



CESAR FLORENTINO PUMA VEGA

**ASPECTOS NUTRICIONAIS EM ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia
aculeata* Mill.) RELACIONADOS A MICRO-ORGANISMOS
PROMOTORES DE CRESCIMENTO VEGETAL E
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO**

**LAVRAS - MG
2019**

CESAR FLORENTINO PUMA VEGA

**ASPECTOS NUTRICIONAIS EM ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.)
RELACIONADOS A MICRO-ORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO
VEGETAL E CARACTERISTICAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO**

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

Professora Dra. Fatima Maria de Souza Moreira

Orientadora

Dra. Márcia Rufini

Coorientadora

**LAVRAS - MG
2019**

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

Vega, Cesar Florentino Puma.

Aspectos nutricionais em ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) relacionados a micro-organismos promotores de crescimento vegetal e características químicas e físicas do solo / Cesar Florentino Puma Vega. - 2018.

93 p. : il.

Orientador(a): Fatima Maria de Souza Moreira.

Coorientador(a): Márcia Rufini.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Ora-pro-nobis. 2. Plantas alimentícias não convencionais. 3. Fixação biológica de nitrogênio. I. Moreira, Fatima Maria de Souza. II. Rufini, Márcia. III. Título.

CESAR FLORENTINO PUMA VEGA

**ASPECTOS NUTRICIONAIS EM ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.)
RELACIONADOS A MICRO-ORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO
VEGETAL E CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO SOLO**

**NUTRITIONAL ASPECTS OF ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) RELATED
TO PLANT GROWTH PROMOTING MICROORGANISMS AND CHEMICAL AND
PHYSICAL CHARACTERISTICS OF SOIL**

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

APROVADA em 14 de dezembro de 2018.

Dr. Marcos Gervasio Pereira - UFRRJ

Dr. Teotonio Soares de Carvalho - UFLA

Professora Dra. Fatima Maria de Souza Moreira
Orientadora

Dra. Márcia Rufini
Coorientadora

LAVRAS – MG

2019

À mulher que foi minha primeira professora, meu exemplo, minha força, meu impulso para chegar até aqui, a quem devo todo o que eu sou a quem atribuo todos meus sucessos da minha vida, o ensino moral, intelectual e espiritual foi por ti querida mamai Maria Lourdes Vega Prieto

Dedico

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a **Deus** sobre tudo pela oportunidade de existir e guiar meus passos iluminando-me e conduzindo-me pelos melhores caminhos. Pela saúde, força e cuidado que durante esta caminhada me manteve firme inclusive nos momentos de dificuldade. Jeová é o meu pastor e nada me faltara;

A minha Família representada pela minha Mãe, Dona **Maria Lourdes Vega Prieto** que mesmo estando a milhes de quilômetros, desde meu país de origem, sempre esteve comigo me dando o seu apoio através de conselhos e de incessante oração por mim, fazendo votos de saúde e continuado êxito. Ao meu pai Florentino e meus irmãos Demetrio, Gladis, Eva e Marco por acreditarem nos meus sonhos e por suas orações. Mesmo com as dificuldades que encontramos no caminho, vocês, em momento algum, fizeram com que eu me sentisse sozinho no mundo. Amo vocês de forma incondicional;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos por meio do Programa Estudante Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG). À FAPEMIG e a CAPES;

À Universidade Federal de Lavras e em especial ao Departamento de Ciência do Solo e Grupo de pesquisa em **Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo**, pela oportunidade e apoio durante o período de realização dos trabalhos;

À professora **Fatima Maria de Souza Moreira** pela orientação, ensinamentos, e por todo seu apoio transmitido no decorrer deste trabalho;

À Dra **Márcia Rufini**, pela sua amizade, apoio e ensinamentos valiosos prestados durante a execução deste projeto, assim como ao meu amigo apreciado **Karl Kimmelmeier** pela sempre disposição, apoio incondicional e grandes contribuições feitas para a realização deste trabalho. Aos técnicos dos laboratórios do DCS, em especial a Marlene;

Aos meus amigos da Pós-Graduação em Ciência do Solo, Aline Oliveira, Eder, Carin, Osnar, Teotonio, Jesse, Damiany, Bruna, Jordana, Flavia Roman, Joana, Tainara, Mariana, Joao, André, Fabio Arnaldo, Adnane, Jefferson pelo convívio diário, pelo suporte nas horas difíceis, pela ajuda e por alegrarem meus dias.

RESUMO

Ora-pro-nobis (OPN) é uma cactácea hortícola pouco cultivada que apresenta alto potencial alimentício devido principalmente ao alto teor de proteína nas suas folhas. No entanto, pouco é conhecido sobre as características químicas, físicas e biológicas dos solos onde ocorre, assim como as relações destas com suas características nutricionais. Os microrganismos do solo desempenham um papel fundamental no ciclo de vida das plantas tanto na ciclagem como na disponibilidade de nutrientes. Bactérias são responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio e outros processos como promotores de crescimento vegetal de grande relevância agrícola e ambiental. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam associações simbióticas com a maioria das plantas vasculares. Esta associação micorrizica proporciona um aumento da absorção de nutrientes do solo pelas plantas, principalmente do fosforo, como consequência de uma melhor exploração do solo. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação de aspectos nutricionais de OPN com as comunidades de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos arbusculares e características químicas e físicas dos solos em diferentes locais no sul do estado de Minas Gerais. Amostras de solo, raízes e folhas foram coletados em quatro municípios próximos entre si, localizados em áreas rurais e urbanas. Foram isoladas bactérias diazotróficas do solo, rizosfera, e de macerado de raízes lavadas de OPN em água utilizando o meio semissólido NFb modificado. Esporos de FMA foram extraídos do solo pelo método do peneiramento úmido seguido por centrifugação em gradiente de sacarose. As raízes coletadas foram descoloridas e analisadas de acordo com os métodos tradicionais para avaliação da colonização micorrizica. Não houve relação entre o nitrogênio total no solo e o teor de proteína na folha de OPN. Também não houve relação entre o teor dos demais macro e dos micronutrientes na folha com os seus correspondentes teores no solo exceto para o caso do potássio. Foram obtidos 86 isolados distribuídos em 24 grupos culturais. O sequenciamento parcial do gene 16S rRNA dos isolados identificou em maior proporção o gênero *Azospirillum* de bactérias diazotróficas e em menor proporção os gêneros: *Azohydromonas*, *Azospira*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Caulobacter*, *Cryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Pseudoacidobacter* e *Variovorax*. Houve variação na densidade de esporos e colonização micorrizica. Apesar da baixa colonização radicular de FMAs, houve densidade considerável de esporos no solo. Foram identificadas as famílias *Ambisporaceae*, *Archaeosporaceae*, *Claroideogloeraceae*, *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Diversisporaceae* e *Gigasporaceae*. Conclui-se que existem bactérias diazotróficas associativas assim como FMAs em íntima relação com OPN, o que pode ter relação com o alto teor de nitrogênio nas folhas dessa espécie vegetal. As espécies de microrganismos encontradas podem ser usadas em futuros estudos de seleção visando o melhor desenvolvimento de OPN.

Palavras chave: Ora-pro-nobis. Plantas alimentícias não convencionais, PANCs. Fixação biológica de N₂. Biodiversidade.

ABSTRACT

Ora-pro-nobis (OPN) is a sparsely cultivated horticultural cactus that presents high food potential due mainly to the high protein content in its leaves. However, little is known about the chemical, physical and biological characteristics of the soils where it occurs, as well as their relationships with their nutritional characteristics. Soil microorganisms play a key role in the life cycle of plants both in cycling and in the availability of nutrients. Bacteria are responsible for the biological fixation of nitrogen and other processes as promoters of plant growth of great agricultural and environmental relevance. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form symbiotic associations with most vascular plants. This mycorrhizal association provides an increase in soil nutrient uptake by plants, mainly phosphorus, as a consequence of better soil exploration. The objective of this study was to evaluate the relationship of nutritional aspects of OPN with the communities of diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi and chemical and physical characteristics of the soils in different places in the southern state of Minas Gerais. Soil, root and leaf samples were collected in four nearby municipalities located in rural and urban areas. Diazotrophic bacteria from soil, rhizosphere, and maceration of washed roots of OPN in water were isolated using the modified NFb semi-solid medium. FMA spores were extracted from the soil by the wet sieving method followed by sucrose gradient centrifugation. The collected roots were discolored and analyzed according to the traditional methods for evaluation of mycorrhizal colonization. There was no relationship between the total nitrogen in the soil and the protein content in the OPN leaf. There was also no relationship between the content of the other macro and the micronutrients in the leaf and their corresponding contents in the soil except for the potassium. It was obtained 86 isolates distributed in 24 cultural groups. The partial sequencing of the 16S rRNA gene from the isolates identified the genus *Azospirillum*, of diazotrophic bacteria and to a lesser extent the genera: *Azohydromonas*, *Azospira*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Caulobacter*, *Cryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Pseudoacidobacter* and *Variovorax*. There was variation in spore density and mycorrhizal colonization. Despite the low root colonization of FMAs, there was considerable density of spores in the soil. The families *Ambisporaceae*, *Archaeosporaceae*, *Claroideogloeraceae*, *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Diversisporaceae* and *Gigasporaceae* were identified. It is concluded that there are associative diazotrophic bacteria as well as AMFs in close relation with OPN which may be related to the high nitrogen content in the leaves of this plant species. The species of microorganisms found can be used in future selection studies aiming at the best OPN development.

Keywords: Ora-pro-nobis. Unconventional food plants, UFP. Biological nitrogen fixation. Biodiversity.

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 10 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 12 |
| 2.1 | Crescimento populacional e segurança alimentar..... | 12 |
| 2.2 | Hortaliças não convencionais: uma boa alternativa nutricional | 13 |
| 2.3 | As cactáceas e o gênero <i>Pereskia</i> | 15 |
| 2.4 | <i>Pereskia aculeata</i> Mill. (Ora-pro-nobis) | 16 |
| 2.5 | Ora-pro-nobis: uma cultura promissora..... | 18 |
| 2.6 | Importância dos organismos promotores do crescimento vegetal..... | 24 |
| 2.7 | Fixação biológica de nitrogênio..... | 25 |
| 2.8 | O gênero <i>Azospirillum</i> | 26 |
| 2.9 | Meios de cultura para isolamento de bactérias diazotróficas associativas | 29 |
| 2.10 | Fungos micorrízicos arbusculares | 30 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 32 |
| 3.1 | Áreas de coleta..... | 32 |
| 3.2 | Amostragens de solo, folhas e raízes..... | 32 |
| 3.2.1 | Amostragem do solo | 34 |
| 3.2.2 | Amostragem de folhas e determinação de atributos químicos..... | 34 |
| 3.2.3 | Amostragem de raiz | 36 |
| 3.3 | Isolamento de bactérias diazotróficas associativas | 36 |
| 3.4 | Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA | 37 |
| 3.5 | Extração, montagem e identificação dos esporos | 38 |
| 3.6 | Colonização Micorrízica | 40 |
| 3.7 | Análises estatísticas | 41 |
| 4 | RESULTADOS..... | 41 |
| 4.1 | Análise química e física dos solos..... | 41 |
| 4.2 | Teores de nutrientes nas folhas e sua relação entre atributos químicos do solo | 42 |
| 4.3 | Isolamento e caracterização cultural de diazotróficos..... | 46 |
| 4.4 | Identificação genotípica das bactérias diazotróficas associativas..... | 48 |
| 4.5 | Composição da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares no solo | 50 |
| 4.6 | Frequência e porcentagem de colonização de FMAs e de outros fungos endofíticos..... | 54 |
| 4.7 | Relação entre atributos físicos e químicos do solo, teores de nutrientes na folha e variáveis biológicas do solo..... | 55 |

| | | |
|----------|--------------------------|-----------|
| 5 | DISCUSSÃO | 57 |
| 6 | CONCLUSÕES | 67 |
| | REFERENCIAS | 68 |
| | ANEXOS | 81 |

1 INTRODUÇÃO

A busca de alimentos pelo homem nunca foi uma jornada fácil. O desenvolvimento da agricultura permitiu ao homem otimizar o uso da terra e em consequência, começaram a aparecer os primeiros grupos humanos (MARTINELLI, 2007). Atualmente, a população mundial é 7,6 bilhões, mas há um incremento anual de 83 milhões de pessoas (UN, 2017). O avanço das tecnologias aplicadas na agricultura desde o início da revolução verde até hoje em dia não garante a sustentabilidade. Além disso, o avanço de áreas degradadas pelo manejo inadequado e a escassez de água representam desafios do setor agrícola em satisfazer a demanda futura de alimentos em quantidade e qualidade cada vez maiores que garantam a nossa segurança alimentar.

A seca é o principal fator ambiental que limita o desenvolvimento agrícola em regiões áridas e semiáridas, uma vez que as culturas mais convencionais são altamente sensíveis à escassez de água (OIES, 1999). A família *Cactaceae*, comumente chamada de cactos, pode se desenvolver nesses habitats rigorosos. A domesticação de algumas espécies dessa família permitiu ao homem obter importantes produtos comerciais. Assim, setores da indústria de alimentos, cosmética, farmacêutica e medicinal, obtêm deles benéficos e importantes aportes econômicos em algumas regiões do mundo.

Por outro lado, muitas plantas consideradas daninhas, que crescem entre as plantas cultivadas, são espécies com grande importância ecológica e econômica que vem servindo de alimento a algumas populações humanas desde a antiguidade (KINUPP, 2006), portanto estas plantas podem desempenhar um papel importante como substituto na alimentação em tempos de mudança climática e insegurança alimentar (REHMAN; ADNAN, 2018). Dentro deste grupo encontram-se algumas espécies que foram nomeadas como hortaliças não convencionais, caracterizadas por ainda não receber a devida atenção pelos consumidores, e que são restritas a determinadas localidades ou regiões. Porém, seu valor nutricional, conforme a espécie está relacionada a teores significativamente altos de sais minerais, vitaminas, fibras, carboidratos e proteínas, além do reconhecido efeito funcional (BRASIL, 2015).

Pereskia acuelata Mill, uma cactácea hortícola pouco comum e conhecida no Brasil como ora-pro-nobis (OPN), está categorizada como hortaliça não convencional. Constitui uma das espécies que nos últimos anos vem ganhando interesse por parte da comunidade

científica devido aos benefícios potenciais que tem mostrado em virtude de vários estudos nela desenvolvidos. Seu destaque principal é o alto teor de proteína em suas folhas, que segundo as pesquisas realizadas estão em torno de 25,5% em massa seca, e valores consideráveis de aminoácidos essenciais, principalmente a lisina. Além disso, pesquisas realizadas com essa planta identificaram compostos que podem ser explorados na indústria de alimentos como betalaínas, carotenoides, mucilagens, assim como o uso de farinha de OPN em produtos alimentícios como pão e macarrão tiveram boa aceitabilidade pelos consumidores (LAGE et al. 2015; AMARAL et al. 2018; AGOSTINI-COSTA, 2014; ROCHA et al. 2008). Pelo fato de ser uma planta rústica de fácil propagação, em algumas regiões do mundo é considerada uma planta daninha ou planta invasora. No entanto, no Brasil, esta espécie é cultivada para consumo familiar em quintais e pequenas hortas domésticas. Pouca literatura sobre o manejo dessa cultura é encontrada. Souza et al. (2016) observaram que diferentes doses de adubação nitrogenada em OPN não mostraram nenhum efeito nos teores de proteína na planta, mas justificaram ao fato de que o solo testado tinha alto teor de matéria orgânica. Os teores elevados de proteína que são encontrados nestas espécies são geralmente comuns a espécies vegetais que formam simbiose com bactérias fixadoras de N_2 , como as leguminosas. Porém, não há relatos desta simbiose em OPN e nem da ocorrência de sua associação com bactérias fixadoras de N_2 . Por outro lado, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam associações simbióticas com a maioria das plantas vasculares. Esta associação micorrízica proporciona um aumento da absorção de nutrientes do solo pelas plantas, principalmente do fósforo, como consequência de uma melhor exploração do solo pelas raízes. Estariam então os elevados teores de proteína relacionados com o teor de matéria orgânica no solo? Ou com sua associação com micro-organismos promotores de crescimento vegetal?

A demanda da sociedade pela produção de alimentos, associada à manutenção da qualidade ambiental, trouxe para este século um grande desafio que é a integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção. A agrotecnologia do século XXI tem como paradigma “a otimização da eficiência biológica visando a produção sustentada dos agroecossistemas” (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Espécies vegetais, pouco difundidas e consumidas, mas com baixo custo de produção, ambientalmente sustentáveis e com alto conteúdo de proteína, tornam-se uma boa fonte alternativa nutricional para um mundo cada vez mais numeroso. Neste sentido poucos estudos foram desenvolvidos sobre micro-organismos promotores de crescimento vegetal, como bactérias fixadoras de N_2 e FMA, em cactáceas e nenhum em

OPN. Portanto, o objetivo do nosso estudo foi avaliar a ocorrência, densidade e diversidade de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares relacionados aos aspectos nutricionais de OPN e atributos químicos e físicos do solo onde esta espécie é encontrada em diferentes locais no sul do estado de Minas Gerais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Crescimento populacional e segurança alimentar

Dizem que para entender nosso presente e encarar nosso futuro, é conveniente olhar para o passado. Assim, os primeiros hominídeos que surgiram na terra há milhões de anos eram coletores de plantas, posteriormente caçadores, para logo surgir uma das maiores aventuras da raça humana: a agricultura - a arte de cultivar alimentos. A evolução da agricultura permitiu otimizar o uso da terra obtendo maior oferta de calorias por unidade de área do que a própria natureza oferecia, pois, várias plantas de uma mesma espécie concentravam em uma área menor, e como consequência, brotaram os primeiros aglomerados urbanos permanentes (MARTINELLI, 2007).

No passado, muitos outros vegetais foram utilizados como alimento da humanidade, mas hoje contamos com apenas alguns. Após cerca de 10.000 anos de desenvolvimento agrícola, 70% da oferta mundial de alimentos vem de apenas três espécies de grãos - milho, trigo e arroz - e 80% da nossa ingestão de alimentos vegetais vem de apenas doze plantas - oito grãos e quatro tubérculos (NIERENBERG, 2011). A globalização, a intensificação e a industrialização da agricultura é responsável por essa tendência. Assim, a agricultura global inclinou-se só em algumas culturas e precisamos plantar uma variedade maior de culturas para construir um sistema alimentar mais resiliente (RABBINGE, 2009).

O crescimento populacional teve um aumento considerável nos últimos 60 anos. Segundo “The 2017 revision” (UN, 2017), estima-se que somos aproximadamente 7,6 bilhões de seres humanos. O mundo aumentou um bilhão de pessoas desde 2005 e dois bilhões desde 1993; cerca de 83 milhões de pessoas estão sendo adicionadas à população mundial a cada ano; assim, a população global deverá atingir 8,6 bilhões em 2030, 9,8 bilhões em 2050 e 11,2 bilhões em 2100. Neste cenário, será necessária a produção de alimentos de maneira

sustentável nos próximos anos para alimentar adequadamente uma população que cresce dia a dia.

A revolução verde, característica da agricultura moderna, teve como objetivo o aumento da produtividade agrícola através do uso de insumos químicos de origem sintética como fertilizantes, pesticidas, fungicidas e herbicidas. Esta artificialização da agricultura (STÉDILE; MARTINS, 2013) não traz soluções eficazes na produção de alimentos a longo prazo. Neste sentido, Wang et al. (2011) menciona que há uma demanda emergente para diminuir a dependência de insumos químicos e aumentar a sustentabilidade da agricultura.

Segundo Kepple e Seggal-Correa (2011), o Brasil há muitos anos vem desenvolvendo políticas públicas direcionadas a segurança alimentar e nutricional. De acordo com documento aprovado na II Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, e incorporado na Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional (Losan) (Lei no11.346, de 15 de julho de 2006), a segurança alimentar e nutricional é definida como "*a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis*". Este conceito envolve diferentes áreas do conhecimento, e cada uma tem suas próprias perspectivas e expectativas. Portanto, o setor agrícola tem um grande desafio em prol de satisfazer uma demanda futura de alimentos em quantidade e qualidade cada vez maior. Nesse sentido, são necessárias novas políticas inteligentes orientadas em termos de melhora da subsistência dos agricultores, segurança alimentar e o acesso a alimentos, bem como a redução das emissões de gases de efeito de estufa.

2.2 Hortaliças não convencionais: uma boa alternativa nutricional

Muitas plantas denominadas daninhas, inços, pragas, invasoras e ou ruderais, que crescem espontaneamente entre as plantas cultivadas, são espécies com grande importância ecológica e econômica. Porém, muitas destas espécies vem servindo de alimento a populações humanas desde o paleolítico; e outras que atualmente tem atraído atenção no campo, na indústria, nos mercados e nas mesas dos consumidores eram até pouco tempo consideradas daninhas (KINUPP, 2006). Do mesmo modo Pieroni et al. (2017) menciona que em muitos

países, a utilização de plantas silvestres como alimento não é insignificante, portanto, tais plantas podem desempenhar um papel importante como substituto na alimentação em tempos de mudança climática e insegurança alimentar.

Se as hortaliças convencionais são aquelas que fazem parte da dieta comum do ser humano (batata, cebola, tomate), as hortaliças não convencionais, segundo Brasil (2010), são aquelas que tem uma distribuição limitada, restrita a determinadas localidades ou regiões, exercendo grande influência na alimentação e na cultura de populações tradicionais, e que não estão organizadas na cadeia produtiva propriamente dita. Exemplos delas no Brasil são: taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), azedinha (*Rumex acetosa* L), ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.), etc. O cultivo de hortaliças não convencionais no Brasil é realizado por pequenos agricultores, caracterizados por serem de populações tradicionais, onde os conhecimentos sobre o cultivo destas espécies foram transmitidos de geração em geração. No geral, estas culturas se localizam nos quintais, hortas, e pequenos jardins para o próprio consumo familiar sem nenhum interesse comercial, refletindo assim, fragilidade sobre conhecimentos técnicos do seu manejo e cultivo. No entanto, o valor nutricional de cada espécie está relacionado com teores significativos de sais minerais, vitaminas, fibras, carboidratos e proteínas. Kinupp (2006) menciona que a maioria das plantas alimentícias nativas ou subespontâneas presentes nas lavouras dos produtores ainda são descartadas e tratadas como invasoras devido à ausência de informações sobre estas espécies. O Brasil possui um território extenso (BRASIL, 2010) e, conseqüentemente, sua diversidade climática envolve uma gama de recursos genéticos de hortaliças e variedades locais que necessitam de estudos a fim de promover o seu consumo e evitar o processo de extinção de algumas espécies.

Jeske (2018) menciona que os alimentos à base de plantas estão ganhando popularidade e o mercado está se desenvolvendo rapidamente. Essa tendência é baseada em vários fatores, como a mudança de estilo de vida, o interesse em dietas alternativas e a crescente conscientização sobre a produção sustentável de alimentos e especialmente proteínas. Por outro lado, os sistemas alimentares dependem fortemente dos nossos recursos naturais, como terra, água e recursos energéticos, como combustíveis fósseis e gás natural, e maior pressão sobre esses recursos contribuem maciçamente para muitos dos problemas ambientais de hoje, como as emissões de gases de efeito estufa e eutrofização (JESWANI; BURKINSHAW; AZAPAGIC, 2015). Embora as plantas terrestres sejam uma importante fonte de energia na dieta humana, relativamente barata e muito abundante fonte de proteína, o consumo direto de proteínas vegetais ainda é relativamente baixo. Carne e a produção de

laticínios são responsáveis por uma participação massiva na pressão ambiental relacionada aos alimentos, com a produção de proteínas animais exigindo cerca de 100 vezes mais água em comparação com a produção da mesma quantidade de proteínas vegetais (DAY, 2013). Nesse sentido, é preciso tomar em consideração alternativas alimentares que não só ofereçam qualidade nutricional e sustentabilidade, senão que também sejam mais resistentes as mudanças climáticas como por exemplo a OPN.

2.3 As cactáceas e o gênero *Pereskia*

A Família Cactaceae é classificada taxonomicamente dentro da Ordem Caryophyllales. Comumente conhecida como cactos, é uma das mais populares, facilmente reconhecida e morfologicamente distinta família de plantas, ademais, compreende 1700 espécies aproximadamente. Acredita-se que tem origem americana devido a sua ampla distribuição e riqueza de espécies ao longo do continente. Estas plantas são caracterizadas por terem se adaptado naturalmente em ambientes de seca rigorosa, onde a falta de água é um dos fatores limitantes (NOBEL, 1994).

Devido à sua beleza, muitas espécies de cactos foram domesticadas e utilizadas como plantas ornamentais, no entanto outras, em virtude das suas propriedades físicas e químicas, foram cultivadas em maior escala com o fim de obter importantes produtos comerciais (NOBEL, 1998). Assim, a rusticidade e a eficiência no uso de água, junto a baixa incidência de pragas e doenças, são vantagens comparativas destas espécies frente a outras de cultivo convencional. Nesse contexto, setores da indústria cosmética, farmacêutica, medicinal e alimentícia são mercados que tornaram algumas destas espécies muito importantes economicamente em algumas regiões do mundo.

Edwards et al. (2005) mencionam que dentro do mundo diverso dos cactos, podem se distinguir duas linhagens consideradas como cactos típicos: *Opuntioideae* e *Cactoideae*. O restante dos cactos pertence a dois pequenos gêneros que incluem *Pereskia* e *Maihuenia* os quais foram incluídos em uma terceira subfamília, *Pereskioideae*. O gênero *Pereskia* (MARTIN; WALLACE, 2000) é considerado por alguns autores como um modelo do cacto ancestral, descrito como habitante de áreas de floresta tropical seca, mas não sujeita a ou sobrevivendo ao estresse hídrico severo.

