	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/4	ST		LS
F18	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
F19	2	R	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	O	+	LS
F20	2	R	A-	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F21	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
F22	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F23	2	R	A-	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
F24	1	MR	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F25	1	MR	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	5Y 9/2	O	+	LS
F26	1	MR	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F27	5	I	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
F28	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F29	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
F30	2	R	A+	5	Coalescente	G	Coalescente	Plana	5Y 9/4	T	-	LS
F31	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	CC
F32	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	CC
F33	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M1	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	+	LS
M2	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M3	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M4	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M5	5	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M6	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

M7	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M8	6	L	B-	2	Redonda	P	Inteiro	P	Branca	O	-	LS
M9	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M10	6	L	B-	2	Redonda	P	Inteiro	P	Branca	O	-	LS
M11	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M12	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M13	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M14	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M15	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M16	5	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M17	4	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M18	5	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M19	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M20	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M21	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M22	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M23	7	L	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M24	4	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M25	4	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M26	4	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M27	4	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M28	5	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	T	-	LS
M29	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M30	4	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M31	5	I	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

M32	6	L	B-	3	Irregular	M	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M33	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M34	6	L	B-	3	Irregular	P	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M35	4	I	B-	4	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M36	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M37	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M38	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
M39	9	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M40	5	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M41	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
M42	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
M43	4	I	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M44	8	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M45	8	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M46	5	I	B-	4	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M47	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M48	6	L	B+	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M49	9	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M50	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M51	2	R	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	10YR 9/2	O	-	LS
M52	4	I	N	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M53	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/4	ST	+	CC
M54	2	R	N	2	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
M55	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/4	O	+	CC
M56	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

M57	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/4	ST	+	LS
M58	4	I	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
M59	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M60	1	MR	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M61	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M62	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M63	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M64	2	R	A-	3	Coalescente	G	Irregular	Plana	5Y 9/2	T	-	LS
M65	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M66	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/4	O	+	LS
M67	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M68	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M69	1	MR	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	10YR 9/2	O	-	LS
M70	2	R	A-	4	Coalescente	G	Irregular	Convexa	5Y 9/6	T	-	LS
M71	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M72	2	R	A-	5	Coalescente	G	Coalescente	Coalescente	5Y 9/4	T	-	LS
M73	2	R	A-	5	Coalescente	G	Coalescente	Coalescente	5Y 9/4	T	-	LS
M74	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M75	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M76	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 8/2	O	-	LS
M77	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	LS
M78	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M79	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/6	O	-	LS
M80	1	MR	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	5Y 9/2	O	+	CC
M81	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/4	ST	+	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

M82	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	10YR 8/2	ST	+	LS
M83	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	LS
M84	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M85	2	R	A-	4	Redonda	G	Coalescente	Efusa	5Y 9/4	T	-	LS
M86	5	I	A-	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M87	1	MR	A-	4	Coalescente	G	Coalescente	Efusa	5Y 8,5/1	O	-	LS
M88	4	I	A+	5	Redonda	P	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	-	LS
M89	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	10YR 9/2	ST	+	LS
M90	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M91	2	R	A+	2	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	O	+	CC
M92	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/4	ST	+	LS
M93	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/4	ST	+	LS
M94	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/2	ST	+	LS
M95	2	R	A+	1	Redonda	M	Inteiro	Plana	5Y 9/2	O	+	CC
M96	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	CC
M97	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	CC
M98	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	10YR 9/2	ST	+	CC
M99	2	R	A-	5	Coalescente	G	Coalescente	Convexa	5Y 9/4	T	-	LS
M100	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M101	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	CC
M102	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
M103	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/2	ST	+	LS
M104	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/2	ST	+	LS
M105	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	LS
M106	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8/4	ST	+	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

M107	2	R	A+	5	Coalescente	G	Inteiro	Efusa	5Y 9/4	O	+	LS
M108	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	+	CC
M109	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
M110	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/2	ST	+	LS
M111	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/4	ST	+	LS
M112	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/4	O	+	LS
M113	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 8,5/4	ST	+	LS
P1	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P2	5	I	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P3	1	MR	A+	2	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P4	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P5	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P6	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P7	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P8	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P9	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P10	7	L	B-	1	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P11	8	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P12	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P13	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P14	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P15	6	L	B-	4	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P16	6	L	B-	1	Redonda	P	Inteiro	P	Branca	O	-	LS
P17	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P18	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