Mauseth e Landrum, (1997), relatam que as espécies de *Pereskia* são amplamente distribuídas no Caribe e América Central e do Sul em uma série de habitats florestais mais secos. Folhas largas e achatadas com fotossíntese C3, aréolas com produção foliar, madeira fibrosa densa, um córtex simples sem feixes corticais, camadas epidérmicas e hipodérmicas do caule pouco desenvolvidas, tecidos não-suculentos e habitando ambientes relativamente méxicos, foram descritos. Já Edwards e Donoghue (2006), mencionam que o gênero *Pereskia* constitui-se de 17 espécies que podem ser arbustos folhosos ou plantas arbóreas.

Segundo a classificação de zonas de vida de Holdridge (1967), os fatores ambientais da maioria das espécies de *Pereskia* são próximos às zonas de vida de florestas tropicais secas ou muito secas. A única exceção a isso é *Pereskia bleo*, que ocorre em áreas que recebem chuvas anuais consideravelmente maiores. Todas as espécies vivem em climas com padrões de precipitação altamente sazonais, onde o mês mais chuvoso recebe 187 mm e o mês mais seco 26 mm (EDWARDS; DONOGHUE, 2006). Estudos sugerem que, diferentemente de outras espécies de cactos, o metabolismo ácido das crassuláceas através da fotossíntese é muito limitado no gênero, que utiliza principalmente a fotossíntese C3, consistente com o status ancestral e permite uma melhor adaptação a ambientes moderadamente úmidos (EDWARDS, 2005 et al.; EDWARDS; DIAZ, 2006).

2.4 *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nobis)

A ora-pro-nobis (OPN), que no latim significa “rogai por nós”, é descrita taxonomicamente assim: Reino Plantae, Classe Magnoliopsida, Ordem Caryophyllales, Família Cactaceae e gênero *Pereskia*. Segundo Almeida (2012), a ora-pro-nobis é o nome popular no Brasil das espécies *Pereskia aculeata* Miller e *Pereskia grandifolia* Haword. Porém, dependendo da região do país, são conhecidas com outros nomes: azedinha, jumbeba, lobodo, lobrobô, lobrobó, lobolôbô, orabrobó, trepadeira-limão, rosa-madeira (VIEIRA, et al. 2016). Em língua inglesa é conhecida como Barbados gooseberry. Brasil (2015) menciona que *P. grandifolia* é de crescimento arbóreo e utilizado como alimento em menor escala. Já a *P. aculeata* é uma planta trepadeira, semi-lenhosa com potencial significativo de crescimento, pois seus galhos podem atingir até 10 m de comprimento, no final dos ramos podem surgir flores terminais solitárias ou em cimeiras curtas, pequenas, brancas e amareladas, com odor agradável que atrai uma grande quantidade de abelhas, sendo suas flores muito apreciadas

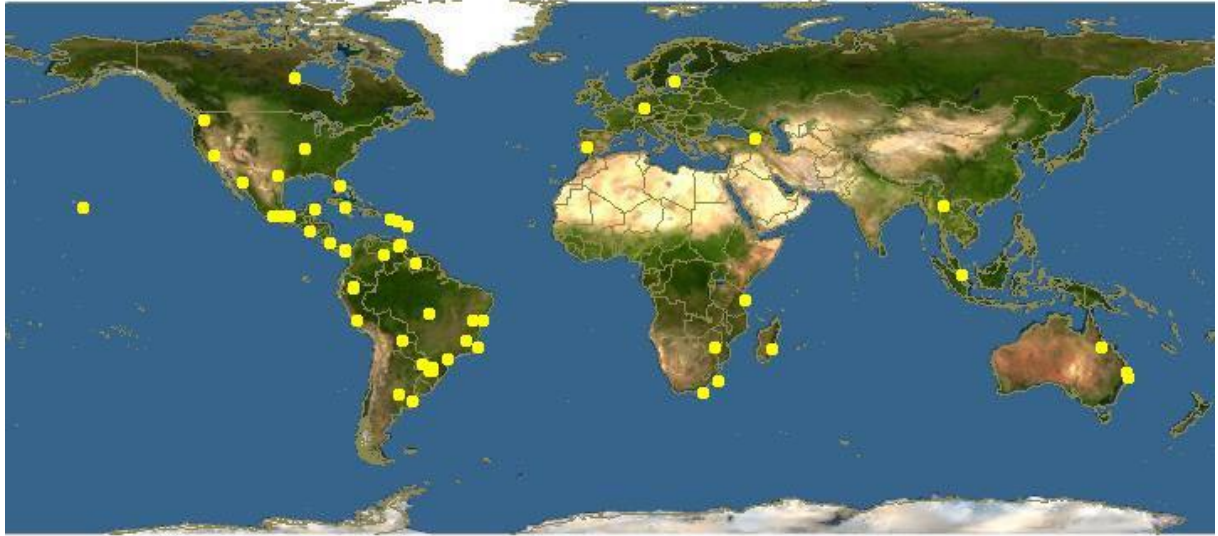
para fins de produção de mel pelos apicultores pois sua floração é rica em pólen e néctar, ocorrendo nos meses de janeiro a abril (BRASIL, 2010).

A designação científica para OPN é *Pereskia aculeata* Miller, mas inicialmente o gênero *Pereskia* foi descrito como *Peireskia* por Plumier, em 1703. Linnaeus usou o nome *Cactus pereskia* em 1753, mas, é devido a Miller, em 1754, a elevação do nome para o nível de “gênero” e essa é tida como primeira classificação válida (BUTTERWORTH; WALLACE, 2005). Na época tal designação do gênero foi uma homenagem ao cientista francês Nicolas Claude Fabri de Peiresc (1580-1637), de acordo com Scheinvar (1995). Já o termo “aculeata” vem do latim e significa espinho, agulha (ACCORSI; DOSOUTO, 2006).

P. aculeata é uma espécie nativa da América Tropical com distribuição em regiões tropicais do mundo, como Índia Oriental e Oeste da Índia, América do Sul e Panamá, Califórnia, Filipinas, Bermudas, Hawaí, Israel, Austrália e sul da África (ALMEIDA FILHO; CAMBRAIA, 1974). No entanto, Duarte e Hayashi (2005) mencionam que no Brasil *P. aculeata* é encontrada da Bahia até o estado do Rio Grande do Sul. Seu habitat natural é a floresta tropical, regiões métricas ou levemente áridas, mas também é cultivada em áreas rurais e urbanas. Por outro lado, Udulutsch et al. (2010) em estudos fitossociológicos e florísticos relata a sua ocorrência em florestas tropicais alteradas, identificadas como secundárias avançadas. Outros autores (TAKEITI et al., 2009; AGOSTINI-COSTA et al., 2012) confirmam também a origem na América Tropical, onde relatam a presença desta espécie desde a região sul dos Estados Unidos (Flórida) até o Brasil. Deste modo, a espécie mostra a capacidade adaptativa em ambientes diversos (Figura 1).

Os frutos são pequenas bagas verdes quando imaturos e amarelo-alaranjados quando maduros, semelhantes a groselhas de 1 a 2 cm de diâmetro, e são identificados pelas suas tonalidades amarelo-dourado ou laranja-escuro. Sua pele fina e lisa abriga uma carne macia, suculenta e opaca, com sementes marrons ou pretas, não comestíveis e macias. Seu fruto tem alta acidez e tem sabor bastante azedo. No caule há acúleos (falsos espinhos), curtos e curvos, ocorrendo em pares, próximos à base das folhas jovens, enquanto nos ramos mais velhos crescem aglomerados (ALBUQUERQUE; SABAA-SRUR; FREIMAN, 1991; MERCÊ et al., 2001). As folhas desta espécie têm ganhado destaque como hortaliça não convencional de importância entre os alimentos regionais brasileiros (Figura 2).

Figura 1 - Distribuição geográfica no mundo da espécie *Pereskia aculeata* Mill, representada por círculos amarelos onde foi registrado a ocorrência da espécie.



Fonte: Missouri Botanical Garden Database (2018).

2.5 Ora-pro- nobis: uma cultura promissora

O Reino Plantae oferece muitas opções de fontes de alimentos enriquecidos e nutritivos para suprir as necessidades básicas vitais dos seres humanos. Assim, Acharya et al. (2014) mencionam que as frutas e verduras desempenham um papel essencial em dietas nutritivas. Já Kinupp e Barros (2008) afirmam que algumas espécies silvestres podem contribuir com melhores teores de nutrientes do que espécies convencionais, pois nas hortaliças e frutas silvestres geralmente os teores minerais e de proteínas são significativamente maiores do que nas plantas convencionais. Estes autores também ressaltam que, apesar das proteínas de origem animal terem maior valor biológico que as de origem vegetal, o consumo destas espécies por populações de baixo poder aquisitivo pode contribuir para suprir deficiências nutricionais e também fornecer alternativas nutricionais para a população em geral, principalmente para as pessoas com hábitos e dietas diferenciadas como os vegetarianos. Desse modo, hoje existe uma tendência dos consumidores pela preferência destes alimentos, que promovem benefícios para a saúde.

Figura 2 - Ciclo de vida de Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.)



Legenda: A: planta em etapa de crescimento, B: Galho novo em desenvolvimento; C: planta em floração plena, D: frutos de ora-pro-nobis.

Fonte: (A, B) do autor (2019). (C) <http://pt.wikipedia.org/wiki/Fichero:FlorOraPronobisfoto2.ipg>. (D) http://thegreensshop.com/tienda/index.php?id_product=332&controller=product&id_lang=1

Brasil (2010) menciona que OPN encontra-se localizada com maior tradição cultural em algumas localidades brasileiras como é o caso do município de Sabará, no estado brasileiro de Minas Gerais, onde esta espécie faz parte dos hábitos alimentares da população e das manifestações culturais como a realização anual do “Festival do Ora-pro-nobis”, que entre outros, promove e divulga a gastronomia tradicional da região. Vale destacar que no ano de 2018 o festival realizou sua 21ª edição.

Por ser um cacto incomum, não apresenta boa receptividade em todos os lugares. Ao contrário de outros cactos, apresenta-se como um arbusto frondoso com troncos espinhosos e não suculentos. As hastes e folhas destacadas permanecem vivas e podem formar raízes meses após a remoção da planta progenitora, espalhando-se rapidamente e podendo utilizar outra vegetação para se ancorar. O espinhoso extremo e o crescimento vigoroso dos fragmentos das

plantas dificultam o controle de grandes infestações. A população de OPN produz sementes viáveis que se espalham quando os frutos são comidos por pássaros ou morcegos (CAMPBELL, 1988). Assim, é rapidamente dispersada para formar matagais densos, espinhosos e impenetráveis, sufocando efetivamente outra vegetação. Jardins foram abandonados devido à invasão esmagadora de OPN como tem acontecido na África do Sul, país onde é considerada uma planta invasora desde 1979 e problemática, sendo alvo de um programa de controle biológico (PATERSON, 2014).

Por outro lado, em virtude da sua importância na alimentação humana e de outros benefícios que proporciona, atualmente estão sendo desenvolvidos diversos estudos com esta espécie. Almeida e Correa (2012) realizaram um levantamento sobre a utilização de OPN na alimentação em 1525 domicílios da cidade de São Gonçalo do Abaeté (MG) para saber acerca da difusão e consumo da espécie dentro da dieta diária. O estudo concluiu que o resgate cultural do consumo desse tipo de planta poderá melhorar a condição nutricional e de renda das pessoas menos favorecidas economicamente, tanto no ambiente urbano quanto rural de diferentes regiões do Brasil, entretanto que 33,37% dos entrevistados citaram um consumo mensal dessa planta.

Barbalho et al. (2016) avaliaram a composição e os efeitos da farinha de OPN no perfil do metabolismo e motilidade gastrointestinal de ratos Wistar por 40 dias e encontram que a farinha de OPN pode trazer benefícios para a saúde, como a melhora da motilidade intestinal. Mencionam também que OPN está associada à redução da gordura visceral e do perfil lipídico. Desse modo, sugeriram que a incorporação dessa farinha em diferentes produtos industriais pode ser uma maneira conveniente e eficaz de ingerir produtos mais saudáveis.

Zem et al. (2017) alimentaram ratos Wistar utilizando farinha de OPN como única fonte de proteína e outra fonte de controle padrão, concluindo que a farinha produzida a partir das folhas e caule de OPN pode não ser adequada para garantir níveis satisfatórios de crescimento quando fornecida na dieta como uma fonte única de proteína. No entanto, devido a poucos fatores limitantes, pode ser alvo de suplementação proteica com outras fontes vegetais e, portanto, pode suprir as necessidades proteicas na dieta humana.

Em outro estudo alimentar, Dias et al., (2005) avaliaram o consumo de hortaliças regionais no município de Diamantina-MG e constataram que o consumo de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) e ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) é reduzido, ocorrendo

em baixas frequências, sendo menor no gênero feminino e na faixa etária de adolescentes. Diante disso, os autores sugeriram a necessidade de adoção de medidas que visem o aumento do consumo destas espécies. Assim, Rocha et al. (2008) propuseram a massa de macarrão tipo talharim adicionada com OPN. Este produto apresentou melhores teores de proteínas, fibras e cinzas que a massa de macarrão convencional e obteve boa aceitabilidade.

A necessidade de produzir mais proteína é proporcional ao requerimento de mais nitrogênio, e na alimentação (FAO/WHO, 2011) a correspondência entre o suprimento dietético e as necessidades de proteína humana é vital para a saúde e o bem-estar das populações humanas. Segundo a FAO/WHO (1990), embora o padrão de proporcionalidade de aminoácidos de uma proteína seja provavelmente o determinante mais importante da qualidade desta, a digestibilidade da proteína e a biodisponibilidade de seus aminoácidos constituintes são os próximos fatores mais importantes. Isto é verdade porque nem todas as proteínas são digeridas, absorvidas e utilizadas na mesma medida. Segundo Cambraia (1980), as proteínas do OPN apresentaram 85% de digestibilidade e elevados teores de aminoácidos essenciais.

Relatos de proteína na folha de OPN por diferentes autores mostram que esta planta contém teores consideravelmente elevados e também variáveis. MERCÊ et al. (2001) indicam que as folhas desta planta possuem $25,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de proteínas em matéria seca (MS), valores consideravelmente maiores se comparados à couve (1,6%), alface (1,3%), milho comum (7,6 - 10,0%) e feijão (18 - 20%). Por outro lado, Almeida Filho e Cambraia (1974) observaram os teores de $17,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS de proteína bruta para a amostra da cidade de Guiricema-MG e de $25,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS para a amostra da cidade de Viçosa-MG. Dayrell (1977) observou os teores de $25,1 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS para as amostras coletadas em Sete Lagoas-MG; e de $27,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS para as amostras de Belo Horizonte, ressaltando que não observou a presença do inibidor de tripsina nas amostras estudadas. Outros teores proteicos encontrados na literatura são: $22,9 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS (ROCHA et al., 2008), $24,7 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS (SILVA e PINTO, 2005), $28,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS (TAKEITI, 2009; ALMEIDA; CORREA, 2012) e $28,6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ MS (ALBUQUERQUE et al., 1991).

Além disso, Almeida Filho e Cambraia (1974) relataram que o teor de lisina do OPN foi 23,1 vezes superior ao valor de lisina da couve e da alface e 7,2 vezes superior ao do espinafre. Albuquerque et al. (1991) observaram que de 5 a $6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ dos aminoácidos desta planta eram lisina, que é um aminoácido essencial na nutrição humana e limitante no milho, sugerindo que o seu teor de lisina poderia complementar o conteúdo deste aminoácido obtido

por meio do consumo do milho. Dayrell (1977) observou que o concentrado proteico desta planta, quando suplementado com metionina, é uma boa fonte de proteínas para ratos (*Rattus norvegicus*) em crescimento, uma vez que apresentou composição em aminoácidos similar à de proteínas de referência da Food and Agriculture Organization, a FAO.

Por outro lado, as plantas da família Cactaceae, entre elas OPN, produzem grandes quantidades de mucilagem, um carboidrato complexo com alta capacidade de absorção de água, o que lhe dá excelentes perspectivas para uso como hidrocolóide em alimentos processados. As mucilagens de várias espécies de cactos foram descritas como polissacáridos ricos em arabinogalactano, constituídos por galactose, arabinose, ramnose e ácido galacturônico (MARTIN et al., 2017). Assim, num estudo realizado por Lago et al. (2018), observou-se que é possível obter nanoemulsões contendo mucilagem de OPN na fase aquosa aplicando a técnica de ultrassom e concluiu-se que a mucilagem de OPN pode ser utilizada como um emulsificante natural na preparação de nanoemulsões, sendo considerada uma boa alternativa para substituição parcial ou total de emulsificantes já disponíveis no mercado.

As betalaínas são pigmentos vacuolares nitrogenados solúveis em água que fornecem cor a várias raízes, flores e frutas. Possuem várias aplicações na indústria dos alimentos (AZEREDO, 2009). Entre tanto Lage et al. (2015) mencionam que a presença deste composto é restrita a poucas famílias de plantas relacionadas à ordem Caryophyllales, nas quais se destacam os gêneros *Beta*, *Amaranthus*, *Opuntia* e *Hylocereus*. Sendo assim, estes autores pesquisaram a produção de betalaínas a partir de OPN e desenvolveram um protocolo eficiente para o acúmulo de betalaínas e biomassa de calos e suspensões celulares de OPN para fins comerciais.

Por outro lado, Amaral et al. (2018) utilizaram o extrato de mucilagem de OPN em mistura com outros compostos para encontrar uma mistura de hidrocoloide adequada a ser adicionada em bebidas lácteas fermentadas. O estudo concluiu, entre outros, que a aplicação de misturas hidrocoloides contendo mucilagem de OPN pode ser viável e, além disso, aumenta o conteúdo proteico dessas bebidas.

Os carotenoides, responsáveis pela cor de frutas e hortaliças, são, juntamente com as clorofilas, os pigmentos mais abundantes na natureza e estão presentes em muitos organismos, embora sejam geralmente sintetizados por espécies fotossintéticas. São antioxidantes importantes na dieta humana, pois o organismo não os produz. Um estudo de Agostini-Costa et al. (2014) identificaram e quantificaram carotenoides em bagas e folhas de OPN. Concluiu-se que, além da riqueza cultural, OPN pode contribuir muito para o valor

funcional dos alimentos, tanto localmente como no exterior. Desse modo, as bagas e folhas de OPN podem ser fontes de carotenoides antioxidantes e pró-vitamina A, com potencial para diversificar e enriquecer a dieta humana favorecendo assim uma melhor saúde.

Em outro estudo, Barbosa et al. (2015) avaliaram os efeitos do hidrosfriamento e da embalagem plástica na qualidade pós-colheita das folhas de OPN armazenadas a 5 e 25 °C. Seus resultados mostraram que houve maior massa fresca em folhas hidrosfriadas quando armazenadas a 25°C; maior teor relativo de umidade foi proporcionado pela embalagem plástica, a qual evitou por maior período de tempo o murchamento das folhas. O armazenamento refrigerado aumenta em 168 horas a vida de prateleira. O hidrosfriamento aumenta o teor relativo de água das folhas, embora não influencie a vida de prateleira. O saco de plástico perfurado foi eficaz no aumento da vida de prateleira e, quando associado ao hidrosfriamento, a embalagem plástica fornece a menor taxa de perda de massa fresca.

A OPN foi motivo de estudos também no âmbito medicinal, e entre os primeiros trabalhos está o relatado por Maruzzella (1964). Ele avaliou a atividade antimicrobiana de 25 plantas do deserto, entre elas OPN, nas quais foram utilizadas as suas folhas maceradas para logo lhes administrar um inóculo bacteriano, ao qual oito das 25 espécies reagiram formando um halo contra o inóculo que, logo após algumas semanas, desapareceu. A OPN não se encontrava no grupo que reagiu contra o inoculo bacteriano.

Silva et al. (2017) no seu estudo sobre toxicidade e citotoxicidade em ratos e sementes de alface, respectivamente, demonstram que a toxicidade aguda em ratos e a citotoxicidade em alface de OPN são negligenciáveis, validando assim o potencial desta planta nutritiva para ser utilizada como alimento funcional.

Em outro estudo, Pinto et al. (2015) realizaram a caracterização química para avaliar a atividade antinociceptiva da fração hidrometanólica obtida a partir do extrato metanólico de folhas de OPN a qual foi administrado em camundongos logo após de lhes induzir a dor. Ele concluiu que as folhas têm constituintes químicos com potencial analgésico, sugerindo que os alcaloides e a quercetina contidas na fração hidrometanólica podem estar envolvidos na atividade antinociceptiva.

Com relação ao cultivo de OPN, Madeira et al. (2016) afirmam que não existem variedades registradas. O que ocorre é a manutenção de clones locais, observando-se algumas diferenças morfológicas, especialmente com relação à coloração dos brotos (verde-claro, verde-escuro ou pigmentados, amarelados ou avermelhados) e formato das folhas (comprimento, largura e espessura). Esses clones, provavelmente, foram originados a partir da

germinação esporádica de sementes botânicas. Em outro trabalho de Tofanelli e Resende (2011) avaliando três tipos de sistemas de condução sobre a produção de folhas de OPN: crescimento livre, espaldeira em cordão bilateral no 1º fio e espaldeira em cordão bilateral no 2º fio, num plantio de mudas formadas a partir de estacas, observaram que OPN conduzida sem apoio tende a apresentar resultados mais promissores.

Queiroz et al. (2015) acompanharam o desenvolvimento de OPN durante 120 dias em casa de vegetação onde as plantas foram influenciadas pela seca intermitente através da redução do potencial matricial do substrato. No final do experimento avaliaram a massa seca acumulada e a área foliar e encontraram que a área foliar não foi afetada pois não houve queda de folhas; em tal sentido observaram que OPN é tolerante ao estresse hídrico. A massa seca de folhas foi afetada em menor proporção do que em caules e raízes, ressaltando essa importância da planta já que as folhas são o principal produto comercial.

Segundo Souza et al. (2016), OPN é uma espécie rústica que se dá bem em solos diversos, que não necessariamente tenham sido adubados. Estes autores estudaram o teor de minerais, nitrato e proteína na folha de OPN após a adubação nitrogenada. Eles utilizaram a ureia como fonte de nitrogênio em cinco níveis (0, 50, 100, 200 e 400 kg ha⁻¹) que foram aplicados aos 146 e 219 dias após o plantio, e para análise realizaram três colheitas de folhas aos 340, 418 e 473 dias após o plantio. Concluíram que as doses de nitrogênio (0 - 400 kg ha⁻¹) não afetaram os níveis de proteína nas folhas de OPN em solo com alto teor de matéria orgânica (4%). No entanto, o teor de nitrato (78,2 mg kg⁻¹) da massa fresca foliar, adubada com até 400 kg ha⁻¹, está dentro dos parâmetros estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde, portanto é segura, e de alta qualidade nutricional pois é rica em proteína, Ca e Fe.

Contudo, considerando os estudos que tem se desenvolvido e os potenciais usos e benefícios que podem se obter desta espécie, destaca-se que pesquisas sobre as características químicas e físicas dos solos onde OPN ocorre são escassas, e no caso das características biológicas são inexistentes.

2.6 Importância dos organismos promotores do crescimento vegetal

O solo é um elemento imprescindível à formação e manutenção dos sistemas vivos. Pode-se afirmar que sem algumas de suas características não haveria a possibilidade de vida no planeta (ROVEDDER et al., 2013). O solo é formado por uma mistura complexa de materiais inorgânicos (rochas e minerais), matéria orgânica, água, ar e organismos vivos. Quando se fala de biodiversidade e extinção de espécies geralmente vem a nossa mente aqueles que os nossos olhos vêem, negligenciando assim as comunidades micro e

macroscópicas que habitam o solo, sendo que o papel que realizam são imprescindíveis para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais. Os componentes vivos do solo incluem a microfauna, a mesofauna, a macrofauna e os micro-organismos, os quais contribuem com o fluxo, ciclagem de nutrientes e o teor da matéria orgânica importantes para o crescimento das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Fungos e bactérias do solo apresentam uma diversidade impressionante de capacidades bioquímicas para a decomposição de compostos orgânicos, o que os torna um componente chave nos processos do solo e no funcionamento do ecossistema (BARDGETT et al. 2008, WALL et al. 2012). Desse modo os microrganismos heterotróficos de vida livre, assim como mutualistas de plantas (por exemplo, fungos micorrízicos, bactérias fixadoras de N_2) impulsionam a dinâmica do carbono e mineralização de nutrientes (HEDIN et al., 2009), por tanto a comunidade microbiana como um todo pode ajustar sua estequiometria até certo ponto em direção dos recursos vegetais (FANIN et al. 2013). Mesmo assim, restrições estequiométricas podem levar à limitação de nutrientes por nitrogênio, fósforo ou outros nutrientes (KASPARI; POWERS, 2016).

2.7 Fixação biológica de nitrogênio

O nitrogênio (N) na agricultura é um dos elementos de maior demanda para a produção de alimentos. Sua importância deriva do fato de que este elemento é um componente essencial das proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos nitrogenados e, portanto, da vida de todos os seres vivos. A atmosfera contém quase 80% deste elemento (N_2), porém, nenhum animal ou planta é capaz de utilizá-lo diretamente para o seu metabolismo, devido à forte ligação tripla que existe entre os dois átomos de N. Desse modo, o processo industrial utilizado para a síntese de fertilizantes nitrogenados (Haber-Bosch) a partir do N_2 atmosférico necessita de elevadas pressões e temperaturas para quebrar essa ligação, o que torna caro o processo (HUNGRIA et al., 1997; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo pelo qual o gás atmosférico de dinitrogênio (N_2) é reduzido a amônia sob condições naturais. Ao contrário da redução industrial de N_2 pelo processo Haber-Bosch, que requer alta temperatura e pressão, a FBN utiliza energia solar armazenada biologicamente para forçar a molécula de N_2 inerte a se combinar com o hidrogênio (H) e produzir amônia (NH_3) à temperatura ambiente. A amônia pode ser usada por organismos vivos como fonte de nitrogênio ou convertida em nitrato (NO_3^-) para uso posterior na geração de proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos

necessários para as células. A fertilização com nitrogênio mineral (NH_4^+ , NO_3^-) de plantas cultivadas na agricultura forma a base da agricultura moderna, muitas vezes à custa da utilização da FBN (STODDARD et al., 2009).

Durante muito tempo acreditava-se que a fixação biológica de nitrogênio era própria de um grupo limitado de bactérias (POSTGATE, 1981), porém nas últimas décadas se demonstrou que a FBN tem um grupo maior de representantes na maioria dos filos de Bactéria e também Archaea (YOUNG, 1992). A FBN simbiótica que ocorre dentro dos nódulos de plantas vasculares é encontrada em dois grandes grupos de bactérias não filogeneticamente relacionadas de rizóbios: Alpha-proteobacterias e Beta-proteobacterias, que se associam essencialmente a leguminosas pertencentes a uma superfamília de angiospermas (*Fabaceae*) (SPRENT, 2001); e *Frankia* (em actinobactérias) que se associa a uma gama de plantas de oito famílias (HUSS-DANELL, 1997; VESSEY et al. 2004). Outro grupo importante de bactérias fixadoras de nitrogênio é o das cianobactérias, encontrado em uma grande variedade de plantas, fungos e algas superiores e inferiores (MEEKS; ELHAI, 2002). Por outra parte, as bactérias associativas referem-se a uma ampla variedade de espécies fixadoras de nitrogênio que colonizam a superfície radicular de plantas não leguminosas, sem formação de estruturas diferenciadas (ELMERICH; NEWTON, 2007). Entre estes, o isolamento frequente de bactérias da raiz desinfestada superficialmente levou à identificação de uma nova categoria, endófitos fixadores de nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

A demanda da sociedade pela produção de alimentos, associada a manutenção da qualidade ambiental, trouxe para este século um grande desafio que é a integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção. A agrotecnologia do século XXI, tem como paradigma “a otimização da eficiência biológica visando a produção sustentada dos agroecossistemas” (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Neste contexto a FBN reveste-se de suma importância.

2.8 O gênero *Azospirillum*

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) que é encontrado em quase todos os lugares da terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero são endofíticas facultativas. Apenas para a palavra-chave “*Azospirillum*”, o gênero mais conhecido de fixação de nitrogênio e promotor de crescimento vegetal, o banco de dados bibliográficos SCOPUS lista mais de 3298 publicações (atualizado em 28 de novembro de 2018). A nomenclatura “bactérias promotoras do crescimento vegetal”

tem sido cada vez mais utilizada para bactérias capazes de promover o crescimento das plantas devido a uma variedade de mecanismos individuais ou combinados (PEREG, et al., 2016).

Döbereiner e Day (1975) descobriram a capacidade de FBN no gênero *Spirillum* que posteriormente foi nomeado para *Azospirillum*. A terceira espécie do gênero- *A. amazonense*- foi isolada utilizando o meio NFb modificado pela adição de mais duas fontes de carbono (manitol e sacarose) (MAGALHÃES, 1981). Posteriormente, este meio foi modificado apenas pela utilização de sacarose como única fonte de carbono e pH 6,8, sendo estas condições ótimas para o crescimento da espécie (MAGALHÃES, 1983).

Segundo Cassan e Diaz-Zorita (2016), *Azospirillum* spp. é provavelmente o gênero mais estudado de rizobactérias associativas promotoras de crescimento vegetal devido a sua capacidade de colonizar muitas espécies de plantas. No estudo, mencionam que *Azospirillum* é a rizobactéria promotora de crescimento de plantas melhor caracterizada que pode fixar nitrogênio, mas o principal modo de ação é a produção de fito-hormônios. Indicam também que os inoculantes contendo *Azospirillum* spp. foram utilizados em 3,5 milhões de hectares na América do Sul em 2014 e que no caso de inoculação no milho, *Azospirillum* dá uma resposta média no acréscimo do rendimento de grãos de 10%. Os aumentos de rendimentos com a inoculação são observados em 70% dos ensaios. Por outro lado, Gyaneshwar et al. (2002) consideram que mesmo não sendo bactérias endofíticas, apresentando apenas crescimento rizosférico, sua importância em associação não deve ser negligenciada.

Segundo Fukami et al. (2018), os benefícios para as plantas devido a inoculação com *Azospirillum* spp. foram atribuídos principalmente à sua capacidade de capturar N₂, mas também é capaz de sintetizar fito-hormônios, em particular o ácido indol-3-acético. Recentemente, um número crescente de estudos tem atribuído um importante papel ao *Azospirillum* spp. de conferir às plantas tolerância a estresses abióticos e bióticos, os quais podem ser mediados por fito-hormônios agindo como moléculas sinalizadoras. Também pode promover o crescimento de plantas por mecanismos de tolerância a estresses abióticos, denominados como tolerância sistêmica induzida, mediada por antioxidantes, ajuste osmótico, produção de fito-hormônios e estratégias de defesa, como a expressão de genes relacionados à patogênese.

Em experimentos de campo em duas localidades e épocas, Hungria et al. (2010) selecionaram e avaliaram linhagens de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* inoculadas nas sementes nas culturas de milho (*Zea mays* L.) e trigo (*Triticum aestivum* L.). Os seus

resultados mostram que quatro das estirpes testadas aumentaram a produtividade de grãos em 662 - 823 kg ha⁻¹ e 312 - 423 kg ha⁻¹ em relação ao do controle, no primeiro e no segundo experimento, respectivamente. Resultados promissores também foram obtidos com duas cepas de *A. lipoferum*. Eles também mencionam que os efeitos da inoculação foram atribuídos a aumentos gerais na absorção de vários macros e micronutrientes e não especificamente à FBN.

Lana et al. (2012) avaliaram o desenvolvimento e produtividade do milho, em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em duas safras consecutivas. Os aumentos na produção de biomassa seca da parte aérea e na produtividade de grãos proporcionada pela inoculação foram de 7,2 e 15,4%, respectivamente, e um aumento de 7,4% no rendimento para a segunda safra em relação ao controle. Além disso, mencionam que a adubação nitrogenada, associada ao uso da inoculação, reduziu a produtividade e a produção de biomassa seca da parte aérea. A adubação nitrogenada na semeadura aumentou o teor de N foliar; no entanto, quando complementado pela inoculação, causou uma redução dessa variável.

Em outro experimento realizado por Guimarães et al. (2013), foram avaliadas o efeito da inoculação de 14 isolados de *Azospirillum sp.* no acúmulo de biomassa em três cultivares de arroz sob condições controladas. Os resultados mostram que em duas cultivares houve aumentos expressivos de 33% com duas das estirpes e acima de 100% com outras duas estirpes nessas cultivares em relação ao controle sem inóculo.

Um estudo de Bacilio et al. (2006) foi realizado sobre o desenvolvimento de mudas de *Pachycereus pringlei*, uma espécie de cactos representativa do deserto Sonora (México). As mudas inicialmente foram inoculadas com BPCP, *Azospirillum brasilense* Cd, associado a doses de composto agrícola comum onde as plantas foram cultivadas por 18 meses. Os resultados mostram que houve efeito no desenvolvimento das plantas devido a inoculação com as BPCP, porém houve melhor resposta quando adicionado o composto sozinho.

Num estudo de Lopez-Lozano et al. (2016) sobre restauração de áreas degradadas foi avaliado o potencial de FBN em três espécies de árvores nativas e uma espécie de cacto (*Parkinsonia microphylla* Torr.) representativa após a restauração em solos áridos em três áreas (restaurada, perturbada e não perturbada). Três gêneros de fixadores de nitrogênio foram encontrados: *Azospirillum*, *Rhizobium* e *Pseudomonas*. Os autores sugerem que a diversidade de fixadores de N₂ na zona árida não varia, ao contrário da sua abundância e atividade. Sendo assim, afirmam que a diferença nas taxas de fixação de N₂ pode ser uma consequência do número de organismos fixadores de N₂ como relatado por Yeager et al. (2004). Interações

benéficas entre o cacto e as espécies arbóreas estabelecidas pela restauração a longo prazo são uma alternativa promissora para o reflorestamento no deserto. Um detalhe que destacam é se a estirpe de *Azospirillum brasilense* Cd encontrada é a mesma inoculada há dez anos.

2.9 Meios de cultura para isolamento de bactérias diazotróficas associativas

O descobrimento das bactérias diazotróficas associativas trouxe grandes aportes para a ciência, especificamente no âmbito agrícola em virtude dos variados benefícios diretos para as plantas e indiretos para a raça humana. O entendimento dos mecanismos do funcionamento da nitrogenase (DÖBEREINER et al., 1995) ajudou no desenvolvimento de novos métodos de isolamento de bactérias diazotróficas. Assim, o meio de cultura NFb é recomendado para o isolamento das espécies *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum*, *A. irakense* e *A. haloprefeans*. Já para *A. amazonense* é utilizado o meio FAM, característico pela adição da sacarose (MAGALHÃES, 1981), e que foi derivado do meio NFb modificado (LANGE; MOREIRA, 2001) que recebe, além do manitol e sacarose, o ácido málico como fontes de carbono, permitindo o enriquecimento de uma diversidade metabólica maior de bactérias fixadoras de N₂. É importante mencionar que os meios de cultivo, na verdade, não possibilitam exclusivamente o isolamento dos gêneros de bactérias diazotróficas para os quais foram recomendados, pois, micro-organismos isolados no meio para *Azospirillum* spp. ou *Herbaspirillum* spp. nem sempre irão apresentar as características de tais gêneros (YANNI et al., 1997).

Embora as bactérias fixadoras de N₂ mais conhecidas nas leguminosas sejam os endófitos, onde sua importância para o processo dos ecossistemas é inegável (SPRENT; GEHLOT, 2010), existem muitos fixadores de N₂ de vida livre na rizosfera de muitas espécies de plantas que são potenciais contribuintes de N para o sistema. Muitos ecossistemas não possuem grandes números de espécies de plantas com fixadores de N₂ simbióticos, e os fixadores de N₂ de vida livre provavelmente representam a fonte biológica dominante de novos fixadores para esses ecossistemas (REED et al. 2011).

Um estudo de PUENTE et al. (2009) sobre associação entre o cacto gigante (*Pachycereus pringlei*) e bactérias endofíticas mostra o nível de associação entre estes dois tipos de organismos. No estudo utilizaram bactérias endofíticas (*Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. e *Staphylococcus* sp.) e dois controles positivos de BPCP (*Pseudomonas putida* R-20 e *Azospirillum brasilense* Cd) que foram inoculadas em sementes do cactos, cultivadas em vaso por um ano, sem fertilização. As plantas não mostraram

perturbação nesse período. Os autores mencionam que a associação bactéria-planta liberou quantidades significativas de nutrientes do substrato. Observaram, também, que quando as bactérias endofíticas foram eliminadas das sementes com antibióticos, o desenvolvimento das plântulas cessou. Este estudo mostra que, sob condições ambientais extremas, existe uma relação simbiótica entre as bactérias endofíticas e seus hospedeiros de cactos.

2.10 Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são fungos do solo, filo Glomeromycota, caracterizados por serem microsimbiontes obrigatórios de plantas. Diferenciam-se de outros fungos endofíticos por apresentarem formação de arbúsculos dentro das células de raízes ou talos vegetais, hifas cenocíticas (ou as vezes esparsamente septadas) e esporos grandes (40 - 800 micras), com várias paredes em camadas contendo algumas dezenas de milhares de núcleos. Os arbúsculos são semelhantes a haustórios; entretanto, não rompem o citoplasma e tem duração efêmera na vida celular, o que caracteriza uma simbiose mutualista (SCHUBLER et al., 2001).

O fungo também forma hifas extra-radicaais que agem como "raízes estendidas", auxiliando na absorção de água e nutrientes, e podem se expandir para formar esporos assexuados, isoladamente ou em aglomerados. Esporos de fungos e as hifas externas estão envolvidas na reprodução assexuada do parceiro fúngico e na colonização de novos locais (WHITCOMB, 2000). Além disso, essas hifas melhoram a agregação do solo, diminuindo assim a erosão e o estresse por falta de água. Dessa forma, plantas micorrizadas têm maiores chances de se estabelecer em solos de baixa fertilidade do que plantas não micorrizadas (JANOS, 1996).

Os FMAs são encontrados em várias espécies de plantas e ambientes, inclusive em desertos, e estudos sobre eles em cactáceas tem se desenvolvido há vários anos. Rose (1981) amostrou dez plantas endêmicas (entre elas três cactos) do Deserto de Sonora de Baja Califórnia para avaliar associações micorrízicas. Uma espécie de *Opuntia*, não identificada, continha hifas de FMAs e arbúsculos em células corticais. *Machaerocereus gummosus* Britt. foi completamente não micorrizada e *Pachycereus pringlei* Britt. continha hifas de FMAs, mas não arbúsculos funcionais. Porém, nenhum esporo foi recuperado do solo circundante nas três espécies.

Por outro lado, as cactáceas têm fama de não responderem a nutrição mineral como as plantas convencionais, porém elas também precisam se alimentar para conseguir um bom desenvolvimento. Assim, dentro da família das cactáceas encontrasse a pitahaya (*Stenocereus queretaroensis*), uma espécie que há muito é difundida e apreciada no Brasil e em outros países, como México, por ter um fruto suculento e muito agradável. Esta espécie é própria de climas áridos, portanto adaptada à ambientes de seca intensa. Segundo Pimienta-Barrios et al. (2004), os níveis da maioria dos elementos nos tecidos do caule de *S. queretaroensis* são semelhantes aos níveis em outras espécies de cactos. No entanto, o teor de N no seu clorênquima é apenas 8 mg g^{-1} peso seco, que é menor do que em outras espécies de cactos (em média 17 mg g^{-1}) descritas por Nobel (1983). Além disso, o Ca tem uma média de apenas 6 mg g^{-1} , em comparação com 44 mg g^{-1} no clorênquima de outras espécies. Os micronutrientes Fe e Mn no clorênquima de *S. queretaroensis* são em média 54% inferiores à média de outras espécies de cactos. O conteúdo relativamente baixo desses dois micronutrientes e o conteúdo extremamente baixo de N são consistentes com as taxas de crescimento relativamente baixas e baixo teor de clorofila para *S. queretaroensis* em comparação com outras espécies com tipo de metabolismo CAM (NOBEL et al., 2002). Entretanto, sob condições estressantes, devido à baixa disponibilidade de água e minerais, há o estabelecimento da simbiose micorrízica com *S. queretaroensis* (GRIME, 2001). Diferentes espécies de FMAs dos gêneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* e *Scutellospora* estão presentes nas rizosferas de esta espécie (PIMIENTA-BARRIOS et al., 2002a).

Outro grupo de fungos que também colonizam as raízes são chamados de endófitos septados escuros ou mais conhecidos por sua sigla em inglês como DSE (dark septate endophytes) que, segundo Jumpponen e Trappe (1998a), os define como fungos ascomicetos conidiais ou estéreis que colonizam raízes de plantas vivas sem causar efeitos negativos aparentes, como desorganização tecidual. DSE representam um grupo taxonomicamente e ecologicamente diverso de fungos. Entre outros estudos, encontrou-se que os DSE podem estimular o crescimento das plantas e aumentarem a concentração de fósforo da espécie de planta medicinal chinesa - *Saussurea involucrata* (WU e GUO, 2008).

Zubek e Blaskowski (2009) estudaram as associações de FMAs e DSE em 31 espécies de plantas medicinais. Eles encontraram que muitas plantas foram fortemente colonizadas por FMAs. O micélio de DSE foi observado em 21 táxons, no entanto, a porcentagem de colonização radicular por esses fungos foi baixa. Esporos de 15 espécies de FMAs (*Glomeromycota*) foram encontrados na rizosfera das plantas investigadas.

Por outro lado, diversidade de espécies no solo é um fator que ajuda a mostrar a intensidade de ocorrência de FMAs. Para contornar o índice de diversidade, Zhang et al. (2004) criaram uma classe de dominância de acordo como a frequência de ocorrência dos FMAs. A dominância de espécies foi dividida em quatro níveis de acordo com a frequência de ocorrência (FO), ou seja, a espécie dominante ($FO > 50\%$), a espécies mais comuns ($30\% < FO \leq 50\%$), espécies comuns ($10\% < FO \leq 30\%$) e espécies raras ($FO \leq 10\%$).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de coleta

A espécie utilizada em nosso estudo foi *Pereskia aculeata* Mill. Por se tratar de uma hortaliça não convencional (Ora-pro-nobis), as áreas foram tomadas de forma sequencial em função da ocorrência da espécie, através de informações fornecidas pelos moradores do município de Lavras, Minas Gerais. Doze pontos de ocorrência da espécie foram utilizados para amostragem, localizados nos municípios de Ijaci, Itumirim, Lavras e Perdões, no sul do estado de Minas Gerais, Brasil (Figura 3). Estes pontos de amostragem correspondiam a áreas rurais e urbanas em igual proporção. A vegetação encontrada em cada local era diversa, própria de quintais ou pequenos jardins, como uma mistura de espécies nativas, hortaliças e frutíferas em alguns casos, todas cultivadas em consórcio induzido ou crescendo de forma espontânea, as quais são aproveitadas geralmente para consumo familiar. As coordenadas geográficas e a altitude para cada ponto de coleta são detalhadas na Tabela 1 e na Figura 3. Detalhes sobre o histórico das áreas se mostram na Tabela 2, e imagens das mesmas no Anexo na Figura S5.

3.2 Amostragens de solo, folhas e raízes

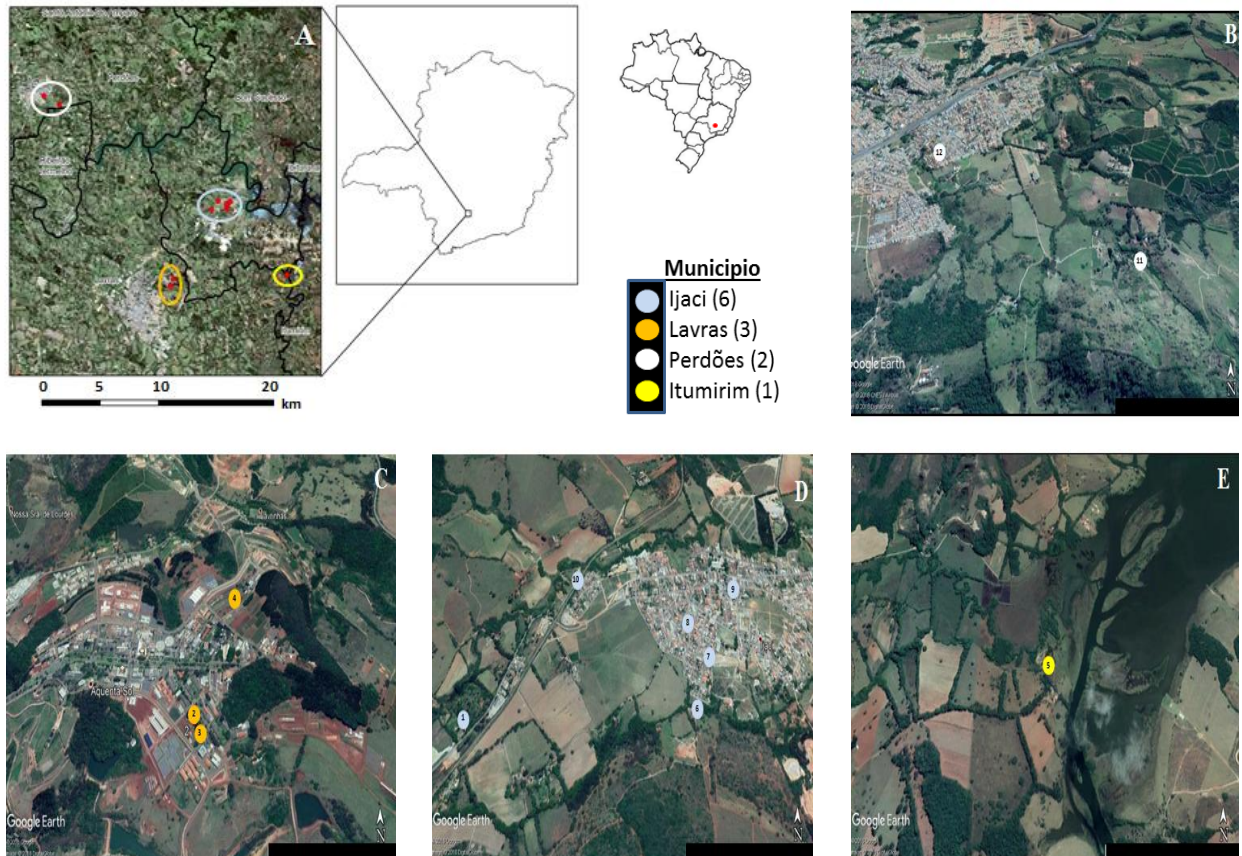
A amostragem foi realizada entre os dias 1 e 5 de março de 2018. Apenas uma planta por local foi amostrada uma vez que não haviam outras para realização de mais coletas. Antes de realizar a coleta, em cada ponto, a serapilheira foi retirada e todo material a ser utilizado foi limpo e flambado para evitar a contaminação entre as amostras.

Tabela 1 - Coordenadas geográficas e altitude dos 12 pontos de amostragem de ora-pro-nobis, no sul de Minas Gerais - Brasil.

| Local | Coordenadas Geográficas | | Altitude (m) |
|-----------|-------------------------|-------------------|--------------|
| Ijaci1 | 21°10' 38.95'' S | 44° 56' 25.61'' O | 854 |
| Ijaci2 | 21° 10' 36.86'' S | 44° 55' 40.18'' O | 823 |
| Ijaci3 | 21° 10' 20.79'' S | 44° 55' 37.20'' O | 839 |
| Ijaci4 | 21° 10' 24.69'' S | 44° 55' 40.08'' O | 839 |
| Ijaci5 | 21° 10' 19.12'' S | 44° 55' 29.54'' O | 839 |
| Ijaci6 | 21° 10' 17.22'' S | 44° 56' 05.33'' O | 840 |
| Itumirim1 | 21° 13' 20.26'' S | 44° 52' 40.40'' O | 829 |
| Lavras1 | 21° 13' 47.93'' S | 44° 58' 27.75'' O | 877 |
| Lavras2 | 21° 13' 49.01'' S | 44° 58' 27.09'' O | 916 |
| Lavras3 | 21° 13' 29.36'' S | 44° 58' 18.87'' O | 929 |
| Perdões1 | 21° 06' 19.12'' S | 45° 03' 57.13'' O | 842 |
| Perdões2 | 21° 05' 57.48'' S | 45° 04' 43.33'' O | 834 |

Fonte: Do autor (2019).

Figura 3 - Mapa mostrando a localização dos 12 pontos de amostragem realizados em quatro municípios no sul do estado de Minas Gerais – Brasil. (A) mapa geral de todos os pontos de coleta, (B) pontos de coleta no município de Perdões, (C) pontos de coleta no município de Lavras, (D) pontos de coleta no município de Ijaci, (E) pontos de coleta no município de Itumirim.



Fonte: Google Earth (2018).

Tabela 2 - Histórico da área ao redor da planta e tratos culturais por local de estudo.

| Questionário feito ao proprietário e observações | Locais | | | | | | | | | | | |
|--|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | I1 | I2 | I3 | I4 | I5 | I6 | It1 | L1 | L2 | L3 | P1 | P2 |
| Qual è a idade (anos) aproximada da planta? | 3 | 15 | 8 | 4 | 2 | 10 | 3 | 4 | 12 | 9 | 6 | 2 |
| Coloca adubo? | não | não | sim | não | não | não | sim | sim | sim | não | não | não |
| Que tipo de adubo? | - | - | E | - | - | - | E | E | E | - | - | - |
| Realiza poda na planta? | não | sim | sim | sim | não | não | não | sim | sim | não | sim | não |
| Pegou algum tipo de praga ou doença nesse período? | não | não | não | não | não | não | não | não | não | não | não | não |
| Realiza limpeza de ervas daninhas? | não | não | não | não | não | não | sim | sim | sim | não | sim | sim |
| Houve presença de plantas cultivadas por perto? | não | sim | não | sim | sim | não | não | não | não | não | sim | não |
| Qual (ais) espécie(s)? | - | F | - | C | H | - | - | - | - | - | M | - |
| Vegetação espontânea quando realizada a coleta | H | H | H | h | H | H | N | n | n | n | h | H |

Legenda: As abreviaturas referem-se assim: I1: Ijaci1, I2: Ijaci2, I3: Ijaci3, I4: Ijaci4, I5: Ijaci5, I6: Ijaci6, It1: Itumirim1, L1: Lavras1, L2: Lavras2, L3: Lavras3, P1: Perdões1, P2: Perdões2; E: esterco, F: florestais, C: cítrico, H: hortaliças, M: mandioca, h: houve, n: não houve.

Fonte: Do autor (2019)

No período de coleta, as plantas utilizadas no estudo apresentavam vegetação exuberante, com tamanho e idade diferenciados, em que apenas a planta de Itumirim estava em floração plena.