P19	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	T	-	LS
P20	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P21	4	I	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P22	6	L	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P23	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P24	6	L	B-	2	Redonda	M	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P25	6	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P26	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P27	6	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P28	6	L	B-	1	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P29	5	I	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P30	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P31	7	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	P	Branca	O	-	LS
P32	6	L	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P33	5	I	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P34	5	I	B-	5	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P35	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P36	5	I	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P37	4	I	B-	4	Redonda	P	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P38	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P39	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P40	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P41	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P42	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P43	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

P44	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P45	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P46	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P47	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P48	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P49	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P50	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P51	8	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	-	LS
P52	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P53	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P54	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P55	6	L	B-	3	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P56	6	L	B-	3	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P57	6	L	B-	4	Redonda	P	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P58	6	L	B-	4	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	T	-	LS
P59	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P60	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P61	6	L	B-	2	Redonda	P	Inteiro	Efusa	Branca	O	-	LS
P62	7	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P63	8	L	B-	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P64	5	I	B-	1	Redonda	P	Inteiro	Plana	5Y 9/4	O	-	LS
P65	6	L	B-	2	Redonda	PF	Inteiro	PF	Branca	O	-	LS
P66	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P67	7	L	B-	4	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS
P68	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

P69	2	R	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P70	2	R	A+	3	Redonda	M	Inteiro	Plana	5Y 9/6	T	-	LS
P71	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	-	LS
P72	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P73	2	R	A-	4	Coalescente	G	Coalescente	Plana	5Y 9/4	T	-	LS
P74	2	R	A+	5	Coalescente	G	Coalescente	Plana	5Y 9/4	T	-	LS
P75	1	MR	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	T	+	LS
P76	1	MR	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P77	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P78	1	MR	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P79	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P80	1	MR	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P81	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P82	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P83	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P84	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P85	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P86	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P87	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P88	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P89	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	CC
P90	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P91	2	R	A+	3	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P92	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P93	2	R	A+	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS

Continua...

TABELA 1A, Cont.

P94	1	MR	A-	3	Coalescente	G	Inteiro	Plana	Branca	O	-	LS
P95	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	-	LS
P96	2	R	A-	3	Redonda	G	Inteiro	Plana	Branca	O	+	LS
P97	1	MR	A-	2	Redonda	G	Inteiro	Plana	Branca	O	+	LS
P98	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Plana	5Y 9/2	O	+	LS
P99	2	R	A-	1	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	O	+	LS
P100	2	R	A-	4	Coalescente	G	Inteiro	Coalescente	5Y 9/2	O	-	LS
P101	2	R	A-	4	Coalescente	G	Coalescente	Plana	5Y 9/4	T	-	LS
P102	2	R	A+	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P103	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P104	1	MR	A-	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P105	1	MR	A-	5	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	-	LS
P106	2	R	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	O	+	LS
P107	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	10YR 9/2	O	+	LS
P108	1	MR	A-	4	Redonda	G	Inteiro	Convexa	5Y 9/2	ST	+	LS
P109	2	R	A-	3	Redonda	M	Inteiro	Convexa	5Y 9/4	O	-	LS
P110	2	R	A-	2	Redonda	M	Inteiro	Plana	Branca	O	+	CC
P111	2	MR	N	2	Redonda	PF	Inteiro	Convexa	Branca	O	-	LS

¹Isolados provenientes da área de F, floresta; M, mandioca; P, pupunha. ²TC = tempo para o aparecimento de colônias isoladas. MR – muito rápido, 1 dia; R – rápido, 2-3 dias; I – intermediário, 4-5 dias; L – lento, 6-10 dias; ML, mais de 10 dias. ³pH: A+, muito ácido – pH 5,0; A-, pouco ácido - 6,0 a 6,7; N, neutro - 6,8; B-, pouco básico – 6,9 a 7,2; B+, muito básico – 7,5 a 9,0. ⁴Goma: 5 – goma abundante; 4 – muita goma; 3 – goma intermediária; 2 – pouca goma; 1 – seca; 0 – muito seca. ⁵Red. = redonda. ⁶Diâmetro: PF – puntiforme, < 1,0 mm; P – pequena, 1,0 a 1,9 mm; M – média, 2,0 a 4,9; G – grande, ≥ 5,0 mm. ⁷PF – puntiforme, não foi possível observar elevação devido ao tamanho diminuto da colônia. ⁸Coloração de acordo com a carta de Munsell. ⁹T = Transmissão de luz. O, opaca; ST, semi-translúcida; T – translúcida. ¹⁰AI = Absorção de indicador azul de bromotimol - +, absorve o indicador; -, não absorve o indicador. ¹¹SP = Superfície. LS, lisa. CC; concêntrica.