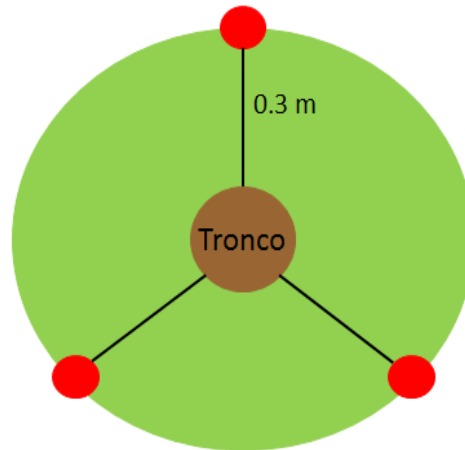
3.2.1 Amostragem do solo

Foram coletadas três sub-amostras ao redor das plantas, a uma distância de 0.3 m do tronco, a uma profundidade de 0-20 cm, para compor uma única amostra composta por cada local (Figura 4). As amostras foram depositadas em sacos plásticos e conduzidas ao Laboratório de Análises do Solo, no Departamento de Ciência do Solo da UFLA, para análise das características químicas e físicas.

3.2.2 Amostragem de folhas e determinação de atributos químicos

Para a amostragem em todos os locais foi considerado o terço médio superior da planta, selecionando-se ramos sadios dos pontos cardeais ao redor da planta. Posteriormente foram feitos dois cortes, um a partir da quarta ou quinta folha do ápice e o outro a aproximadamente 10 cm acima da bifurcação dos ramos, onde encontra-se folhas recentemen

Figura 4 - Esquema de amostragem das três subamostras de solo coletadas a 20 cm de profundidade e a uma distância de 0,3 m do tronco de Ora-pro-nobis.



Fonte: Do autor (2019).

te maduras, ou seja, aquelas que completaram o crescimento e ainda não entraram em senescência. Em seguida, as folhas do ramo foram retiradas e repetiu-se o procedimento até obter 50 folhas por planta.

As folhas destacadas foram colocadas em sacos de papel e levadas ao laboratório para obtenção da massa fresca e, logo após, realizadas três lavagens sucessivas em água destilada com o objetivo de retirar qualquer tipo de poeira ou partículas pequenas, impurezas trazidas do campo. Logo foram colocadas para secagem em temperatura ambiente, durante a noite, em local protegido. No dia seguinte, as folhas foram levadas para secagem em sacos de papel em estufa de circulação forçada de ar durante seis dias, a temperatura de 65°C, para determinação de massa seca das folhas. Em seguida, as folhas foram trituradas em moinho de facas tipo ciclone durante 20 segundos por amostra, e armazenadas em potes plásticos. Deste material, foi pesado 1.0 g de amostra e levado ao laboratório de análise nutricional de plantas para análise química dos seguintes nutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). A porcentagem de proteína na folha foi obtida multiplicando o teor de N na folha (%) pelo fator de conversão 6,25 (AMERICAN, 1962).

3.2.3 Amostragem de raiz

Realizou-se a coleta de cinco gramas de raiz por planta procurando, quando possível, as raízes mais finas. O solo aderido as raízes foi retirado manualmente e armazenado em sacos plásticos; as raízes foram colocadas em copos plásticos e levadas imediatamente ao laboratório onde algumas foram lavadas com água corrente até eliminação de todo resíduo de solo. Em seguida, as raízes foram colocadas em copos contendo água destilada e armazenadas, junto com o solo, em câmara fria a 4°C até a sua utilização.

3.3 Isolamento de bactérias diazotróficas associativas

O isolamento foi realizado em câmara de fluxo laminar e todo material utilizado foi devidamente esterilizado e autoclavado. Foi utilizado o meio de cultura de enriquecimento semi-sólido livre de nitrogênio, NFb modificado semi-sólido (Magalhães, 1981) como descrito no Anexo Tabela S1. Foram utilizados controles negativos ou brancos para avaliar a ausência de contaminação no meio. A estirpe UFLA 246 (*Azospirillum brasilense*) foi utilizada como controle positivo para a validação do meio quanto à formação da película, indicativa da presença de bactérias diazotróficas.

O meio de cultura NFb modificado foi distribuído em frascos de vidro de 30 ml de capacidade (20 mL por frasco) para posterior autoclavagem. O isolamento das bactérias diazotróficas foi realizado a partir de três materiais diferentes: raiz sem lavar (com remoção do solo aderido), solo que estava aderido as raízes (rizosfera), e macerado das raízes lavadas em água. Para o isolamento utilizando o solo, foi escolhido aleatoriamente um agregado de solo excedente retirado das raízes coletadas e introduzido com ajuda de uma pinça no frasco contendo meio de cultura NFb modificado semi-sólido. Para o isolamento das bactérias presentes nas raízes, foi seccionado um fragmento fino de raiz de aproximadamente 1 cm de comprimento e com ajuda de uma pinça foi introduzido no meio de cultura NFb modificado semi-sólido. Para o isolamento do macerado, foi extraída uma alíquota de 0,1 ml do macerado de raiz em água e introduzido no meio de cultura NFb modificado semi-sólido.

Para o isolamento de bactérias do solo, raiz e macerado de raiz em água foram realizadas, respectivamente, 5, 3 e 3 repetições de frascos por local de amostragem,

totalizando 132 frascos. Após as inoculações nos meios de cultura, os frascos foram incubados a 28 °C por 10 dias a fim de se obter a formação de película. Foram considerados positivos aqueles que formaram película típica na superfície do meio de cultura. Após o período de crescimento, os frascos positivos foram reinoculados em meio de cultura NFb modificado semi-sólido a fim de se obter confirmação da formação da película. Confirmada a película, as culturas foram repicadas em placas de Petri contendo meio de cultura NFb sólido, no qual foi acrescido 0,2 g de extrato de levedura e 18 g de agarose em relação ao meio semi-sólido, e incubadas por cinco dias a 28° C em BOD. Após várias repicagens em meio NFb sólido para obtenção de colônias puras, as mesmas foram repicadas novamente para meio de cultura batata sólido para confirmação de pureza.

Para a caracterização cultural, os isolados puros ficaram incubados por 4 dias em câmara de crescimento a 28 °C em meio de cultura batata. As características das colônias avaliadas foram: tempo de crescimento, diâmetro médio (mm), forma (puntiforme, circular e irregular), borda (inteira, ondulada, lobada, denteada e filamentosa), superfície (lisa, rugosa e papilada), produção de goma (escassa, pouca, moderada e abundante), elevação (plana, lenticular, convexa, e umbilicada), consistência da massa de crescimento (seca, aquosa, gomosa, viscosa e butírica), e detalhes ópticos (transparente, translucido, opaco e brilhante). Para conservação e armazenamento, os isolados foram colocados em água destilada esterilizada à temperatura ambiente e também liofilizados.

3.4 Sequenciamento parcial do gene 16S rRNA

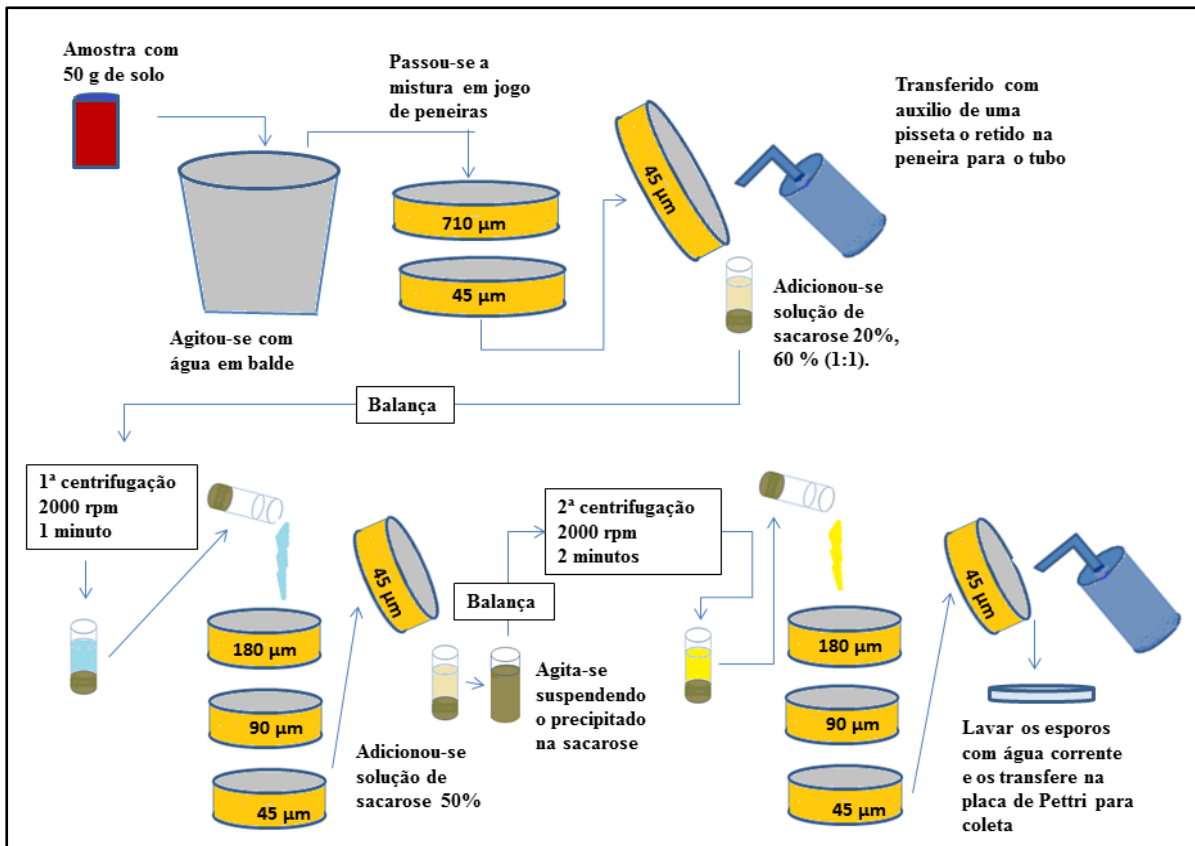
A identificação genética das estirpes diazotróficas foi realizada a partir da amplificação do gene 16S rRNA. Para a extração do DNA genômico de cada estirpe selecionada utilizou-se a metodologia de lise alcalina (NIEMANN et al., 1997). Para a amplificação do gene 16S rRNA preparou-se um mix para cada reação de PCR (Reação em cadeia de polimerase) com um volume final de 50 µL, contendo: 3µL DNA, 5 µL tampão 10X KCl, 5µL MgCl₂ (2,5 mM), 5 µL dNTP Mix (2 mM), 1 µL de cada primer: 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') a 10 mmol L⁻¹ (Lane 1991), 0,4 µL de Taq DNA polimerase (5U µL⁻¹) e água Mili-Q estéril. A reação de amplificação foi realizada em termociclador Eppendorf Mastercycler com as seguintes condições: desnaturação inicial 85° C durante 5 min, 35 ciclos de desnaturação (94°

C durante 45 s), anelamento (50° C por 1 min), extensão (72° C durante 1,30 min), e uma extensão final de 72° C por 7 min. Uma alíquota de cada reação dos produtos amplificados foram analisados em gel de agarose (1% p/v) com adição do corante SYBR Safe (Invitrogen) sob luz UV. Foi utilizado o marcador -1 Kb DNA Ladder no gel para verificar a amplificação do gene. A purificação dos produtos de PCR e o sequenciamento de DNA (com os iniciadores 27F e 1492F) foram realizados pelo laboratório WemSeq Biotecnologia (Curitiba – PR) e a qualidade das sequências foi analisada utilizando o software BioNumerics 7.6 e, após isso, submetidas ao BLASTn (Bethesda, MD, EUA) e comparadas no banco de dados do GenBank (National Center for Biotechnology Information) para se obter o acesso mais similar.

3.5 Extração, montagem e identificação dos esporos

Os esporos foram extraídos pelo método do peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963) seguido por centrifugação em gradiente de sacarose (JENKINS, 1964). Uma amostra de 50 g de solo proveniente de cada amostra coletada a campo foi dispensada em um Becker de vidro de 2 L enchido com água. O solo foi desagregado com auxílio de um bastão de vidro, a solução agitada em um sentido e o sobrenadante dispensado em peneiras de 710 µm e 45 µm de abertura. O material retido na peneira de 710 µm foi avaliado em placa de Petri com água em microscópio estereoscópico buscando esporos grandes, esporocarpos e esporos que possam estar aderidos a fragmentos de raízes ou matéria orgânica. O material retido na peneira de 45 µm foi transferido para tubos de centrífuga com gradiente de sacarose 20% e 60% (15 mL de cada) e centrifugado por 1 minuto a 2000 rpm. O sobrenadante dispensado em peneiras de aberturas de 180 µm, 90 µm e 45 µm, lavado com água destilada, para inspeção e coleta de esporos realizada em estereo microscópio. Figura 5.

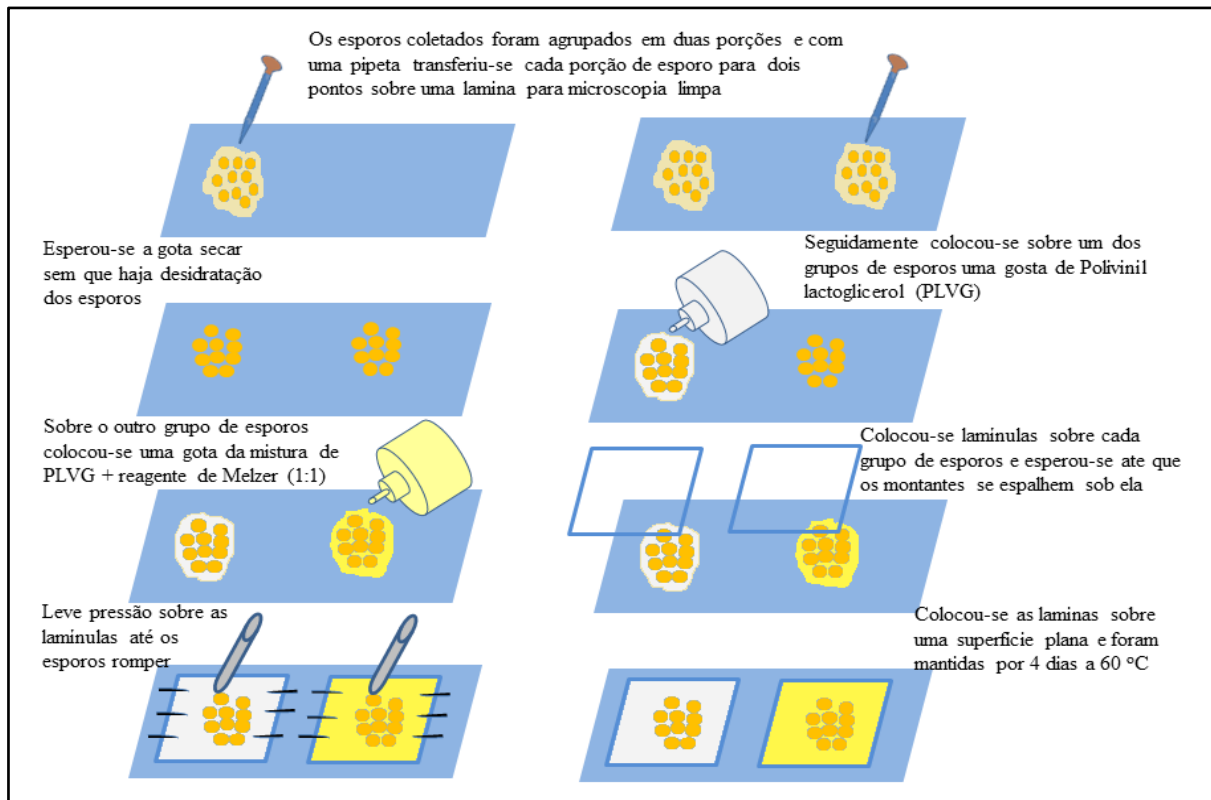
Figura 5 - Esquema do procedimento sequencial de extração de esporos



Fonte: Do autor (2019). (Adaptada de Orivaldo José Saggin Júnior).

Os esporos foram contados e coletados os distintos morfotipos de acordo com tamanho, forma e cor, os quais foram fixados em lâminas permanentes com os reagentes PVLG (Polivinil, Lacto-Glicerol) (KOSKE; TRESSIER, 1983) e Melzer (iodo, hidrato de cloral, iodeto de potássio e água) com PVLG (1:1). As lâminas foram avaliadas em microscópio óptico, e os esporos foram identificados com base em caracteres morfológicos e histoquímicos, comparando-os com as descrições originais das espécies, contidas na página da web da International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM-<http://invam.caf.wvu.edu>, West Virginia University, E.U.A) e Blaszkowski (2012). Seguimos a classificação proposta por Redecker et al. (2013), com adições de gêneros aceitos por Wijayawardene et al. (2018). Figura 6.

Figura 6 - Esquema do procedimento sequencial de montagem dos esporos em laminas.



Fonte: Do autor (2019). (Adaptado de NOVAIS *et al.*, 2010).

3.6 Colonização Micorrízica

As raízes coletadas foram descoloridas de acordo com o método proposto por Koske e Gemma (1989). Cada amostra de raiz foi disposta em um becker individual, de modo que ficasse coberta com KOH 10%. Colocou-se as amostras em banho-maria a temperatura de 90°C por 50 minutos e em seguida lavou-se as raízes em água corrente. Posteriormente ao processo de descoloração, cobriu-se as raízes com HCL 1%, onde estas permaneceram por 10 minutos em temperatura ambiente. Passados 10 minutos, o HCL foi retirado e as amostras cobertas com corante Azul de tripan (0,05) onde foram dispostas novamente em banho-maria por 50 minutos a uma temperatura de 90°C. Após isso, dez fragmentos de raízes de 1 cm aproximadamente foram cortados de cada amostra e montados em lâminas com o reagente de PVLG (Polivinil, Lacto-Glicerol) para a avaliação da colonização micorrízica.

3.7 Análises estatísticas

Foram avaliadas as relações entre variáveis e o agrupamento das amostras quanto as variáveis analisadas. Os dados foram escalonados e/ou padronizados antes da análise de componentes principais (PCA) para eliminar diferenças nas escalas. Para investigar a significância das relações teores de nutrientes no solo e na planta foi aplicado o coeficiente de correlação de Pearson usando o software R versão 3.6 (R Development Core Team, 2018). A distribuição das estirpes em diferentes grupos culturais e a diversidade de gêneros foi analisada graficamente por meio de análise estatística descritiva.

4 RESULTADOS

4.1 Análise química e física dos solos

A interpretação da análise química do solo foi realizada com base nas recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (ALVAREZ et al., 1999) (Tabela 3). Os valores de pH para todos os locais estiveram entre 5,6 e 8,4 sendo que Perdões1 foi o único que apresentou um valor considerado como bom (5,5 – 6,0) 5,6 entretanto oito locais tiveram valores considerados como muito altos (>7,0). Para a saturação por alumínio e teor de alumínio os valores foram considerados como baixos (< 15%) e <0,05 respectivamente). A saturação por bases (V) mostra que os solos de todos os locais apresentavam valores que indicam solos de boa fertilidade pois todos tinham valores >50%, o mesmo para a CTC efetiva que em todos os casos foram categorizados como bons (4,61-8,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$) a muito bons (>8,0 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$), conseqüentemente os valores da soma de bases (SB) seguiram a mesma tendência dos seus correspondentes valores da CTC efetiva em todos os locais. Referente a matéria orgânica (M.O.), Ijaci4, Ijaci6 e Perdões2 foram considerados baixos (<2%), bom para Lavras3 (4-7%), e médio para os demais (2-4%). Os teores de fósforo (P) disponível segundo a porcentagem de argila encontrados foram muito bons (>45, mg dm^{-3}) para todos os solos menos para Ijaci1, Ijaci6 e Lavras1 que foram considerados como médio, muito baixo e baixo (<30, <15 e <12 mg dm^{-3} respectivamente) (Tabela 3). Os teores de potássio (K^+) nos solos de todos os locais foram classificados como bons (71-120 mg dm^{-3}), com exceção de Lavras1 e Lavras2 que tiveram valores baixos (16-40). O teor de enxofre (S) classificado segundo o P remanescente, em todos os locais foram considerados como

baixos a muito baixos, com exceção de Ijaci5, Lavras1, Lavras3 e Perdões2 que foram considerados médios (Tabela 3). No caso dos teores de cálcio (Ca) foram considerados como muito bons em todos os locais ($>4 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), exceto para Lavras1 que foi considerado bom ($2,42-4,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$). No caso dos teores de magnésio (Mg) o único considerado como muito bom ($>1,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) ocorreu em Lavras2 ($2,11 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e foi: bom ($0,91-1,5 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) em Itumirim1, Lavras3 e Perdões1; médio ($0,46-0,90 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) em Ijaci1, Ijaci2 e Ijaci3, Ijaci5, Lavras1 e Perdões2 e baixo ($0,16-0,45 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) nos restantes. Entretanto os teores dos micronutrientes zinco (Zn) e manganês (Mn) foram classificados como altos ($> 2,2$ e $> 12 \text{ mg dm}^{-3}$) em todos os locais. Já para o ferro (Fe) foi considerado médio ($19-30 \text{ mg dm}^{-3}$) em Ijaci1, Ijaci4 e Ijaci6; baixo ($8-18 \text{ mg dm}^{-3}$) em Ijaci5 e Ijaci3; bom para Ijaci2 ($31-45 \text{ mg dm}^{-3}$) e alto ($>45 \text{ mg dm}^{-3}$) para os restantes. Com relação aos teores de boro (B) foram considerados médios ($0,36-0,6 \text{ mg dm}^{-3}$) para Ijaci2 e Itumirim1, e baixo ($0,16-0,35 \text{ mg dm}^{-3}$) para os locais restantes. Já o cobre (Cu) apresentou altos teores ($> 1,8 \text{ mg dm}^{-3}$) em Lavras1, Lavras2 e Perdões2; bons ($1,3-1,8 \text{ mg dm}^{-3}$) em Ijaci5 e Itumirim1; teores médios ($0,8-1,2 \text{ mg dm}^{-3}$) em Ijaci4 e Perdões1; e teores baixos nos locais restantes. Os solos apresentaram textura variada, desde arenoso em Ijaci1, argiloso em Ijaci2, Ijaci3, Lavras2 e Lavras3, até muito argiloso em Lavras1; e textura média nos locais restantes.

4.2 Teores de nutrientes nas folhas e sua relação entre atributos químicos do solo

As análises dos teores de macro e micronutrientes nas folhas coletadas de OPN nos 12 locais encontram-se na Tabela 4. É necessário considerar que não se tem um padrão de comparação de análise foliar para cactáceas, mas de modo geral, os valores encontrados não parecem representar limitação para o desenvolvimento da planta, pois não foram observados sintomas que pudessem ser considerados de deficiência quando foram coletadas.

Os resultados das análises de relação entre os principais atributos químicos do solo e as variáveis químicas na folha mostram que não há relação entre o nitrogênio total no solo e o teor de proteína na folha (Figura 7A), alíás o coeficiente R é menor que o p-valor conferindo a inexistência de correlação entre estas variáveis, o que também ocorreu para a relação entre os teores de matéria orgânica no solo e proteína na folha de OPN (Anexo Figura S1A). Para o caso do P no solo relacionado com P na folha há existência de correlação (Figura 7B), mas isso se deve a um valor extremo do local Ijaci5 ($10,73 \text{ g kg}^{-1}$) que foi, aproximadamente, 10 vezes superior aos dos outros locais e que, portanto, teve influência determinante nesse resultado. Desse modo, vale destacar que se esse outlier fosse removido, não haveria

correlação (Anexo Figura S1B). O K no solo mostrou clara relação com o K encontrado na planta (Figura 7C). No caso do Mg no solo relacionado com o Mg na folha há uma relação que ajusta como media devido a um valor levemente extremo correspondente ao local Lavras2 (12,95 g kg⁻¹), mas como pode ser observar ele aumentou quase na proporção do teor encontrado no solo (Figura 7D). Já no caso do Ca do solo e o Ca na planta, assim como Fe no solo e Ferro na folha as relações são inexistentes (Anexo Figura S1(C, D)). Já no caso do Zn (Anexo Figura S1E) em Ijaci5 e Perdões1 apresentaram valores elevados em relação aos demais (71,41 e 86,4 mg kg⁻¹, respectivamente), porém estes valores estão dentro dos adequados para as principais hortaliças, raízes e tubérculos (MALAVOLTA, 2006). Por outro lado, o histórico das áreas onde foi realizada as coletas ajuda a entender melhor as variações nutricionais encontradas nas plantas como produto do estágio de desenvolvimento da planta dado pela idade assim como os tratos culturais que nelas são realizados habitualmente pelos proprietários (Tabela 2).

Tabela 3 - Atributos químicos e físicos do solo dos doze locais onde foram coletadas as plantas OPN (*Pereskia aculeata* Mill.).

| Atributos | Ijaci1 | Ijaci2 | Ijaci3 | Ijaci4 | Ijaci5 | Ijaci6 | Itumirim1 | Lavras1 | Lavras2 | Lavras3 | Perdões1 | Perdões2 |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| pH ⁽¹⁾ (H ₂ O) | 6,6 A | 7,8 Ma | 7,6 Ma | 8,4 Ma | 8 Ma | 8,2 Ma | 7,1 Ma | 6,1 A | 7,3 Ma | 6,9 A | 5,6 B | 8,3 Ma |
| K ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 137,43 Mb | 135,39 Mb | 108,88 B | 61,98 M | 174,14 Mb | 109,9 b | 172,1 Mb | 31,39 Ba | 18,14 Ba | 151,7 Mb | 109,9 B | 155,78 Mb |
| P ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 26,44 M | 76,64 Mb | 122,94 Mb | 109,02 Mb | 342,27 Mb | 10,02 Ba | 55,71 Mb | 3,42 Ba | 78,82 Mb | 132,0 Mb | 60,29 Mb | 48,03 Mb |
| Ca ⁽³⁾ (cmol _c dm ⁻³) | 5,86 Mb | 12,64 Mb | 11,32 Mb | 8,65 Mb | 13,1 Mb | 4,22 Mb | 8,93 Mb | 3,05 b | 5,66 Mb | 13,52 Mb | 4,36 Mb | 8,33 Mb |
| Mg ⁽³⁾ (cmol _c dm ⁻³) | 0,85 M | 0,56 M | 0,85 M | 0,41 Ba | 0,83 M | 0,17 Ba | 1,12 B | 0,53 M | 2,11 Mb | 1,15 B | 0,94 B | 0,67 M |
| Al ⁽³⁾ (cmol _c dm ⁻³) | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,02 | 0,02 | 0,04 | 0,03 | 0,02 | 0,05 | 0 |
| H+Al (cmol _c dm ⁻³) | 1,64 Ba | 0,68 Ba | 0,72 Ba | 0,58 Ba | 0,71 Ba | 0,74 Ba | 1,3 Ba | 3 M | 1,08 Ba | 1,29 Ba | 2,83 Ba | 0,62 Ba |
| SB (cmol _c dm ⁻³) | 7,06 Mb | 13,55 Mb | 12,45 Mb | 9,22 Mb | 14,38 Mb | 4,67 B | 10,49 Mb | 3,66 B | 7,82 Mb | 15,06 Mb | 5,58 B | 9,4 Mb |
| t (cmol _c dm ⁻³) | 7,07 B | 13,55 Mb | 12,45 Mb | 9,22 Mb | 14,38 Mb | 4,69 B | 10,51 Mb | 3,7 M | 7,85 B | 15,08 Mb | 5,63 B | 9,4 Mb |
| T (cmol _c dm ⁻³) | 8,7 B | 14,23 B | 13,17 B | 9,8 B | 15,09 B | 5,41 M | 11,79 B | 6,66 M | 8,9 B | 16,35 Mb | 8,41 M | 10,02 B |
| V% | 81,18 Mb | 95,2 Mb | 94,53 Mb | 94,07 Mb | 95,27 Mb | 86,35 Mb | 88,98 Mb | 54,96 M | 87,83 Mb | 92,1 Mb | 66,37 B | 93,81 Mb |
| m (%) | 0,14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,43 | 0,19 | 1,08 | 0,38 | 0,13 | 0,89 | 0 |
| M.O. (dag kg ⁻¹) | 2,96 M | 3,74 M | 3,19 M | 1,55 Ba | 3,82 M | 1,02 Ba | 2,57 M | 2,54 M | 2,42 M | 5,91 B | 2,67 M | 1,8 B |
| N total (g kg ⁻¹) | 4,32 | 4,22 | 4,28 | 2,64 | 5,34 | 2,20 | 2,50 | 2,28 | 2,14 | 5,40 | 3,32 | 2,70 |
| P-Rem (mg L ⁻¹) | 42,93 | 35,09 | 41,22 | 40,77 | 37,27 | 38,93 | 32,93 | 20,11 | 19,63 | 36,36 | 54 | 31,85 |
| Zn ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 4,13 A | 9,92 A | 13,43 A | 12,79 A | 31,87 A | 2,22 A | 14,73 A | 2,49 A | 29,86 A | 18,44 A | 11,79 A | 76,46 A |
| Fe ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 25,43 M | 40,48 B | 11,82 Ba | 27,03 M | 8,3 Ba | 29,44 M | 45,03 A | 60,19 A | 84,5 A | 73,16 A | 83,18 A | 109,82 A |
| Mn ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 44,06 A | 101,66 A | 114,15 A | 50,7 A | 121,04 A | 53,61 A | 142,13 A | 19,1 A | 59,31 A | 65,11 A | 54,71 A | 75,65 A |
| Cu ⁽²⁾ (mg dm ⁻³) | 0,52 Ba | 0,46 Ba | 0,78 M | 1,2 M | 1,48 B | 0,6 Ba | 1,62 B | 2,34 A | 4,72 A | 0,53 Ba | 1,26 M | 15,0 A |
| B (mg dm ⁻³) | 0,16 Ba | 0,44 M | 0,28 Ba | 0,33 Ba | 0,21 Ba | 0,28 Ba | 0,36 M | 0,17 Ba | 0,16 Ba | 0,32 Ba | 0,16 Ba | 0,19 Ba |
| S (mg dm ⁻³) | 3,11 Ba | 7,1 Ba | 4,39 Ba | 4,59 Ba | 11,96 M | 0,82 Ba | 1,72 Ba | 7,74 M | 2,18 Ba | 10,0 M | 4,73 Ba | 13,2 B |
| Argila (dag kg ⁻¹) | 10 | 42 | 37 | 28 | 30 | 16 | 36 | 63 | 54 | 47 | 22 | 34 |
| Silte (dag kg ⁻¹) | 30 | 24 | 21 | 11 | 18 | 3 | 18 | 17 | 14 | 5 | 16 | 12 |
| Areia (dag kg ⁻¹) | 60 | 34 | 42 | 61 | 52 | 81 | 46 | 20 | 32 | 48 | 62 | 54 |

Legenda: ⁽¹⁾pH em H₂O, KCl e CaCl₂ (1:2,5); ⁽²⁾P, K, Fe, Zn, Mn e Cu: Mehlich 1; ⁽³⁾Ca, Mg e Al: KCl -1mol/L; N total: Kjeldahl; SB: Soma de bases trocáveis, t: capacidade de troca catiônica efetiva; T: capacidade de troca catiônica a pH 7,0: extraído pelo acetato de Ca 0,5 mol/L; V: índice de saturação de bases; m: índices de saturação de alumínio; M.O.: matéria orgânica. A: alto, B: bom, Ba: baixo, Mb: muito bom, M: médio, Ma: muito alto.

Fonte: Do autor (2019).

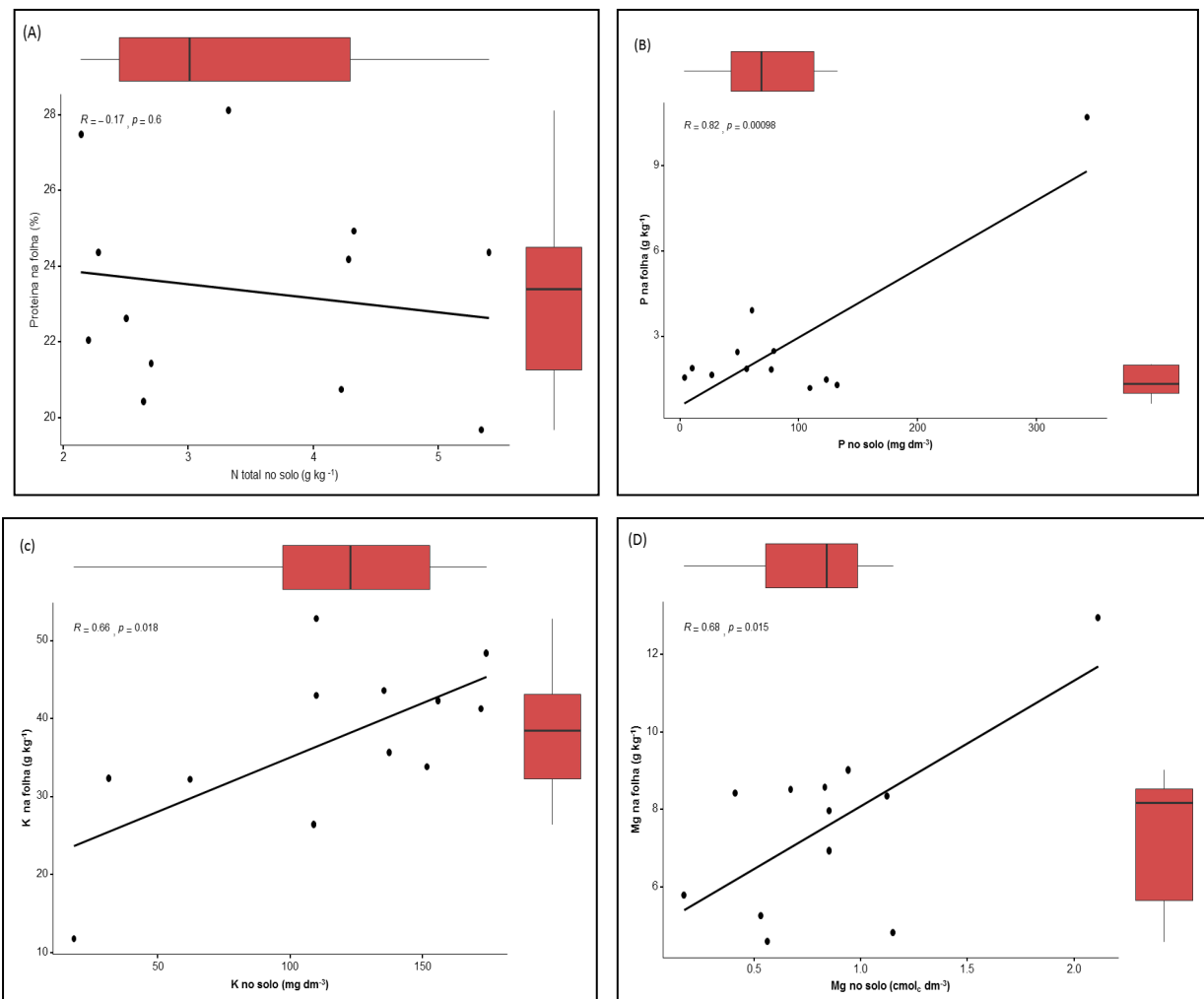
Tabela 4 - Análise nutricional das folhas de OPN (*Pereskia aculeata* Mill.) em doze locais no sul do estado de Minas Gerais-Brasil.

| Atr. | Ijaci1 | Ijaci2 | Ijaci3 | Ijaci4 | Ijaci5 | Ijaci6 | Itumirim1 | Lavras1 | Lavras2 | Lavras3 | Perdões1 | Perdões1 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------|---------|---------|---------|----------|----------|
| N | 39,9 | 33,2 | 38,7 | 32,7 | 31,5 | 35,3 | 36,2 | 39,0 | 44,0 | 39,0 | 45,0 | 34,3 |
| P | 1,65 | 1,84 | 1,49 | 1,19 | 10,73 | 1,88 | 1,86 | 1,56 | 2,49 | 1,3 | 3,92 | 2,46 |
| K | 35,7 | 43,63 | 26,47 | 32,25 | 48,42 | 52,86 | 41,29 | 32,37 | 11,82 | 33,85 | 43,03 | 42,34 |
| Ca | 41,25 | 47,61 | 47,17 | 47,59 | 47,59 | 47,55 | 43,57 | 35,49 | 47,6 | 34,3 | 25,03 | 40,77 |
| Mg | 6,95 | 4,61 | 7,98 | 8,44 | 8,59 | 5,8 | 8,36 | 5,28 | 12,95 | 4,84 | 9,03 | 8,53 |
| S | 2,88 | 3,81 | 2,74 | 3,48 | 4,57 | 3,25 | 2,88 | 2,41 | 3,57 | 2,04 | 4,49 | 3,15 |
| B | 17,27 | 41,14 | 33,19 | 28,08 | 42,36 | 22,44 | 33,19 | 20,67 | 20,67 | 39,94 | 36,48 | 27,1 |
| Cu | 5,39 | 8,49 | 6,42 | 4,12 | 22,96 | 3,8 | 7,35 | 10,27 | 14,04 | 6,87 | 15,11 | 13,65 |
| Fe | 101,86 | 161,08 | 108,08 | 176,97 | 171,24 | 137,59 | 113,9 | 72,48 | 124,46 | 59,95 | 140,06 | 95,25 |
| Mn | 122,78 | 78,4 | 104,23 | 61,06 | 116,17 | 100,18 | 159,4 | 104,42 | 71,09 | 68,22 | 231,75 | 27,16 |
| Zn | 15,72 | 16,6 | 14,57 | 12,38 | 71,41 | 10,23 | 26,59 | 22,24 | 28,72 | 10,2 | 86,04 | 23,65 |
| Pt | 24,94 | 20,75 | 24,19 | 20,44 | 19,69 | 22,06 | 22,62 | 24,37 | 27,5 | 24,37 | 28,12 | 21,44 |

Legenda: As unidades para N, P, K, Ca, Mg e S se apresentam em g kg^{-1} . As unidades para B, Cu, Fe, Mn e Zn se apresentam em mg kg^{-1} . Pt: proteína (%) em matéria seca.

Fonte: Do autor (2019).

Figura 7 - Relação entre os principais atributos químicos do solo e teores dos correspondentes elementos na folha de OPN. (A) Nitrogênio total no solo e proteína na folha, (B) Fósforo no solo e Fósforo na folha, (C) Potássio no solo e Potássio na folha, (D) Magnésio no solo e Magnésio na folha.



Fonte: Do autor (2019).

4.3 Isolamento e caracterização cultural de diazotróficos

A partir do segundo dia de inoculação no meio de cultura NFb modificado começaram a aparecer os primeiros sinais da formação de película e a partir do terceiro dia se instalou na superfície. Este processo, em alguns dos tratamentos, foi mais prolongado até chegar a película na superfície do meio (Figura 8). Em todos os locais foi possível visualizar essa formação de película, em pelo menos um dos materiais utilizados para isolamento (solo, raiz e macerado). O local com menos frascos que formaram película foi Lavras2 (1 frasco) e o local com mais frascos foi Ijaci2 (10 frascos), conferindo-se a existência de bactérias diazotróficas como se observa na Tabela 5. Vale destacar que alguns casos resultaram em mais de um isolado por frasco produto do processo de isolamento.

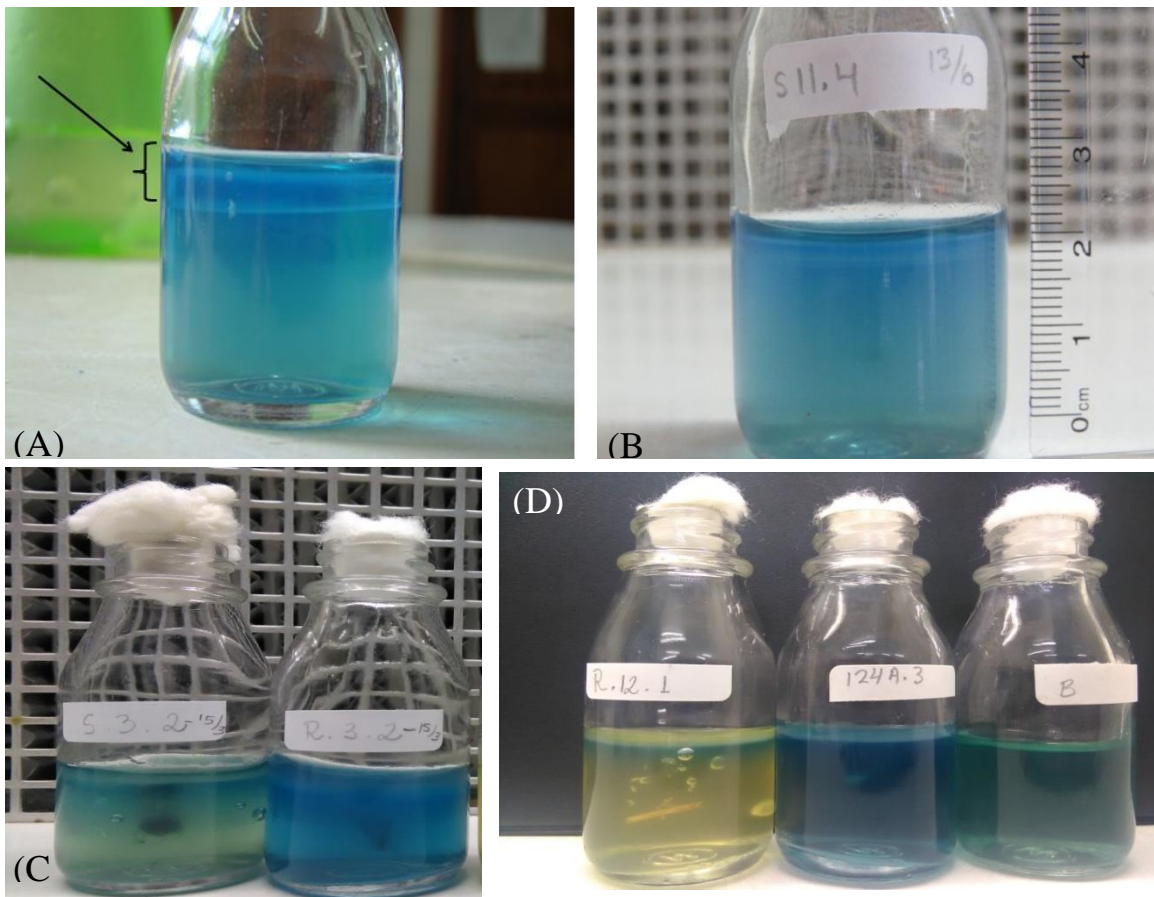
No final do processo de isolamento foram obtidos 131 isolados bacterianos de *ora-pro-nobis* a partir de solo aderido à raiz (49), raiz sem solo aderido (37) e macerado de raízes em água (45) dos doze locais coletados. Vinte e um isolados foram obtidos de Ijaci2 e Itumirim1, cada; 12 isolados de Ijaci1 e Ijaci3; 3 de Lavras1, 1 de Lavras2, 11 de Lavras3, 7 de Ijaci4, 9 de Ijaci5, 5 de Ijaci6, 10 de Perdões1 e 19 de Perdões2. Deste total, 24 grupos culturais foram formados baseados em quatro características morfológicas: elevação, produção de muco, consistência e detalhes óticos (Figura 9). Os grupos culturais com mais representantes correspondiam aos de elevação convexa, produção de muco moderada, consistência gomosa e detalhes óticos brilhantes (20%); elevação convexa, produção de muco moderada consistência gomosa e detalhes óticos opacos (16%); e elevação lente, pouca produção de muco, consistência seca e detalhes óticos opacos (8%).

Tabela 5 - Formação de película obtida no final em cada unidade de isolamento (frasco). A numeração indica as repetições feitas por material de isolamento. (+) Houve formação de película, (-) não houve formação de película.

| Local | Solo aderido à raiz | | | | | Raiz sem lavar | | | Macerado de raízes em água | | |
|-----------|---------------------|---|---|---|---|----------------|---|---|----------------------------|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Ijaci1 | + | - | - | - | - | + | + | - | + | + | + |
| Ijaci2 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + |
| Ijaci3 | + | + | - | + | - | + | - | + | - | + | + |
| Ijaci4 | - | - | + | + | - | - | - | + | - | - | + |
| Ijaci5 | + | + | + | + | + | - | - | - | + | - | + |
| Ijaci6 | - | - | - | - | - | + | + | - | + | - | - |
| Itumirim1 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| Lavras1 | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + | - |
| Lavras2 | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Lavras3 | - | + | - | + | - | + | - | - | + | + | + |
| Perdões1 | + | - | + | - | - | + | - | + | + | - | - |
| Perdões2 | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + |

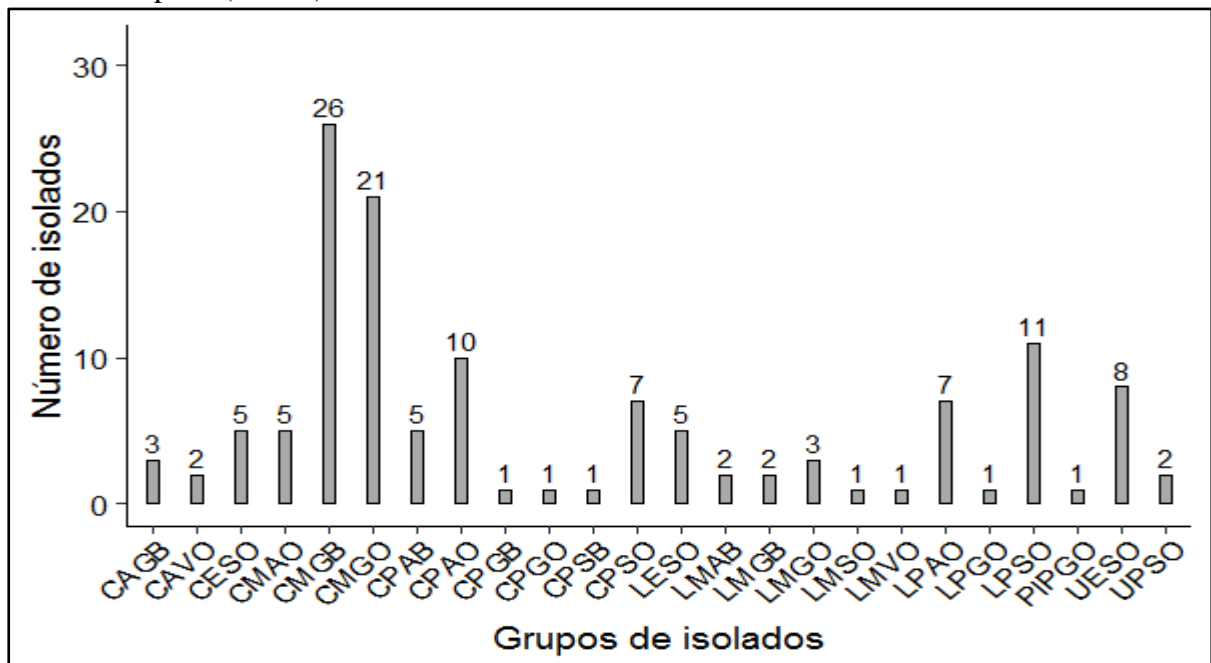
Fonte: Do autor (2019).

Figura 8 – Formação de película no meio de cultura NFb modificado. (A) início da formação da película, (B) formação plena da película na superfície, (C) agregado de solo com película na superfície, (D) esquerda: fragmento de raiz com película na superfície, meio: controle (+) com formação de película, direita: controle (-) sem inoculo.



Fonte: Do autor (2019).

Figura 9 - Número de isolados dos diferentes locais distribuídos em 24 grupos culturais baseados em elevação, produção de muco, consistência e detalhes óticos. Convexa, abundante, gomosa e brilhante (CAGB); convexa, abundante, viscosa e opaco (CAVO); convexa, escassa, seca e opaco (CESO); convexa, moderada, aquosa e opaco (CMAO); convexa, moderada, gomosa e brilhante (CMGB); convexa, moderada, gomosa e opaco (CMGO); convexa, pouca, abundante e brilhante (CPAB); convexa, pouca, abundante e opaco (CPAO); convexa, pouca, gomosa e brilhante (CPGB); convexa, pouca, gomosa e opaco (CPGO); convexa, pouca, seca e opaco (CPSB); convexa, pouca, seca e opaco (CPSO); lente, escassa, seca e opaco (LESO); lente, moderada, abundante e brilhante (LMAB); lente, moderada, gomosa e brilhante (LMGB); lente, moderada, gomosa e opaco (LMGO), lente, moderada, seca e opaco (LMSO), lente, moderada, viscosa e opaco (LMVO); lente, pouca, aquosa e opaco (LPAO); lente, pouca, gomosa e opaco (LPGO); lente, pouca, seca e opaco (LPSO); plana, pouca, gomosa e opaco (PIPGO); umbilicada, escassa, seca e opaco (UESO); umbilicada, pouca, seca e opaco (UPS0).



Fonte: Do autor (2019).

Quanto ao tempo de crescimento em placa 95% dos 131 isolados apresentaram crescimento rápido (2 dias).

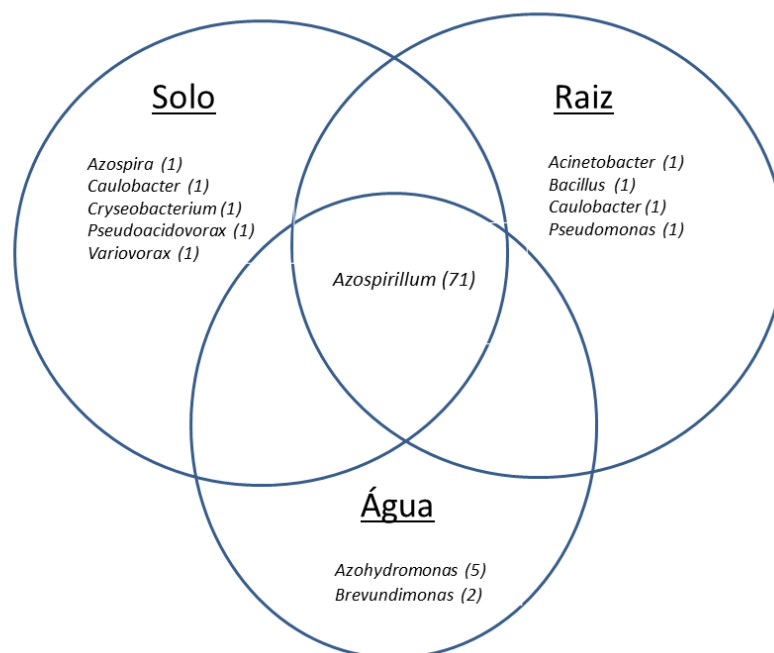
4.4 Identificação genotípica das bactérias diazotróficas associativas

A maior porcentagem de gêneros encontrados corresponde a *Azospirillum* com 81% no total. A distribuição quantitativa dos gêneros encontrados em cada tipo de amostra se mostra na Figura 10. As espécies do gênero *Azospirillum* isoladas no nosso estudo foram A.

brasiliense, *A. agricola*, além de outras não bem definidas pois apresentaram a mesma similaridade com diferentes espécies como: *A. formosense*, *A. zea*, *A. melinis*, *A. lipoferum*, e *A. brasiliense* que foram categorizadas todas elas como *Azospirillum* sp. O maior número de isolados no total foi do gênero *Azospirillum* o qual segue nesta ordem: espécie *Azospirillum brasiliense* (36), seguida pelo grupo de *Azospirillum* sp. (20), e *Azospirillum agrícola* (14). *A. brasiliense* foi encontrado em todos os locais, *Azospirillum* sp em sete locais e *A. agrícola* só em três (Anexo Tabela S2).