ANEXO B

TABELA 1B. Frequências observadas de isolados BNL em floresta e cultivos de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.

Área	Tipos culturais		Total
	MR, R, A. ¹	I, L, ML, B. ²	
Floresta	19	14	33
Mandioca	63	50	113
Pupunheira	46	65	111
Total	128	129	257

¹Isolados de crescimento muito rápido e rápido, que acidificam o meio de cultura.

²Isolados de crescimento intermediário, lento e muito lento, que alcalinizam o meio de cultura.

TABELA 2B. Frequências esperadas de isolados BNL em floresta e cultivos de mandioca e pupunheira na região do Alto Solimões – AM.

Área	Tipos culturais		Total
	MR, R, A. ¹	I, L, ML, B. ²	
Floresta	16,436	7,027	23,463
Mandioca	56,280	25,097	81,377
Pupunheira	55,284	32,626	87,911
Total	128,000	64,751	192,751

¹Isolados de crescimento muito rápido e rápido, que acidificam o meio de cultura.

²Isolados de crescimento intermediário, lento e muito lento, que alcalinizam o meio de cultura.

TABELA 3B. Valores de qui-quadrado.

Área	Tipos culturais		Total
	MR, R, A	I, L, ML, B	
Floresta	0,400	6,919	7,319
Mandioca	0,802	24,710	25,512
Pupunheira	1,559	32,123	33,682
Total	2,762	63,751	66,512

H_0 : As frequências observadas são independentes do ecossistema.

H_1 : As frequências observadas são dependentes do ecossistema.

$GL = (linhas-1)(colunas-1) = 2 \times 1 = 2$.

Qui-quadrado tabelado: 5% = 5,991. 1% = 9,210.

Rejeita H_0 . As frequências observadas são dependentes do ecossistema.

ANEXO C

TABELA 1C. Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada na floresta.

Classe	Limite sup	N spp obs	N spp esp	Qui quad
1	2,5	13	13	0,002
2	4,5	2	3	0,381
3	8,5	2	1	2,418
S		17	17	2,801

Qui-quadrado tabelado 1GL: 5% = 3,841. 1% = 6,635.

TABELA 2C. Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada na floresta.

Classe	Limite sup	Observado	Esperado	Qui quad
1	2,5	13	14	0,065
2	4,5	2	2	0,086
3	8,5	2	1	1,112
S		17	17	0,429

Qui-quadrado tabelado 2GL: 5% = 5,991. 1% = 9,21.

TABELA 3C. Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com mandioca.

Classe	Limite sup	N spp obs	N spp esp	Qui quad
1	2,5	27	26	0,018
2	4,5	4	7	1,192
3	8,5	6	4	1,160
4	32,5	2	2	0,008
S		39	39	2,379

Qui-quadrado tabelado 2GL: 5% = 5,991. 1% = 9,21

TABELA 4C. Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com mandioca.

Classe	Limite sup	Observado	Esperado	Qui quad
1	2,5	27	25	0,130
2	4,5	4	7	1,189
3	8,5	6	5	0,405
4	32,5	2	2	0,027
S		39	39	1,751

Qui-quadrado tabelado 3GL: 5% = 7,815. 1% = 11,341

TABELA 5C. Ajuste do modelo de distribuição log normal de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com pupunheira.

Classe	Limite sup	N spp obs	N spp esp	Qui quad
1	2,5	23	21	0,216
2	4,5	5	5	0,039
3	8,5	1	3	1,745
4	32,5	3	2	0,431
S		32	32	2,432

Qui-quadrado tabelado 2GL: 5% = 5,991. 1% = 9,21

TABELA 6C. Ajuste do modelo de distribuição logarítmica de abundância de espécies à distribuição de abundância de grupos culturais de BNL observada em área cultivada com pupunheira.