No isolamento utilizando solo aderido a raiz foram encontrados representantes dos gêneros *Azospira*, *Caulobacter*, *Cryseobacterium*, *Pseudoacidovorax* e *Variovorax* (um isolado) representando 1,16% do total cada um deles. No isolamento da raiz da planta foram isoladas bactérias dos gêneros *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Caulobacter* e *Pseudomonas* (um isolado) representando 1,16% por cada. Já nos macerados das raízes em água foram encontrados os gêneros *Azohydromonas* (5 isolados) e *Brevundimonas* (2 isolados) representando 5,8% e 2,3% respectivamente (Figura 10). Somente do gênero *Azospirillum* foram obtidos: 18, 33, e 31 isolados tanto no solo, raiz e água respectivamente.

Figura 10 - Distribuição de gêneros de bactérias isoladas de diferentes tipos de amostra de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) de doze locais do sul de MG, Brasil. Na intercessão o gênero que ocorreu em todos os tipos de amostra. O número de indivíduos isolados de cada gênero em cada tipo de amostra está descrito entre parênteses.



Legenda: Solo: solo aderido à raiz, Raiz: raiz sem lavar, Água: macerado das raízes em água.
Fonte: Do autor (2019).

Em todos os locais o gênero *Azospirillum* foi o mais abundante, exceto em Lavras2 onde não se observou nenhuma estirpe. Itumirim1 apresentou a maior quantidade de estirpes do gênero *Azospirillum*, representando 18% do total de estirpes identificadas. Já Ijaci5, Lavras1 e Perdões1 apresentaram menos estirpes do gênero *Azospirillum* (2) correspondendo ao 2,32% por cada local. Por outro lado, Ijaci2 apresentou maior diversidade de gêneros (6), e Ijaci4, Ijaci5 e Ijaci6 os menos diversos (Tabela 6).

Tabela 6 - Ocorrência e quantidade de espécies isoladas em cada um dos doze locais.

| Locais | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ijaci1 | Ijaci2 | Ijaci3 | Ijaci4 | Ijaci5 | Ijaci6 |
| <i>Azospirillum</i> (9) | <i>Azospirillum</i> (9) | <i>Azospirillum</i> (6) | <i>Azospirillum</i> (3) | <i>Azospirillum</i> (2) | <i>Azospirillum</i> (3) |
| <i>Pseudoacidovorax</i> (1) | <i>Azihydromonas</i> (1) | <i>Pseudomonas</i> (1) | | | |
| | <i>Bacillus</i> (1) | | | | |
| | <i>Caulobacter</i> (1) | | | | |
| | <i>Chryseobacterium</i> (1) | | | | |
| | <i>Variovorax</i> (1) | | | | |

| Locais | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Itumirim1 | Lavras1 | Lavras2 | Lavras3 | Perdões1 | Perdões2 |
| <i>Azospirillum</i> (16) | <i>Azospirillum</i> (2) | NA | <i>Azospirillum</i> (6) | <i>Azospirillum</i> (2) | <i>Azospirillum</i> (12) |
| <i>Brevundimonas</i> (1) | <i>Azohydromonas</i> (1) | | <i>Azohydromonas</i> (3) | <i>Azospira</i> (1) | <i>Caulobacter</i> (1) |
| | | | <i>Brevundimonas</i> (1) | <i>Acinetobacter</i> (1) | |

Fonte: Do autor (2019).

4.5 Composição da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares no solo

Foram encontradas 30 espécies de FMAs nas rizosferas de *Pereskia aculeata*, estas se distribuem em 3 Ordens, 7 famílias e um representante de posicionamento filogenético incerto, *Entrophospora infrequens*. A Ordens *Glomerales* e *Diversisporales* foram representadas por 13 espécies cada, enquanto que *Archaeosporales* foi representada por 3 espécies e esporos da Ordem *Paraglomerales* não foram amostrados. A família com maior riqueza específica foi *Glomeraceae*, com 12 espécies distribuídas entre os gêneros *Dominikia*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis* e *Septogomus*; seguida por *Acaulosporaceae* e *Diversisporaceae*, com 8 e 3 espécies respectivamente. As famílias *Gigasporaceae* e *Ambisporaceae* foram representadas por apenas 2 espécies cada, enquanto que *Archaeosporaceae* e *Claroideoglomeraceae* contaram com apenas 1 espécie cada.

A riqueza específica de FMAs variou de 5 a 14 espécies nas rizosferas de *Pereskia aculeata*. Oito espécies de FMAs foram consideradas dominantes nas rizosferas, das quais, 6 pertencem à família *Glomeraceae*, a saber: *Funneliformis mosseae*, *Glomus glomerulatum*, *Glomus* sp1, *Rhizophagus intraradices*, *Sclerocystis sinuosa*, *Septoglomus constrictum*. Além de *Glomeraceae*, apenas as famílias *Claroideoglomeraceae* e *Acaulosporaceae* apresentaram espécies dominantes, que são *Claroideoglomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata*, respectivamente.

Quatro espécies de FMAs foram muito comuns, *Glomus microaggregatum* e *Sclerocystis coremioides*, pertencentes à família *Glomeraceae* e *Acaulospora mellea* e *Diversispora* sp, pertencentes às famílias *Acaulosporaceae* e *Diversisporaceae*, respectivamente. Espécies comuns pertenceram às famílias *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae*, *Diversisporaceae* e *Gigasporaceae*, enquanto que as famílias *Archaeosporaceae* e *Ambisporaceae* apresentaram apenas espécies raramente encontradas nas rizosferas de *Pereskia aculeata*. Tabela 7.

Tabela 7 - Diversidade de espécies de fungos micorrízicos encontrados no solo coletado próximo as raízes de OPN (*Pereskia aculeata* Mill.) nos doze diferentes locais no sul do estado de Minas Gerais – Brasil (Continua).

| Família e espécies | Locais | | | | | | | | | | | | | F *(%) |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--|-----------|
| | ljaci 1 | ljaci 2 | ljaci 3 | ljaci 4 | ljaci 5 | ljaci 6 | Itumi- rim1 | La- vras 1 | La- vras2 | La- vras3 | Per- dões1 | Per- dões2 | | |
| Família Ambisporaceae | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Ambispora leptoticha</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) R.J. Bills & J.B. Morton | | | | | | | | | + | | | | | R |
| <i>Ambispora</i> sp1 | | | | | | | | | + | | | | | R |
| Família Archaeosporaceae | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Archaeospora trappei</i> (R.N. Ames & Linderman) J.B. Morton & D. Redecker | | | | | + | | | | | | | | | R |
| Família Acaulosporaceae | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos | | | | | | | | | | | | + | | R |
| <i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck | | | | | | + | + | + | | | | + | | MC |
| <i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck | | | | | | | + | + | | | | | | C |
| <i>Acaulospora</i> cf. <i>minuta</i> | | | | | | + | | | + | | | + | | C |
| <i>Acaulospora</i> cf. <i>paulinae</i> | | | | | | | | | | | | + | | R |
| <i>Acaulospora rehmii</i> Sieverd. & S. Toro | | | | | | | | | | | | + | | R |
| <i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe | + | | | | | + | + | + | + | + | + | + | | D |
| <i>Acaulospora spinosissima</i> Oehl, Palenz., I.C. Sánchez, Tchabi, Hount. & G.A.Silva | | | | | | + | | | | + | | | | C |
| Família Diversisporaceae | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Diversispora</i> sp1 | + | + | | | + | + | | | + | | | + | | MC |
| <i>Diversispora</i> sp2 | | | | | | | + | | | | | | | R |
| <i>Diversispora</i> sp3 | | + | | | | | + | | | | | | | C |
| Família Gigasporaceae | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Cetraspora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. de Souza & Sieverd. | | | | | | | | | | + | | | | R |
| <i>Dentiscutata cerradensis</i> (Spain & J. Miranda) Sieverd., F.A. de Souza & Oehl | | | | | | + | | | + | | | | | C |

| | Ijaci 1 | Ijaci 2 | Ijaci 3 | Ijaci 4 | Ijaci 5 | Ijaci 6 | Itumi- rim1 | La- vras1 | La- vras2 | La- vras3 | Per- dões1 | Per- dões2 | F *(%) |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|-----------|
| Família Claroideoglomeraceae | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Claroideoglossum etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | | + | D |
| Família Glomeraceae | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Dominikia</i> sp1 | | + | | | | | + | | | | | | C |
| <i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler | + | | | | | + | + | + | + | | + | + | D |
| <i>Glomus glomerulatum</i> Sieverd. | + | | + | | + | + | + | + | + | + | | | D |
| <i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia (1986) | | | + | | | + | + | | | | + | | MC |
| <i>Glomus</i> sp1 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | D |
| <i>Glomus</i> sp2 | | | | | | | | | | | + | | R |
| <i>Glomus</i> sp3 | | | + | | | | | | | | | | R |
| <i>Glomus</i> sp4 | | | | | | | | | | | | + | R |
| <i>Rhizophagus intraradices</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler | | + | + | + | + | + | + | | + | + | | + | D |
| <i>Sclerocystis coremioides</i> Berk. & Broome | | + | | | | | + | | | + | + | | MC |
| <i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B.K. Bakshi | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | D |
| <i>Septoglossum constrictum</i> (Trappe) Sieverd., G.A. Silva & Oehl | + | + | + | + | + | | + | | + | + | | | D |
| Incertae cedis | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid. | | | | | | | | | + | | | | R |
| <i>Riqueza específica</i> | 8 | 9 | 8 | 5 | 9 | 14 | 13 | 10 | 12 | 9 | 12 | 5 | |
| <i>Densidade de esporos (50 g)</i> | 875 | 1275 | 1191 | 3265 | 398 | 843 | 2003 | 2071 | 1137 | 1784 | 1652 | 1042 | |

*A porcentagem de frequência das espécies foram classificadas como dominante (D) quando $F > 50\%$, muito comum (MC) entre $30\% < F \leq 50\%$, comum (C), quando $10\% < F < 30\%$ e rara (R) quando $F \leq 10\%$. O “+” significa a ocorrência da espécie (Conclusão).

Fonte: Do autor (2019).

4.6 Frequência e porcentagem de colonização de FMAs e de outros fungos endofíticos

A colonização de fungos micorrízicos arbusculares através da detecção de suas estruturas mostrou que a mais alta frequência foi encontrada em Lavras1 (29,83%), seguida de Perdões1 (11,66%) e Ijaci5 (11,16%); já em Ijaci6 e Lavras3 a frequência foi nula. A estrutura de colonização encontrada em todos os locais, exceto os de frequência nula, foi de hifas (H). Arbúsculos foram encontrados com alta porcentagem em Lavras1 (89%), seguido de Perdões1(57%) e Ijaci5(54%). Por outro lado, a frequência de outros endófitos F_{DSE} (dark septate endophytes) foi maior para Itumirim1 seguida de Perdões2, porém em Ijaci1, Ijaci3 e Lavras3 foi nula. Já a frequência de outros endófitos F_o só foi observada em quatro locais (Ijaci2, Ijaci3, Ijaci4 e Perdões1), sendo que a maior frequência foi para Ijaci4 (18) e a menor para Perdões1 (4) (Tabela 8; Figura 11)

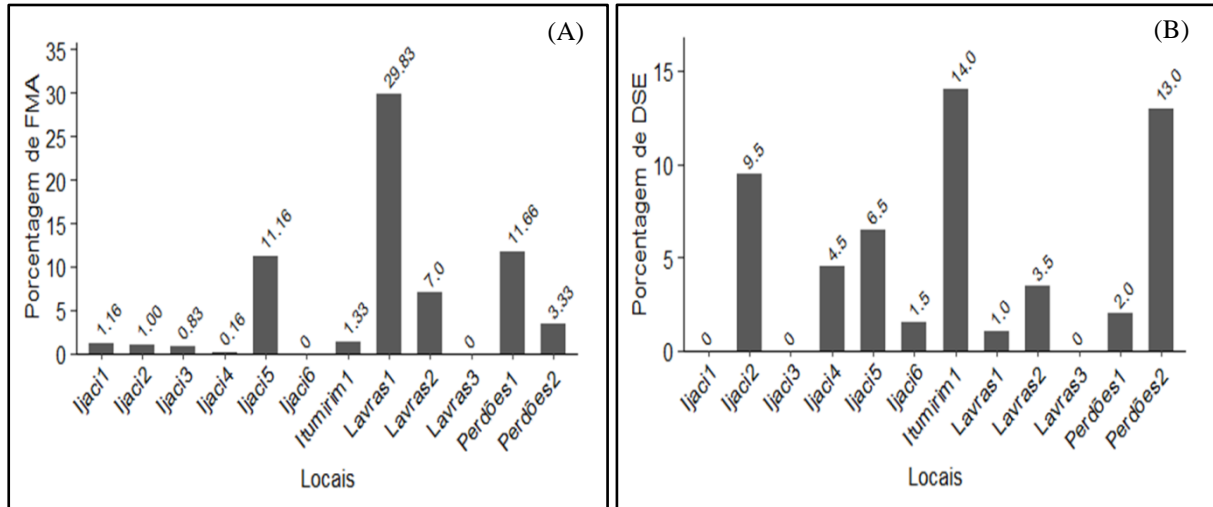
Tabela 8 - Frequência e porcentagem de colonização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e outros fungos endofíticos em raízes de OPN coletadas em doze locais no sul do estado de Minas Gerais – Brasil.

| Família | Espécie | Local | FMA | | | | | | | outros endofíticos | | | | |
|------------------|--------------------------|-----------|-------|----|---|----|----|---|----|--------------------|-----------|-----------|-------|---|
| | | | F | H | V | A | em | E | Ap | F_{DSE} | H_{DSE} | E_{DSE} | F_o | |
| <i>Cactaceae</i> | <i>Pereskia aculeata</i> | Ijaci1 | 1,16 | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | - |
| | | Ijaci2 | 1,0 | 6 | - | - | 1 | - | - | 9,5 | 18 | 1 | 1,0 | |
| | | Ijaci3 | 0,83 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 5,0 | |
| | | Ijaci4 | 0,16 | 1 | - | - | - | - | - | 4,5 | 8 | 2 | 18,0 | |
| | | Ijaci5 | 11,16 | 54 | 6 | - | - | 7 | - | 6,5 | 13 | 0 | - | |
| | | Ijaci6 | - | - | - | - | - | - | - | 1,5 | 3 | 0 | - | |
| | | Itumirim1 | 1,33 | 6 | - | 2 | - | - | - | 14,0 | 27 | 1 | - | |
| | | Lavras1 | 29,83 | 89 | 4 | 65 | 14 | 5 | 2 | 1,0 | 2 | 0 | - | |
| | | Lavras2 | 7,0 | 39 | - | - | - | 3 | - | 3,5 | 1 | 6 | - | |
| | | Lavras3 | - | - | 0 | - | - | - | - | - | - | 0 | - | |
| | | Perdões1 | 11,66 | 57 | 0 | 10 | - | 2 | 1 | 1,0 | 3 | 1 | 4,0 | |
| | | Perdões2 | 3,3 | 20 | 0 | - | - | - | - | 13,0 | 25 | 1 | - | |

Legenda: F: frequência de ocorrência (%), H: hifa, V: vesícula, A: arbúsculo, Em: enovelado, E: esporo, Ap: apresorio, F_{DSE} : fungo dark septate endophytes, H_{DSE} : hifa de DSE, E_{DSE} : esclerosio de DSE, F_o : frequência de outros endofíticos.

Fonte: Do autor (2019).

Figura 11 - Porcentagem de ocorrência de fungos micorrízicos. FMA: fungos micorrízicos arbusculares (A). DSE: dark septate endophytes (B).

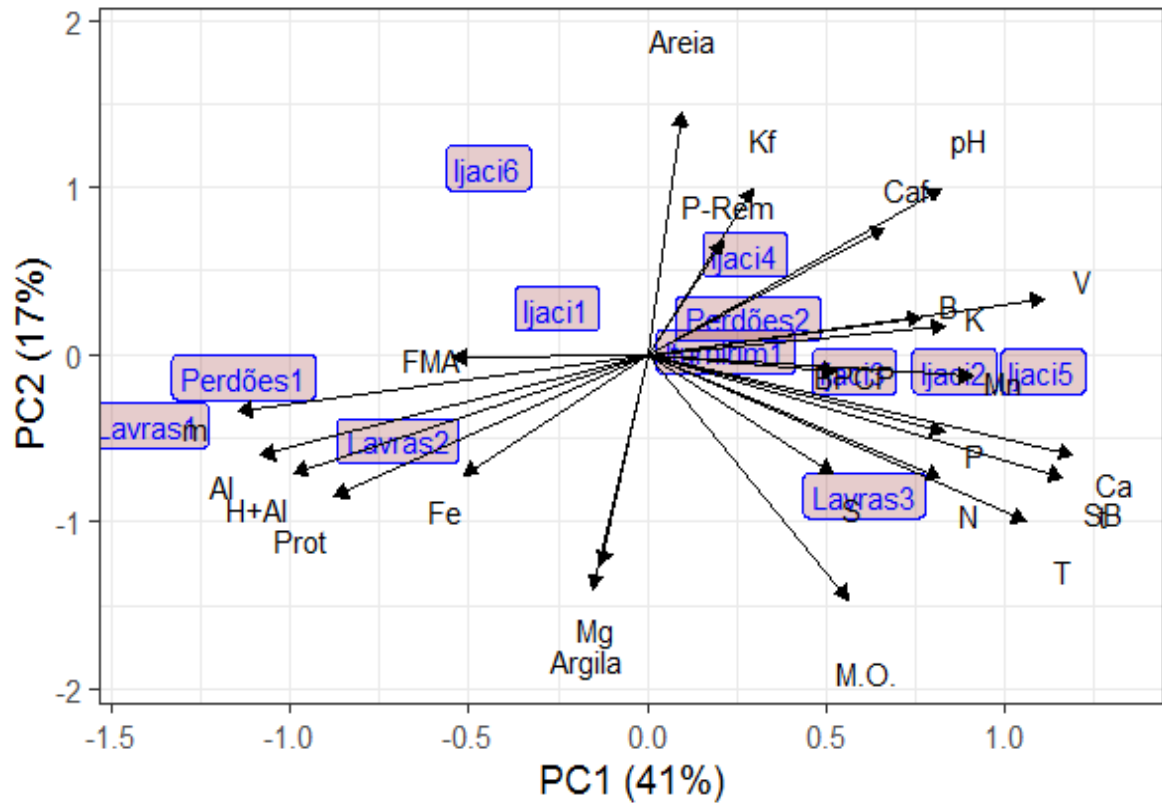


Fonte: Do autor (2019).

4.7 Relação entre atributos físicos e químicos do solo, teores de nutrientes na folha e variáveis biológicas do solo

Os resultados de análise de componentes principais entre atributos físico-químicos do solo as variáveis químicas da folha e as variáveis biológicas explicam o 59% de variância total (PC1: 41% e PC2: 18%) como se observa na figura 12. Estes resultados juntamente com a matriz de correlação e os pesos das variáveis (Tabela 9) permitiram uma melhor visualização da relação entre essas variáveis nos diferentes locais onde foram realizadas as coletas. As variáveis pH, Ca, Caf (cálcio na folha), K, B, V, , t, T, SB, Mn, tiveram maior influência no PC1 portanto encontram-se diretamente correlacionados entre si, e inversamente correlacionados com Al, H+Al, m, Proteína. As variáveis areia, Kf (potássio na folha) e P-Rem tiveram maior influência no PC2. A correlação com os componentes principais se mostram na Tabela 9. Para a variável BPCP (bactérias promotoras de crescimento de plantas), foi considerada a densidade de indivíduos isolados em cada local apresentados na Tabela 6, e para FMA (fungos micorrizicos arbusculares) foi considerada a riqueza específica de espécies por cada local como apresentado na Tabela 7.

Figura 12 - Análise de componentes principais (PCA) relacionando propriedades físicas e químicas do solo, folha e propriedades biológicas dos doze locais na cultura de OPN (*Pereskia aculeata* Mill.).



Fonte: Do autor (2019).

Tabela 9 - Autovalores de atributos físicos, químicos e biológicos de solos de diferentes locais para a espécie ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) no sul do estado de Minas Gerais.

| Variável | Correlação com os componentes principais | |
|-------------------------|--|-------------|
| | PC1 | PC2 |
| pH | 0,8206918 | 0,99053278 |
| K | 0,8339331 | 0,17221977 |
| P | 0,8313059 | -0,46202267 |
| Ca | 1,1901794 | -0,59778767 |
| Mg | -0,1290977 | -1,25837278 |
| Al | -1,0821380 | -0,60401671 |
| Acidez potencial (H+Al) | -0,9919646 | -0,70474559 |
| Soma de bases (SB) | 1,1620375 | -0,73182200 |
| CEC efetiva (t) | 1,1604420 | -0,73662036 |
| CEC a pH 7 (T) | 1,0609211 | -0,99387491 |
| Saturação por bases (V) | 1,1117406 | 0,33763784 |
| Saturação por Al (m) | -1,1464092 | -0,33619011 |
| M.O. | 0,5629693 | -1,46140960 |
| N | 0,8188123 | -0,73876048 |
| P-Rem | 0,2100001 | 0,68429111 |
| Fe | -0,5142489 | -0,71747625 |
| Mn | 0,9089701 | -0,13071020 |
| B | 0,7672981 | 0,22394023 |
| S | 0,5184483 | -0,70990171 |
| Argila | -0,1529454 | -1,40185537 |
| Areia | 0,0946418 | 1,44803559 |
| Prot. | -0,8789322 | -0,84982145 |
| Potássio na folha (Kf) | 0,2943604 | 0,99387192 |
| Cálcio na folha (Caf) | 0,6635467 | 0,75806652 |
| BPCP | 0,5294512 | -0,09617151 |
| FMA | -0,5465444 | -0,01769139 |
| | Variância explicada (%) | |
| Individual | 41,0 | 17,0 |
| Acumulada | 41,0 | 58,0 |

Legenda: M.O.: matéria orgânica, Prot: proteína, N: Nitrogênio total no solo, BPCP: Bactérias promotoras de crescimento de plantas, FMA: fungos micorrízicos arbusculares.

Fonte: Do autor (2019).

5 DISCUSSÃO

Os valores de análise foliar obtidos das plantas de OPN mostram algumas relações já relatadas na literatura para outras espécies. MALAVOLTA (2006) menciona sobre interações entre nutrientes que quando é adicionado nitrogênio ao solo os teores de cálcio na folha tendem a aumentar, exceto se há aumento acentuado na matéria seca que pode causar uma diminuição aparente. Entretanto Silva et al. (2012) menciona que as adubações com N,P e K e

N e P reduziram os teores de Ca e Na e aumentam os teores de N, P, S e Mn, nos tecidos de cladódios de *Opuntia ficus*. Por sua vez Galizzi et al. (2004) observou que a relação Ca / N nos cladódios de cactos é de 3,95 comparado aos menos de 0,5 para a maioria das fruteiras. No nosso estudo não houve adubação como nos trabalhos antes mencionados, mas o que foi verificada é a ausência dessa relação (Anexo Figura S1F), pois tanto OPN e a palma forrageira sendo ambas cactáceas diferem nos teores de nitrogênio tanto na folha em OPN como nos cladódios na palma forrageira. Segundo Santos et al. (1990) a palma forrageira tem um teor de Ca em média $23,5 \text{ g kg}^{-1}$, e 9 g kg^{-1} de N comparado aos dados encontrados em nosso estudo para OPN que foram de $42,12 \text{ g kg}^{-1}$ para o Ca e $37,4 \text{ g kg}^{-1}$ de N em média, nem tão próximo aos encontrados por Souza et al. (2016) que foi entorno de $44,9 \text{ g kg}^{-1}$ de Ca em solo sem adubação nitrogenada e $50,71 \text{ g kg}^{-1}$ de Ca em solo com níveis de adubação nitrogenada de 400 t ha^{-1} , ou como *Stenocereus queretaroensis* (PIMIENTA-BARRIOS et al., 2004) apresenta uma média de apenas 6 g kg^{-1} . Em tal sentido em nosso estudo esta relação foi $\text{Ca/N}=1,12$ o que mostra, alias que as folhas de OPN são uma fonte rica de Ca que pode ser inserido bem na dieta humana. Pimienta-Barrios et al. (2004) também relatam que os níveis da maioria dos elementos nos tecidos do caule de *S. queretaroensis* são semelhantes aos níveis em outras espécies de cactos e que o teor de nitrogênio no seu clorênquima é apenas 8 g kg^{-1} em massa seca, sendo este menor do que os de outras espécies de cactos (em média de 17 g kg^{-1}) descritas por Nobel (1983), entretanto Silva et al. (2012) relata 9 g kg^{-1} para os cladódios de *Opuntia ficus indica*. Já os níveis adequados de N nas folhas das principais culturas brasileiras (MALAVOLTA, 2006) vão desde 11 g kg^{-1} para gramíneas forrageiras, até 56 g kg^{-1} em soja. Os teores baixos de nitrogênio e micronutrientes em *S. queretaroensis*, como menciona este autor, são consistentes com a reduzida velocidade de crescimento desta planta, em contraposição de outras espécies de cactos, assim como OPN, que tem teores de macro e micronutrientes próximos aos obtidos nas principais culturas brasileiras. Assim, poderia se dizer que isto permite que a OPN tenha um crescimento um tanto mais acelerado em relação à *S. queretaroensis* e a outras espécies de cactos de crescimento lento.

Por outro lado, Malavolta (2006) menciona que há uma relação estreita entre os teores de nitrogênio e enxofre nas plantas, pois no geral elas exigem uma parte de enxofre para quinze de nitrogênio que é muito importante para a síntese de proteínas, porém essa relação pode variar em função do estágio de crescimento e da espécie. Em nosso estudo essa relação média ($\text{N/S}=12$ na folha) mostra proximidade com as relatadas por Malavolta (2006)

considerando que nem todas as plantas utilizadas em nosso estudo apresentavam o mesmo estágio de crescimento.

As análises de solos apresentadas das diferentes áreas mostram, de forma geral, boa fertilidade como sugere os dados de porcentagem de saturação por bases (V) que foi em todos os casos superior a 50%. Considera-se também que nesses solos não é realizada agricultura de forma intensiva, e por serem todos eles avaliados como oriundos de agricultura familiar, não há relatos de manejos com calagem e adubação química, sendo apenas aplicado os tratamentos culturais referentes a plantio e colheita nas pequenas hortas, com a manutenção dos restos culturais do local, sendo que em alguns deles não é realizado trabalho cultural nenhum, apenas a colheita (Tabela 2). Entretanto, vários dos resultados podem estar associados aos níveis de pH elevados, que em nove locais está acima de 6,5. Em tal sentido é importante destacar este valor, pois no caso do fósforo, com teores considerados na maioria dos casos como adequados, grande parte poderia estar sendo mascarado devido a formação de compostos insolúveis em pHs elevados, fazendo assim com que grande parte do fosforo apresentado não esteja disponível para as plantas (ALVAREZ et al., 1999). Apesar disso, não foi observado sintomas de deficiência nas plantas de OPN quando realizada a coleta. Para o caso da matéria orgânica do solo observou-se que em nove dos casos os valores são considerados de médios a bons. Porém, como se pode observar no Anexo figura S1, não existe relação entre os teores de matéria orgânica no solo com os teores de proteína na folha. Resultado similar foi encontrado entre a relação do nitrogênio total no solo e proteína na folha de OPN o qual da consistência a relação antes mencionada. Desse modo pode ser que os teores de proteína estejam associados a outros mecanismos e interações com BPCP na eficiência da fixação biológica de nitrogênio, ou FMA's na melhor exploração dos nutrientes do solo, por exemplo. Souza et al., (2016) atribuíram ao alto teor de matéria orgânica do solo que trabalhou (4 dag kg^{-1}) a falta de resposta do teor de proteína aos tratamentos com adubação nitrogenada. Porém os nossos dados sobre matéria orgânica nos diferentes solos mostraram que não houve relação da matéria orgânica do solo sobre o teor de proteína na folha sendo que os nossos dados de proteína tiveram valores próximos e superiores aos encontrados por este autor. Nesse sentido os nossos resultados obtiveram maior consistência com as análise de nitrogênio total do solo, os quais não tiveram relação como o teor de proteína nas folhas de OPN (Figura 7A). Souza et al. (2016) encontraram em média 21,8% de proteína nas folhas de OPN, e ainda, não houve diferença significativa entre os teores de proteína no tratamento controle (na dose 0 t ha^{-1}), e a dose mais alta de nitrogênio (400 t ha^{-1}), sendo assim ele conclui que a dose mais alta de nitrogênio aplicada ao solo não afetam os

níveis de nitrogênio e proteína nas folhas em *Pereskia aculeata* em solo com alto conteúdo de matéria orgânica. Apesar, de os nossos resultados mostrarem que o maior teor médio de matéria orgânica no solo e também o máximo teor de proteína na folha foram obtidos em Perdões1, esse dado se constituiu em outlier em relação aos demais dados que não mostraram relação significativa entre esses dois fatores.

Vários trabalhos registram dados de teores de nitrogênio na folha de OPN como 17,4 g 100 g⁻¹ de MS e 25,4 g 100 g⁻¹ MS em Guiricema (MG) e Viçosa (MG), respectivamente (ALMEIDA FILHO e CAMBRAIA, 1974); 25,4 g 100 g⁻¹ em Sete Lagoas (MG) e 27,4 g 100 g⁻¹ MS em Belo Horizonte (MG) (DAYRELL, 1977); 28,6 g 100 g⁻¹ MS (ALBUQUERQUE et al., 1991); 25,5 g 100 g⁻¹ MS (MERCÊ et al., 2001); 24,7 g 100 g⁻¹ MS (SILVA e PINTO), 22,9 g 100 g⁻¹ MS (ROCHA et al., 2008); 28,4 g 100 g⁻¹ MS (TAKEITI et al., 2009); 28,99 g 100 g⁻¹ MS (ALMEIDA e CORREA, 2012). Nossos resultados estiveram entre 19,68 e 28,12 g 100 g⁻¹ MS (Tabela 4), portanto estão dentro da faixa encontrada por esses vários autores. Os teores de N em OPN são bem maiores que os de outras cactáceas como *Opuntia ficus-indica*, onde foram encontrados teores de proteína em média 1.1 g 100 g⁻¹ de cladódios em massa fresca (DE SANTIAGO et al., 2018). Aliás, considerando ainda os aminoácidos essenciais encontrados em OPN, principalmente lisina (TAKEITI et al., 2009), esta espécie pode ser considerada uma importante fonte de proteína e aminoácidos.

Os teores de fósforo no solo foram relacionados com os teores de fósforo na planta (Figura 7B) onde mostra que houve relação, porém, este resultado não é consistente, pois foram devidos ao valor extremo encontrado em Ijaci5 (10,73 g kg⁻¹), onde ocorreu o maior teor de P no solo e também o valor máximo de P na folha. Possivelmente este elevado teor foi ocasionado por alguma fonte de fósforo adicionada ao solo pelo proprietário. Realmente, numa entrevista feita nove meses depois da coleta, foi informado que a área (quintal) onde a planta está instalada recebe eventualmente, além de água comum, águas de uso de lavanderia familiar, o qual poderia ter ocasionado tal alteração dos elevados teores de fósforo no solo e consequentemente na folha.

Em relação aos teores de K na folha Galizzi et al. (2004) encontraram correlação significativa entre o teor de K no cladódio e a firmeza dos frutos em *Opuntia ficus indica*. Contudo os autores destacam que o alto teor de K nos frutos indicariam que é importante prestar atenção a esse nutriente em futuros testes de campo nessa cultura. Esses resultados encontrados por eles mostram similitude com os nossos pois também encontraram relação positiva entre os teores de K no solo com os de K na folha. Importante destacar que os teores

de K na folha de OPN foram em média 37 g kg^{-1} em relação aos encontrados em *O. ficus indica* que relatam em média de $38,6 \text{ g kg}^{-1}$.

O zinco é provavelmente o micronutriente cuja deficiência é mais comum nas culturas, e dentro das suas funções na planta encontra-se a síntese de aminoácidos e proteínas. O zinco inibe a RNase e, por isso em condições de deficiência a formação de proteínas é prejudicada por falta de RNAs mensageiro e transportador. Assim, no Anexo Figura S1E, pode ser ver que não existe correlação entre os teores de zinco no solo com os teores de zinco na folha, porém, os teores encontrados na folha na metade das amostras encontram-se dentro nos níveis adequados das principais culturas brasileiras segundo Malavolta (2016), e os restantes em níveis considerados baixos. No caso do ferro os teores estão também dentro da faixa do encontrado por Souza (2016), entretanto não se encontrou relação entre os teores de ferro no solo com os teores de ferro na folha (Anexo Figura S1D).

O magnésio é ativador de muitas enzimas e formador de importantes compostos fundamentais no processo da fotossíntese (MALAVOLTA, 2006). Trabalhando em cactáceas Zegbe e Serma-Perez (2017) encontraram no cladódio de cactus pear (*Opuntia* spp.) concentração tecidual de 2,2% de magnésio quando a concentração de açúcar no fruto foi máxima ($\approx 12\%$). Já Silva et al. (2012) reporta teores de magnésio em cladódios de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em média de 1,25%. Em contraposição ao encontrado nas folhas de OPN que foi em média de 0,76%. Desse modo pode ser observar que a concentração de magnésio reportada por esses autores nessas cactáceas mostram que essas espécies concentram maiores teores desse nutriente. Entanto que os teores de magnésio encontrados em OPN estão próximos aos níveis adequados das principais culturas brasileiras mencionado por Malavolta (2006) como, por exemplo, batatinha (*Solanum tuberosum*) (0,75%).

Por outro lado, a capacidade de troca de cátions é um fator importante na fertilidade dos solos em geral, pois determina retenção e seletividade de cátions e, por sua vez, controla a maioria das outras propriedades do solo (BORTOLUZZI et al., 2006). Entretanto a matéria orgânica está em íntima relação com a CTC total (T), portanto um solo rico em matéria orgânica apresentará altos valores de T, mas, sendo ácido, poderá apresentar baixos valores de CTC efetiva (t) (RONQUIM, 2010). Desse modo em nosso estudo pode se verificar que nos valores mais altos de matéria orgânica (Ijaci5 e Lavras3 com $3,83$ e $5,92 \text{ dag kg}^{-1}$ respectivamente) se obtiveram também os valores mais altos de T que foram categorizados

como muito bons. Da mesma forma quando estes foram menores mostraram proximidade entre essas variáveis. Sob condições tropicais, as argilas possuem valores de T inferiores ao lado dos valores de T da matéria orgânica, assim, mesmo as argilas com T alto como a illita, montmorillonita e vermiculita (30-50, 80-120 e 100-150 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$) juntamente matéria orgânica (40-400 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$). Segundo Sobral et al. (2015) os valores de CTC acima de 15 evidenciam a presença de argilas do tipo 2:1 e abaixo de 5 argilas do tipo 1:1. Isto também pode se verificar em nossos resultados que no caso de Ijaci5 e Lavras3 apresentaram valores de CTC acima de 15 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$, portanto nesses solos deve ter predominado o tipo de argila 2:1, entretanto nenhum dos nossos solos apresentou valores de T abaixo de 5 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$, mostrando que deve ocorrer os dois tipos de argila em proporções não diferenciadas. Os valores de pH nos solos de nosso estudo, como já foi mencionado, estavam na maioria acima da neutralidade, assim pode se observar também proximidade dos valores de T com os de t, o que é bom indicador de que poucas cargas negativas estão sendo adsorvidas pelo cátion H^+ , dado em acordo com o apontado por Ronquim (2010) pois o pH dos nossos solos não são ácidos. Assim também a porcentagem de saturação por alumínio e teor de alumínio mostra valores muito baixos em todos os nossos solos. A fertilidade dos nossos solos no geral é boa não sendo necessária a calagem por terem um porcentagem de saturação de bases acima do 60% .

Estirpes de diversas espécies de BPCP (incluindo *Azospirillum* spp.) e de outras espécies de bactérias ainda não relatadas como BPCP foram isoladas. O meio utilizado NFb modificado mostrou alta performance no processo de enriquecimento das bactérias diazotróficas o que favoreceu a obtenção de um grande número de isolados. Este meio, modificado do NFb original, utiliza como fontes de carbono 0.5 g de cada: sacarose, manitol e ácido málico (MAGALHÃES, 1981), ou seja, mais de uma única fonte de carbono que é geralmente utilizada nos meios de cultura como se mostra no Anexo Tabela S1. Isto favorece o crescimento de maior diversidade de espécies bacterianas quanto ao seu requerimento nutricional.

Dentro das BPCP, o gênero *Azospirillum*, foi predominante em todos os locais do estudo. Este grupo de BPCP é encontrado em quase todos os lugares da terra colonizando muitas espécies de plantas (CASSAM; DIAZ-ZORITA, 2016). Sabe-se também que as BPCP tem a capacidade de produzir reguladores de crescimento de plantas como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico, óxido nítrico e poliaminas (RIVERA et al. 2015), ácido indol-3-acético (IAA), e pode aumentar a absorção mineral, o estado hídrico e o

crescimento das plantas (BASHAN et al., 2004). *Azospirillum brasilense* é atualmente a espécie mais utilizada como inoculante para melhorar o rendimento de plantas em condições de campo (AYYAZ et al., 2016). Os valores de pH no solo não parecem ter influenciado a ocorrência de bactérias do gênero *Azospirillum* pois tanto em pH próximos a neutralidade como os alcalinos elas foram encontradas. A ocorrência de *Azospirillum brasilense* em todas as amostras pode indicar maior abundância desta espécie em relação a outras populações de bactérias diazotróficas, e um possível efeito positivo nos teores de proteína nas folhas de OPN, o que deve ser pesquisado em estudos posteriores a este trabalho.

Azospirillum agrícola, outra espécie de ocorrência no nosso estudo, foi do mesmo modo isolada por Lin et al. (2016) em solo cultivado em Taiwan. Estes autores relatam que todas as amostras pesquisadas registraram esta espécie a qual mostrou maior similaridade com *Azospirillum doebereineriae* (98,0%), *Azospirillum thiophilum* (97,5%), *Azospirillum rugosum* (97,4%) e *Azospirillum zea* (97,2%), porém, ainda não foram desenvolvidos estudos sobre a eficiência desta espécie na promoção de crescimento vegetal. Outras espécies encontradas como *Azohydromonas australica* são reportadas como bactérias fixadoras de nitrogênio (NGUYEN; KIM, 2017), mas existem estudos sobre a utilização desta espécie no processo de fabricação de plástico sintético biodegradável (SHARMA; MISRA; KUMAR, 2017). No caso da bactéria *Pseudoacidovorax sp.* houve alta similaridade com *Pseudoacidovorax intermedius* que também é uma bactéria fixadora de nitrogênio isolada do solo (KAMPFER et al., 2008). Sobre estas três últimas espécies mencionadas, como fixadoras de nitrogênio, poucos estudos têm sido realizados (Anexo Figura S2).

Bacilio et al. (2006) conseguiu isolar a estirpe de *Azospirillum brasilense* CD de mudas do cacto *Pachyramphos pringlei* 18 meses após terem sido inoculadas com essa mesma estirpe. Esses autores encontraram efeito positivo no crescimento do cacto devido a inoculação. Já Puente et al. (2004a) relata que nos desertos, a população de microorganismos nos rizoplanos de cactos que habitam a rocha contém muitas características de promoção do crescimento das plantas, como a capacidade de dissolver os minerais, fixar o nitrogênio e promover o crescimento das plantas. Portanto, os teores de proteína nas folhas de OPN, podem estar sendo influenciadas não só com os fixadores de nitrogênio BPCP, senão também pela contribuição de outras espécies de bactérias endofíticas realizando outros processos. Puente, et al, (2009) reporta em seu experimento ter trabalhado com seis espécies de bactérias endofíticas (*Klebsiella sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus sp.* no desenvolvimento do cactos *Pachyramphos pringlei* cultivado em vaso

durante um ano crescendo em substrato de rocha vulcânica e perlita, onde também utilizaram as BPCP *Azospirillum brasilense* CD e *Pseudomonas putida* R-20 como controles positivos. Esses autores indicam que as bactérias endofíticas foram essenciais para o desenvolvimento de mudas do cacto em substratos e promoveram o crescimento de cacto em ambientes sem solo. Sendo assim, a bactérias endofíticas do solo poderiam estar exercendo um papel importante na nutrição da planta, ou talvez interagindo entre eles através de mecanismos em favor da nutrição da OPN, como no alto teor de proteína nas folhas.

Demonstrou-se também que *Pereskia aculeata* é uma espécie que pode estabelecer associação com FMAs. Essa é uma informação importante, considerando-se que a família Cactaceae contém espécies micotróficas (ALLEN et al., 1998; MILLER, 1979) ou não micotróficas (ABRAHÃO et al., 2014).

Colonização micorrízica arbuscular já foi relatada em cactáceas das subfamílias Cactoidea, nos gêneros *Echinocactus* (BETHLENFALVAYS; DAKESSIAN; PACOVSKY, 1984) *Pachycereus* (RINCÓN; HUANTE; RAMÍREZ, 1993), *Pilosocereus* (SOUZA et al., 2003) *Selenicereus* (MULLER; DEXHEIMER; GÉRARD, 1994) e *Stenocereus* (PIMIENTA-BARRIOS ET AL., 2002a; PIMIENTA-BARRIOS; NOBEL, 1998) e Opuntioidea no gênero *Opuntia* (ALLEN et al, 1998; BETHLENFALVAYS; DAKESSIAN; PACOVSKY, 1984; MILLER., 1979; SOUZA et al., 2003; SOUZA et al., 2013; WHITCOMB., 2000), entretanto o status micorrízico de plantas da subfamília Pereskioidea era desconhecido.

Comunidades de FMAs taxonomicamente complexas foram relatadas em rizosferas de outra espécie da família Cactaceae, *Stenocereus querataroensis* (Weber) Buxbaum, com maior frequência de ocorrência de fungos da família Glomeraceae, e presença de representantes das famílias Acaulosporaceae, Diversisporaceae e Gigasporaceae (PIMIENTA-BARRIOS et al.,2002a). Glomeraceae também foi à família com maior riqueza específica em plantios *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. na Região Nordeste do Brasil (SOUZA et al., 2013). A grande riqueza de espécies de Glomeraceae em rizosferas de Cactaceae pode ser explicada por essa ser a família com maior número de espécies descritas em Glomeromycota, muitas das quais com distribuição cosmopolita (STÜRMER; BEVER; MORTON, 2018). Em alguns ecossistemas, a maior riqueza específica de Glomeraceae pode ser atribuída ao pH mais próximo à neutralidade (SIQUEIRA et al., 1989). Sabe-se que o pH do solo pode influenciar na composição de comunidades de FMAs, pois, pode influenciar processos fisiológicos importantes do ciclo de vida dos FMAs, como por exemplo a germinação (GIOVANNETTI, 1983; HERPER, 1984; SIQUEIRA et al., 1984).

A maioria das espécies de FMAs dominantes nas rizosferas de *Pereskia aculeata* (Anexo Figura S3) é cosmopolita, por exemplo, *Funneliformis mosseae* (ROSENDAHL; MCGEE; MORTON, 2009; STÜRMER; BEVER; MORTON, 2018), *Septoglomus constrictum* (ÖPIK et al., 2010; STÜRMER; BEVER; MORTON, 2018) e *Acaulospora scrobiculata* *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus intraradices* e *Sclerocystis sinuosa* (STÜRMER; BEVER; MORTON, 2018). Em levantamento da frequência de ocorrência de espécies de FMAs em ecossistemas brasileiros, Stürmer e Siqueira (2006) demonstraram que *Acaulospora scrobiculata* também foi o FMA mais frequente, enquanto que *Claroideoglomus etunicatum* também esteve entre os mais comuns. Outra espécie que foi dominante no presente estudo, *Glomus* sp1, corresponde às morfoespécies *Glomus* sp2 e *Glomus* sp1 dos levantamentos conduzidos por Teixeira et al. (2017) e Vieira et al. (2017).

Dentre as espécies de FMAs ocorrentes em rizosferas de *Pereskia aculeata*, *Funneliformis mosseae* (= *Glomus mosseae*) é comumente encontrada em áreas agrícolas (ROSENDAHL; MCGEE; MORTON, 2009) e de ocorrência relatada em plantios *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. na Região Nordeste do Brasil (SOUZA et al., 2013), e em rizosferas de *Echinocactus* e *Opuntia* em ambiente natural nos Estados Unidos da América (BETHLENFALVAYS; DAKESSIAN; PACOVSKY, 1984). *Rhizophagus intraradices* e *Claroideoglomus etunicatum* também já foram relatados em plantios de *Opuntia ficus-indica* (SOUZA et al., 2013).

No estudo do manejo das populações nativas de FMA é importante a caracterização das espécies e sua dinâmica de ocorrência, bem como a determinação do potencial de inóculo e colonização radicular, para o entendimento de seu comportamento no solo e a determinação da sua eficiência simbiótica (CARRENHO et al., 2010). As diversas assembleias de espécies de FMAs encontradas no solo e a baixa especificidade da simbiose formada por elas implicam que um único sistema radicular pode ser colonizado por vários fungos diferentes (SMITH; READ, 2008). Embora não pareça haver alta especificidade entre os FMAs e seus hospedeiros, ocorre uma grande diferenciação entre os níveis de eficiência dos diferentes FMA em um determinado hospedeiro (RAMOS; MARTINS, 2010).

Na rizosfera de *Pereskia aculeata* encontrou-se picnídios de *Phoma* sp., gênero fúngico pertencente à Ordem Pleosporales, reconhecida por conter espécies entre os fungos DSEs (JUMPPONEN; TRAPPE, 1998a). O gênero *Phoma* já foi amostrado como endófito de caules de cactáceas (SURYANARAYANAN; WITTLINGER; FAETH, 2005). Os DSEs representam um grupo taxonomicamente e ecologicamente diverso de fungos, e suas

interações com plantas podem ser de parasitas a simbióticas, dependendo de espécies de fungos, plantas hospedeiras e condições ambientais (JUMPPONEN, 2001).

Analisando os autovalores pode se observar que as variáveis pH, Caf, V, B, K, Mn, P, Ca, SB, T, t e N influenciaram fortemente na componente PC1, podendo se inferir que estes resultados mostram que estas variáveis tenham a ver com o teor de cálcio na folha de OPN, entretanto observa-se que o ângulo de separação entre o pH e Caf é bem estreito mostrando a forte correlação entre estas duas variáveis. Pode se concluir que o Caf nessas condições de pH em OPN mostrou altos teores comparado com os níveis adequados sugeridos para as principais culturas no Brasil por Malavolta (2006). Pode se observar também a esquerda do diagrama uma forte tendência de agrupamento das variáveis m, H+Al, Al e Prot influenciaram fortemente (negativo) mostrando que nessas condições encontradas nos solos estudados não apresentaram acidez, entretanto os teores de proteína na folha se mantiveram em níveis relacionados por outros autores. Já na componente PC2 pode se observar que as variáveis Areia, Kf e P-Rem influenciaram de tal maneira que tendem a se agrupar no sentido positivo do diagrama, entanto que Kf e P-Rem observa-se que mostram uma forte correlação. No sentido oposto pode se observar (abaixo do diagrama) que os teores de argila estão intimamente correlacionados com os teores de magnésio do solo.

Considerações finais

Os teores de nutrientes em OPN comparados com outras espécies de cactáceas não estão necessariamente relacionados. Provavelmente pelo fato de OPN ter folhas verdadeiras e suculentas com capacidade de concentrar altos teores de nitrogênio em comparação a outras espécies de cactos comuns, desse modo permitindo que a espécie tenha um desenvolvimento mais acelerado do que outras cactáceas, o que foi demonstrado com os resultados obtidos mesmo em plantas com diferentes estágios de desenvolvimento. Contudo OPN possui características próprias das cactáceas como a resistência a seca, rusticidade e pouca ou nenhuma incidência de ataque de pragas e doenças, sendo assim, estes atributos e vantagens podem ser mais bem explorados em benefício do ser humano. Nesse sentido, é preciso realizar mais estudos sobre os mecanismos que envolvem o sucesso da nutrição mineral desta espécie que a fazem uma excelente fonte de proteína. O importante papel que desempenham os micro-organismos promotores de crescimento vegetal no solo deve ser levado em consideração nesta procura.

6 CONCLUSÕES

- a) O alto teor de proteína nas folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) não está relacionado com a matéria orgânica e nem com o teor de N no solo.
- b) Demonstrou-se a ocorrência e diversidade de BPCP e FMAs na rizosfera de raízes de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.).
- c) *Azospirillum* foi o gênero de bactérias diazotróficas predominante nas raízes e na rizosfera de ora-pro-nobis.
- d) *Glomeraceace* foi a família de fungos micorrízicos arbusculares predominante na rizosfera de ora-pro-nobis.
- e) Estudos futuros sobre eficiência destas espécies no desenvolvimento de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) são sugeridos.

REFERENCIAS

- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTRY. Cereal laboratory methods. St. Paul, 1962. v.4
- ABRAHÃO, A.; LAMBERS, H.; SAWAYA, A. C. H. F.; MAZZAFERA, P.; OLIVEIRA, R. S. Convergence of a specialized root trait in plants from nutrient-impooverished soils: phosphorus-acquisition strategy in a nonmycorrhizal cactus. **Oecologia**, v. 176, n. 2, p. 345-355, 2014.
- ACCORSI, W. ; DOSOUTO, R. Ladainha Comestível. **Revista Globo Rural**, São Paulo, SP, v. 244, p. 2, 2006.
- ACHARYA, T. et al. June 2014. Assessing Sustainable Nutrition Security: The Role of Food Systems. ILSI Research Foundation, **Center for Integrated Modeling of Sustainable Agriculture and Nutrition Security**. Washington, DC.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; WONDRACECK, D.C.; ROCHA, W.S.; SILVA, D.B.. Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 234-238, 2012.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; PESSOA, G. K. A.; SILVA, D. B.; GOMES, I. S.; SILVA, J. P. (2014). Carotenoid composition of berries and leaves from *Cactaceae - Pereskia* sp.. **Journal of Functional Foods**. 11, 178- 465 184.
- ALBUQUERQUE, M. G. P. T.; SABAA-SRUR, A. U. O.; FREIMAN, L. O. Composição centesimal e escore de amino-ácidos em três espécies de ora-pronobis (*Pereskia aculeata* Mill., *P. bleu* De Candolle e *P. pereskia* (L) Karsten). **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 7-12, 1991.
- ALLEN, E. B.; RINCON, E.; ALLEN, M. F.; PÉREZ-JIMENEZ, A.; HUANTE, P. Disturbance and Seasonal Dynamics of Mycorrhizae in a Tropical Deciduous Forest in Mexico 1. **Biotropica**, v. 30, n. 2, p. 261-274, 1998.
- ALMEIDA FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do "Ora-Pro-Nobis". (*Pereskia aculeata* Mill.). **Revista Ceres**, v. 21 n. 114, p. 105-11, 1974.
- ALMEIDA, M.E.F.; CORREA, A.D. (2012) Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Cienc Rural** 42:751–756
- ALVAREZ; V.V.H.; NOVAES, R.F.; BARROS, N.F.; CANTARUTTI, R.B.; LOPES, A.S. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: Ribeiro AC, Guimaraes PTG, Alvarez VVH, editores. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 1999, p. 25-32.
- AMARAL, T. N.; JUNQUEIRA, L. A.; PRADO, M. E. T.; CIRILLO, M. A.; DE ABREU, L. R.; COSTA, F. F.; DE RESENDE, J. V. (2018). Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage,

guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, 79, 331–342. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.01.009

AYYAZ, K; ZAHEER, A; RAUL, G; MIRZA, M.S. (2016) Isolation and identification by 16S rRNA sequence analysis of plant growth-promoting *Azospirilla* from the rhizosphere of wheat. **Braz J Microbiol** 47:542–550

AZEREDO, H.M.C. (2009) Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. **Int. J. Food Sci. Technol.** 44, 2365–2376

BACILIO, M.; HERNANDEZ, J.P.; BASHAN, Y. Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Biol. Fertil. Soils**, 43 (2006), pp. 112-119

BARBALHO, S.M.; GUIGUER, E.L.; MARINELLI, P.S.; DO SANTOS BUENO, P.C.; PESPININI-SALZEDAS, L.M.; SANTOS, M.C.B.; OSHIWA, M.; MENDES, C.G.; DE MENEZES, M.L.; NICOLAU, C.C.T.; OTOBONI, A.M.; DE ALVARES, G.R. *Pereskia aculeata* Miller Flour: metabolic effects and composition. **Journal of Medicinal Food**, New York, v.19, n.9, p.890-894, 2016

BARBOSA, C. K. R.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. Handling and postharvest shelf life of ora-pro-nobis leaves. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Londrina-PR, v. 37, n. 3, p. 307-311, 2015.