Classe	Limite sup	Observado	Esperado	Qui quad
1	2,5	23	19	0,801
2	4,5	5	6	0,083
3	8,5	1	4	2,558
4	32,5	3	3	0,010
S		32	32	3,452

Qui-quadrado tabelado 3GL: 5% = 7,815. 1% = 11,341

ANEXO D

TABELA 1D. Quadros de análise de variância avaliando valores de pH em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	0,140	0,070	2,230	0,163
Erro	9	0,282	0,031		
	11	0,422			

CV = 3,79%

TABELA 2D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Ca em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	11,487	5,743	3,015	0,099
Erro	9	17,142	1,905		
	11	28,629			

CV = 34,01%

TABELA 3D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Mg em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	0,135	0,067	0,303	0,746
Erro	9	2,005	0,223		
	11	2,140			

CV = 29,50%

TABELA 4D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Al em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	20,412	10,206	4,299	0,489
Erro	9	21,365	2,373		
	11	27,110			

CV = 27,11%

TABELA 5D. Quadros de análise de variância avaliando teores de K em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	73,167	36,583	0,185	0,834
Erro	9	1783,750	198,194		
	11	1856,917			

CV = 26,27%

TABELA .6D. Quadros de análise de variância avaliando teores de P em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	1,927	0,963	1,693	0,238
Erro	9	5,122	0,569		
	11	7,049			

CV = 15,69%

TABELA 7D. Quadros de análise de variância avaliando teores de S em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	6,907	3,4533	1,94	0,199
Erro	9	16,020	1,780		
	11	22,927			

CV = 30,55%

TABELA 8D. Quadros de análise de variância avaliando teores de matéria orgânica em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	0,285	0,142	0,280	*****
Erro	9	4,575	0,508		
	11	24,585			

CV = 24,58%

TABELA 9D Quadros de análise de variância avaliando teores de B em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	0,285	0,1425	23,318	0,0003
Erro	9	0,055	0,006		
	11	0,340			

CV = 26,06%

TABELA 10D Quadros de análise de variância avaliando teores de Cu em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	1,005	0,502	9,726	0,006
Erro	9	0,465	0,052		
	11	1,470			

CV = 18,18

TABELA 11D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Mn em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	2948,135	1474,067	25,050	0,0002
Erro	9	529,615	58,8461		
	11	3477,750			

CV = 20,16

TABELA 12D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Zn em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	6,072	3,036	1,634	0,248
Erro	9	16,725	1,858		
	11	22,797			

CV = 33,38

TABELA 13D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Na em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	3,780	1,890	3,500	0,075
Erro	9	4,860	0,540		
	11				

CV = 17,09%

TABELA 14D. Quadros de análise de variância avaliando teores de Fe em solo de áreas de floresta e cultivos de mandioca e pupunheira. Tratamentos: floresta, mandioca e pupunheira.

FV	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	2	3828.552	1914.276	1.698	0.237
Erro	9	10148.277	1127.586		
Total	11	13976.829			

CV = 29,16%

ANEXO E

TABELA 1E. Valores de R múltiplo, R quadrado, R quadrado ajustado e erro padrão, calculados para a análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.

R múltiplo	0,83
R-Quadrado	0,69
R-quadrado ajustado	0,59
Erro padrão	0,54
Observações	5

TABELA 2E. Análise da variância para a análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	1,95	1,95	6,67	0,08
Erro	3	0,88	0,29		
Total	4	2,82			

TABELA 3E. Significância dos valores de coeficientes linear e angular da equação obtida a partir da análise de regressão entre o número mais provável de células de bactérias que nodulam leguminosas e os teores de cálcio no solo.

	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valorP
Interseção	0,46	0,74	0,62	0,58
Variável X 1	0,41	0,16	2,58	0,08

ANEXO F

TABELA 1F. Quadros de análise de variância avaliando a eficiência das populações de bactérias que nodulam leguminosas em promover o crescimento das plantas de siratro (massa da parte aérea seca).

FV	GL	SQ	QM	FC	Pr>Fc
Ecosistema	4	6616,97	1654,24	4,14	0,0063
Rep	11	2028,88	184,44	0,462	0,9166
Erro	43	17182,03	399,58		
Total	58	25827,88			

CV=53,67%

¹Ecosistema – Floresta, cultivos de mandioca e pupunheira.