BARDGETT, R. D.; FREEMAN, C.; OSTLE, N.J. 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. **Isme Journal** 2:805-814.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Can. J. Microbiol.** 50, 521-577.

BETHLENFALVAY, G. J.; DAKESSIAN, S.; PACOVSKY, R. S. Mycorrhizae in a southern California desert: ecological implications. **Canadian Journal of Botany**, v. 62, n. 3, p. 519-524, 1984.

BŁASZKOWSKI, J. Glomeromycota. Kraków, Poland: W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de hortaliças não-convencionais. Brasília, DF: **MAPA**, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Alimentos regionais brasileiros**. 2. ed. Brasília, 2015. 484 p.

BORTOLUZZI, E. C.; TESSIER, D.; RHEINHEIMER, D. S.; JULIEN, J. L. (2006). The cation exchange capacity of a sandy soil in southern Brazil: an estimation of permanent and pH-dependent charges. **European Journal of Soil Science**, 57(3), 356–364. doi:10.1111/j.1365-2389.2005.00746.x

BUTTERWORTH, C. A.; WALLACE, R.S. 2005. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). **Systematic Botany** 30:800–808.

CAMBRAIA, J. Valor nutricional do ora-pro-nóbis. Viçosa, MG: UFV, 1980. 3 p. (**Informe Técnico**).

CAMPBELL, P.L. Seed germination of *Harrisia martinii* and *Pereskia aculeata* with reference to their potential spread in Natal (South Africa). **Appl. Plant Sci.**, Belfast, v. 2, n. 2, p. 60-62, 1988

CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J. O.; de SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Eds.) **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Ed. UFLA, p. 215-249, 2010.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: from the laboratory to the field **Soil Biol. Biochem.**, 103 (2016), pp. 117-130

DAY, L. (2013). Proteins from land plants - Potential resources for human nutrition and food security. **Trends in Food Science and Technology**, 32(1), 25–42.

DAYRELL, M. S. Extração e estudo do valor nutritivo de proteínas de folhas de ora pro nobis (*Pereskia aculeata* Mill). 1977. 106 f. **Tese** (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1977.

DE SANTIAGO, E.; DOMINGUEZ-FERNANDEZ, M.; CID, C.; DE PEÑA, M.P. Impact of cooking process on nutritional composition and antioxidants of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chem.** 2018, 240, 1055–1062.

DIAS, A.C.P.; PINTO, N.A.V.D.; YAMADA, L.T.P.; MENDES, K.L.; FERNANDES, A.G. Avaliação do consumo de hortaliças não convencionais pelos usuários das Unidades do Programa Saúde da Família (PSF) de Diamantina – MG. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.3, p.279-284, 2005. Disponível em: Acesso em: 12 dez. 2011.

DÖBEREINER, J; DAY, J.M. (1975) Nitrogen fixation in the rhizosphere of tropical grasses. In Nitrogen Fixation by Free-living Micro-organisms. IBP 6, Ed. W D P Stewart, pp 39–56. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

DÖBEREINER, J. (1992) History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis** 13:1–13

DÖBEREINER, J.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas. Brasília, **Embrapa-SPI**. Itáguai, Embrapa CNPAB, 1995. 60p

DUARTE, M. R.; HAYASHI, S. S. Estudo anatômico de folha e ramo de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 103-109, 2005.

- EDWARDS, E.J.; DONOGHUE, M.J. (2006). *Pereskia* and the origin of the cactus life form. **Am. Nat.**, 167, 777–793.
- EDWARDS, E.J.; DIAZ, M. (2006) Ecological physiology of *Pereskia guamacho*, a cactus with leaves. **Plant Cell Environ** 29:247–256
- EDWARDS, E.J.; NYFFELER, R.; DONAGHUE, M.J. (2005) Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. **Am J Bot** 92(7):1177–1188
- ELMERICH, C.; NEWTON, W.E. (2007) Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations. Springer, **The Netherlands**
- FANIN, N.; FROMIN, N.; BUATOIS, B.; HATTENSCHWILER, S. 2013. An experimental test of the hypothesis of non-homeostatic consumer stoichiometry in a plant litter microbe system. **Ecology Letters** 16:764-772.
- FAO/WHO. 1990. Protein quality evaluation. In: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. p 23.
- FAO/WHO. 2011. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO expert consultation; 2011 Mar 31–Apr 2; Auckland, New Zealand. Rome (Italy):**Food and Agriculture Organization of the United Nations**;2013.
- FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, 8 (2018), p. 73, [10.1186/s13568-018-0608-1](https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1)
- GALIZZI, F. A.; FELLER, P.; GONZALEZ, C.; GARDINER, D. (2004). Correlations between soil and cladode nutrient concentrations and fruit yield and quality in cactus pears, *Opuntia ficus indica* in a traditional farm setting in Argentina. **Journal of Arid Environments**, 59(1), 115–132.doi:10.1016/j.jaridenv.2004.01.015
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M. Establishment and growth effects of *Glomus mosseae* on the legume *Hedysarum coronarium* L. growing in poor alkaline soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 15, p. 385-387, 1983.
- GRIME, P.J., 2001. Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties. **West Sussex, Wiley**, England, 417pp.
- GUIMARÃES, S.L.; BOMFIM-SILVA, E.M.; POLIZEL, A.C.; MOREIRA, J.C.F.; REZENDE, D. Crescimento inicial de plantas de arroz inoculadas com *azospirillum spp.* Rev. Acad., **Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 11, Supl. 2, p. S45-S50, 2013
- GYANESHWAR, P.; JAMES, E.K.; REDDY, P.M.; LADHA, J.K. *Herbaspirillum* colonization increases growth and nitrogen accumulation in aluminum tolerant rice varieties. **New Phytologist**, v.154, p.131-146, 2002.

- HEDIN, L. O.; BROOKSHIRE, E. N. J.; MENGE, D. N. L.; BARRON, A. R. 2009. The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics** 40:613–635.
- HERPER, C.M. 1984. Regulation of spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora laevis* by soil pH. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 80, p. 487-490, 1984.
- HOLDRIDGE, L. R. 1967. Life zone ecology. **Rev. ed. Tropical Science Center**, San Jose, Costa Rica.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. 1997a. Importância do sistema de semeadura direta na população microbiana do solo. **EMBRAPA-CNPSO**, Londrina/Brazil, pp. 1–9 (Comunicado Técnico 56).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, n. 1-2, p.413-425, 2010.
- HUSS-DANELL, K. (1997) Actinorhizal symbioses and their N₂ fixation. **New Phytol** 136:375–405 doi:10.1046/j.1469- 8137.1997.00755.x
- JANOS, D. P. Mycorrhizas, succession, and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. In: FRANKLAND, J. C.; MAGAN, N.; GADD, G. M. (Ed.). **Fungi and environmental change**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996, p. 129-162.
- JENKINS W, R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48. p. 692, 1964.
- JESKE, S.; ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. (2018). Past, present and future: The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials. **Food Research International**, 110, 42–51. doi:10.1016/j.foodres.2017.03.045
- JESWANI, H. K.; BURKINSHAW, R.; AZAPAGIC, A. (2015). Environmental sustainability issues in the food – energy – water nexus : Breakfast cereals and snacks. **Sustainable Production and Consumption**, 2 (August), 17–28.
- JUMPPONEN, A.; TRAPPE, J.M. (1998a) Dark-septate root endophytes: a review with special reference to facultative biotrophic symbiosis. **New Phytol** 140:295–310
- JUMPPONEN; A. Dark septate endophytes–are they mycorrhizal?. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 4, p. 207-211, 2001.
- KAMPFER, P; THUMMES, K; CHU, H.I.; TAN, C.C.; ARUN, A.B.; CHEN, W.M.; LAI, W.A.; SHEN, F.T., REKHA, P.D.; YOUNG, C.C. (2008) *Pseudacidovorax intermedius* gen. nov., sp. nov., a novel nitrogen-fixing betaproteobacterium isolated from soil. **Int J Syst Evol Microbiol** 58:491–495. doi: [10.1099/ijs.0.65175-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.65175-0)

KASPARI, M; POWERS, J.S. 2016. Biogeochemistry and Geographical Ecology: Embracing All Twenty-Five Elements Required to Build Organisms. **The American Naturalist** 0:S000-S000.

KEPPLE A.W.; SEGGAL-CORRÊA, A.M. Conceituando e medindo a segurança alimentar e nutricional. **Cienc Saude Coletiva**. 2011;16(1): 187–96.

KINUPP, V. F. Plantas alimentícias alternativas no Brasil: uma fonte complementar de alimento e renda. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 333-336, nov. 2006.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 846-857, 2008.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research** v. 92, n. 4, p. 486-489, 1989.

KOSKE, R. E.; TRESSIER, B. A convenient, permanent slide mounting medium. **Mycological Society of America Newsletter**, v. 34, p. 59, 1983.

LAGE, D.D.A.; TIRADO, M.D.S, VANICORE, S.R.; SABINO, K.C.D.C. (2015) Production of betalains from callus and cell suspension cultures of *Pereskia aculeata* Miller, an unconventional leafy vegetable. **Plant Cell Tissue Organ Cult** 122:341–350

LAGO, A.M.T.; NEVES, I.C.O; OLIVEIRA, N.L.; BOTREL, D.A.; MINIM, L.A.; RESENDE, J.V. Ultrasound-assisted oil-in-water nanoemulsion produced from *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Ultrasonics – Sonochemistry**. p: 339-353. 2018.

LANA, M.C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J.E. Inoculação com *Azospirillum*, associada à adubação nitrogenada, na cultura do milho - **Ceres**, 2015 - ceres.ufv.br

LANGE, A.; MOREIRA, F.M.A. 2001. Detecção de *Azospirillum amazonense* em raízes e rizosfera de Orchidaceae e de outras famílias vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 26: 535-543.

LIN, S.Y.; LIU, Y.C.; HAMEED, A; HSU, Y.H.; HUANG, H.I. et al. *Azospirillum agricola* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from cultivated soil. **Int J Syst Evol Microbiol** 2016;66:1453–1458.

LOPEZ-LOZANO, N.E.; CARCAMO-MONTIEL, M.G.; BASHAN, Y. “Using native trees and cacti to improve soil potential nitrogen fixation during long-term restoration of arid lands.”. **Plant and Soil**, 2016.

MADEIRA, N.R.; AMARO, G.B.; MELO, R.A.C.; BOTREL, N; ROCHINSKI, E. Cultivo de Ora-pro-nóbis (*Pereskia*) em plantio adensado sob manejo de colheitas sucessivas. Edição: 2016. Fonte/Imprensa: Brasília, DF: **Embrapa Hortaliças**, 2016.

MAGALHÃES, F.M.M. Nitrogen fixing bacteria isolated from diverse soils and grass roots in Amazônia. In: **VOSE, P. & RUSCHEL, A.P.**, eds. Associative N₂ - Fixation. New York, CRC Press, 1981. p.39-48.

MAGALHÃES, F.M.M. Caracterização e distribuição de uma nova espécie de bactéria fixadora de nitrogênio. Manaus, **Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas/FUA**, 1983. 89p. (Tese de Mestrado)

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2006.

MARTIN, A. A.; DE FREITAS, R. A.; SASSAKI, G. L.; EVANGELISTA, P. H. L.; SIERAKOWSKI, M. R. (2017). Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. **Food Hydrocolloids**, 70, 20–28. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.03.020

MARTIN, C. E.; WALLACE, R.S. 2000. Photosynthetic pathway variation in leafy members of two subfamilies of the Cactaceae. **International Journal of Plant Sciences** 161: 639–650.

MARTINELLI, L. A., Os caminhos do nitrogênio - do fertilizante ao poluente, **Informações agronômicas**, numero 118 junho de 2007.

MARUZZELLA, J. C.; MARX, H. 1964. Antimicrobial activity of desert plants. **Nature**, 202, 825826. MATHES, M. C. 1963

MAUSETH, J. D.; LANDRUM, J.V. 1997. Relictual vegetative anatomical characters in Cactaceae: the genus *Pereskia*. **Journal of Plant Research** 110:55–64.

MEEKS, J.C.; ELHAI, J. (2002) Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant associated symbiotic growth states. **Microbiol Mol Biol Rev** 66:94–121 doi:10.1128/MMBR.66.1.94-121.2002

MERCÊ, A. L.; LANDALUZE, J. S.; MANGRICH, A. S.; SZPOGANICZ, B.; SIERAKOWSKI, M. R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺ e Ni²⁺. **Bioresource Technology**, v. 76, n. 1, p. 29-37, 2001.

MILLER, R. M. Some occurrences of vesicular–arbuscular mycorrhiza in natural and disturbed ecosystems of the Red Desert. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 6, p. 619-623, 1979.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras. 2006. 729p.

MULLER, F.; DEXHEIMER, J.; GÉRARD, J. Etude du statut mycorrhizien de quelques plantes de serre. **Acta botanica gallica**, v. 141, n. 4, p. 565-569, 1994.

NGUYEN, T. M.; KIM, J. (2017). *Azohydromonas riparia* sp. nov. and *Azohydromonas ureilytica* sp. nov. isolated from a riverside soil in South Korea. **Journal of Microbiology**, 55(5), 330–336. doi:10.1007/s12275-017-6519-z

- NIEMANN, S.; PUEHLER, A.; TICHY, H.V.; SIMON, R.; SELBITSHKA, W. Evaluation of the resolving power of three different DNA fingerprinting methods to discriminate among isolates of a natural *Rhizobium meliloti* population. **Journal of Applied Microbiology**. 1997; 82:477-484. doi:10.1046/j.1365-2672.1997.00141.x
- NIERENBERG, D. (2011). Innovations that ensure food security. China Daily, Friday May 2011, p.9.
- NOBEL, P. S. 1998. Los Incomparables Agaves y Cactus. Editorial Trillas, Mexico City.
- NOBEL, P. S. 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press, New York.
- NOBEL, P.S. 1983. Nutrient levels in cacti—relation to nocturnal acid accumulation and growth. **American Journal of Botany** 70, 1244–1253.
- NOBEL, P.S.; PIMIENITA-BARRIOS, E.; ZANCUDO-HERNANDEZ, J.; RAMIREZ-HERNANDEZ, B.C., 2002. Historical aspects and net CO₂ uptake for cultivated Crassulacean acid metabolism plants in Mexico. **Annals of Applied Biology** 140 (2), 47–53.
- OFFICE FOR INTERDISCIPLINARY EARTH STUDIES (OIES), 1999. Arid Ecosystems Interactions. Boulder, CO, USA: Report **OIES** 6, 81pp.
- ÖPIK, M.; VANATOA, A.; VANATOA, E.; MOORA, M.; DAVISON, J.; KALWIJ, J. M.; REIER, Ü.; ZOBEL, M. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **New Phytologist**, v. 188, n. 1, p. 223-241, 2010.
- PATERSON, I.D.; VITORINO, M.D.; DE CRISTO, S.C.; MARTIN, G.D.; HILL, M.P. 2014, 'Prioritisation of potential agents for the biological control of the invasive alien weed, *Pereskia aculeata* (Cactaceae), in South Africa', **Biocontrol Science and Technology** 24, 407-425.
- PEREG, L.; LUZ, E.; BASHAN, Y. (2016) Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant Soil** 399:389–414. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2778-9>
- PIERONI, A.; HOULIHAN, L.; ANSARI, N.; HUSSAIN, B.; ASLAM, S. 2007. Medicinal perceptions of vegetables traditionally consumed by south-Asian migrants living in Bradford, Northern England. **J. Ethnopharm.**, 113: 100-110.
- PIMIENITA-BARRIOS, E.; NOBEL, P. S. (2004). Ecophysiology of the pitayo de Queretaro (*Stenocereus queretaroensis*). **Journal of Arid Environments**, **59**, 1-17.
- PIMIENITA-BARRIOS, E.; NOBEL, P. S. Vegetative, reproductive, and physiological adaptations to aridity of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). **Economic Botany**, v. 52, n. 4, p. 401, 1998.
- PIMIENITA-BARRIOS, E.; SALAS-GALVAN, M.E.; ZANCUDO-HERNANDEZ, J.; NOBEL, P.S. 2002a. Growth and reproductive characteristics of the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis* and their relationships with environmental factors and colonization by arbuscular mycorrhizae. **Tree Physiology** 22, 667–674.

PINTO, N.C.C.; DUQUE, A.P.N.; PACHECO, R.P.; MENDES, R.F.; MOTTA, E.V.S.; BELLOZI, P.M.Q.; SALVADOR, M.J. *Pereskia aculeata*: a plant food with antinociceptive activity. **Pharm. Biol.**, 18 (2015), pp. 1-6

POSTGATE J. (1981) Microbiology of the free-living nitrogen fixing bacteria, excluding cyanobacteria. In: Gibson AH, Newton WE (eds) Current perspectives in nitrogen fixation. **Elsevier/North-Holland Biomedical**, Amsterdam, pp 217–228

PUENTE, M.E.; Li, C.Y.; BASHAN, Y: Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environ Exp Bot* .2009, 66: 402-408.
10.1016/j.envexpbot.2009.04.007

PUENTE, M.E.; BASHAN, Y.; LI, C.Y.; LEBSKY, V.K. 2004a. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks. **Plant Biol**. 6, 629–642.

QUEIROZ, C.R.A.A; ANDRADE, R. R.; MORAIS, S.A. L.; PAVANI, L. C. 2015. Growing *Pereskia aculeata* under intermittent irrigation according to levels of matric potential reduction. *Pesq. Agropec. Trop*. **45** 1-8

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available in: <https://www.R-project.org> (accessed: Abril 19, 2018).

RABBINGE. (2009). Hunger Map. In World Food Program. http://documents.wfp.org/stellent/groups/public/documents/liaison_offices/wfp185. (accessed November 23, 2010)

RAMOS A. C.; MARTINS, M. A. Fisiologia de micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; de SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Eds.) **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: Ed. UFLA, p. p. 133-152, 2010.

REDECKER, D.; SCHÜßLER, A.; STOCKINGER, H.; STÜRMER, S. L.; MORTON, J. B.; WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **Mycorrhiza**, v. 23, n.7, p. 515-531, 2013.

REED, S.C.; CLEVELAND, C.C.; TOWNSEND, A.R. (2011) Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective. *Annu Rev Evol Syst* 42:489–512
reference to their potential spread in Natal. **Applied Plant Science**, 2, 60–62.

REHMAN A.; ADNAN, M. Nutritional potential of Pakistani medicinal plants and their contribution to human health in times of climate change and food insecurity. **Pak. J. Bot.**, 50(1): 287-300, 2018.

RINCÓN, E.; HUANTE, P.; RAMÍREZ, Y. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on biomass production by the cactus *Pachycereus pecten-aboriginum*. **Mycorrhiza**, v. 3, n. 2, p. 79-81, 1993.

- RIVERA, D.; REVALE, S.; MOLINA, R.; GUALPA, J.; PUENTE, M.; MARONICHE, G.; CASSAN, F. (2014). Complete Genome Sequence of the Model Rhizosphere Strain *Azospirillum brasilense* Az39, Successfully Applied in Agriculture. **Genome Announcements**, 2(4). doi:10.1128/genomea.00683-14
- ROCHA, D.; PEREIRA JUNIOR, G.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A.; PINTO, N. Macarrão adicionado de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e nutrição**, Araraquara, v. 19, n.4. 459-465, 2008.
- RONQUIM, C.C. (2010) Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (Embrapa)** 8:1–26
- ROSE, S. 1. 1981. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal associations of some desert plants of Baja California. **Canadian Journal of Botany** 59: 1056-1060.
- ROSENDAHL, S.; MCGEE, P.; MORTON, J. B. Lack of global population genetic differentiation in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* suggests a recent range expansion which may have coincided with the spread of agriculture. **Molecular ecology**, v. 18, n. 20, p. 4316-4329, 2009.
- ROVEDDER, A. P. M.; SUZUKI, L. E. A. S.; DALMOLIN, R. S. D.; REICHERT, J. M.; SCHENATO, R. B. Compreensão e aplicabilidade do conceito de solo florestal. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 3, p. 517-528, 2013.
- SANTOS, M. V. F.; LIRA, M. DE A.; FARIAS, I.; BURITY, H. A.; NASCIMENTO, M. M. A.; SANTOS, D. C.; TAVARES FILHO, J. J. Estudo comparativo das cultivares de palma forrageira “Gigante”, “Redonda” (*Opuntia ficus-indica* Mill) e “Miúda” (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dick) na produção de leite. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.6, p.504-511, 1990.
- SCHEINVAR, L. Flora Ilustrada Catarinense: Cactaceas. Itajaí, SC. v. 1, 1995.
- SCHUBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research** 105: 1413–1421.
- SHARMA, V.; MISRA, S.; KUMAR SRIVASTAVA, A.K. (2017). Developing a green and sustainable process for enhanced PHB production by *Azohydromonas australica*. **Biocatal Agric Biotechnol** 10:122–129.
- SILVA, M. C.; PINTO, N. A. V. D. Teores de nutrientes nas folhas de taioba, ora-pro-nóbis, serralha e mostarda coletadas no município de Diamantina. In: FUNDAÇÃO EDUCACIONAL CIENTÍFICA E TECNOLOGIA DA UFVJA, 8., 2005, Diamantina. **Anais...** Diamantina: UFVJA, 2005. p. 86.
- SILVA, D. O.; SEIFERT, M.; NORA, F.R.; BOBROWSKI, V.L.; FREITAG, R.A.; KUCERA, H.R.; NORA, L.; GAIKWAD, N.W. Acute toxicity and cytotoxicity of *Pereskia aculeata*, a highly nutritious Cactaceae plant. **J. Med. Food**, 20 (2017), pp. 403-409
- SILVA, J. A.; BONOMO, P.; DONATO, S. L. R.; PIRES, A. J. V.; ROSOA, R. C. C.; PAULO, E. R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes

espaçamentos e adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, p.866-875, 2012

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. D. E. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro e ecossistemas do estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 12, p. 1499-1506, 1989.

SIQUEIRA, J. O.; HUBBELL, D. H.; MAHMUD, A. W. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 76, p. 115-124, 1984.

SMITH, S.E; READ, D.J. (2008) Mycorrhizal symbiosis. Elsevier **Science Ltd.**, London

SOBRAL, L.F.; BARRETTO, M.C. DE V.; DA SILVA, A.J.; DOS ANJOS, J.L., 2015. Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo. **Embrapa**.

SOUSA, C. D. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. D. S. B.; LIMA, F. D. S.; OEHL, F.; MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhizal fungi within agroforestry and traditional land use systems in semi-arid Northeast Brazil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 307-314, 2013.

SOUZA, M. R.; PEREIRA, P. R. G.; MAGALHAES, I. P. B.; SEDIYAMA, M. A. N.; VIDIGAL, S. M.; MILAGRES, C. S. F.; BARACAT-PEREIRA, M. C. (2016). Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *Pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, 46(1), 43-50.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingó, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 49-60, 2003.

SPRENT, J.I. (2001) Nodulation in legumes. **Royal Botanic Gardens**, Kew, UK

SPRENT, J.I.; GEHLOT, H.S. (2010) Nodulated legumes in arid and semiarid environments: are they important?. **Plant Ecolog Divers** 3:211–219

STÉDILE, J.P ; MARTINS, H. Soberanía alimentaria: una necesidad de los pueblos. En: Holt Giménez E. (ed.) ¡Movimientos alimentarios uníos! : Estrategias para transformar nuestros sistemas alimentarios. Bogotá: **ILSA**; 2013. p. 49-60.

STODDARD,F.L.; HOVINEN, S.; KONTTURI, M.; LINDSTROM, K.; NYKANEN, A. Legumes in Finnish agriculture: history, present status and future prospects. **Agr Food Sci** 2009;18:191e205.

STÜRMER, S. L.; BEVER, J. D.; MORTON, J. B. Biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota): a phylogenetic perspective on species distribution patterns. **Mycorrhiza**, v. 28, n. 7, p. 587-603, 2018.

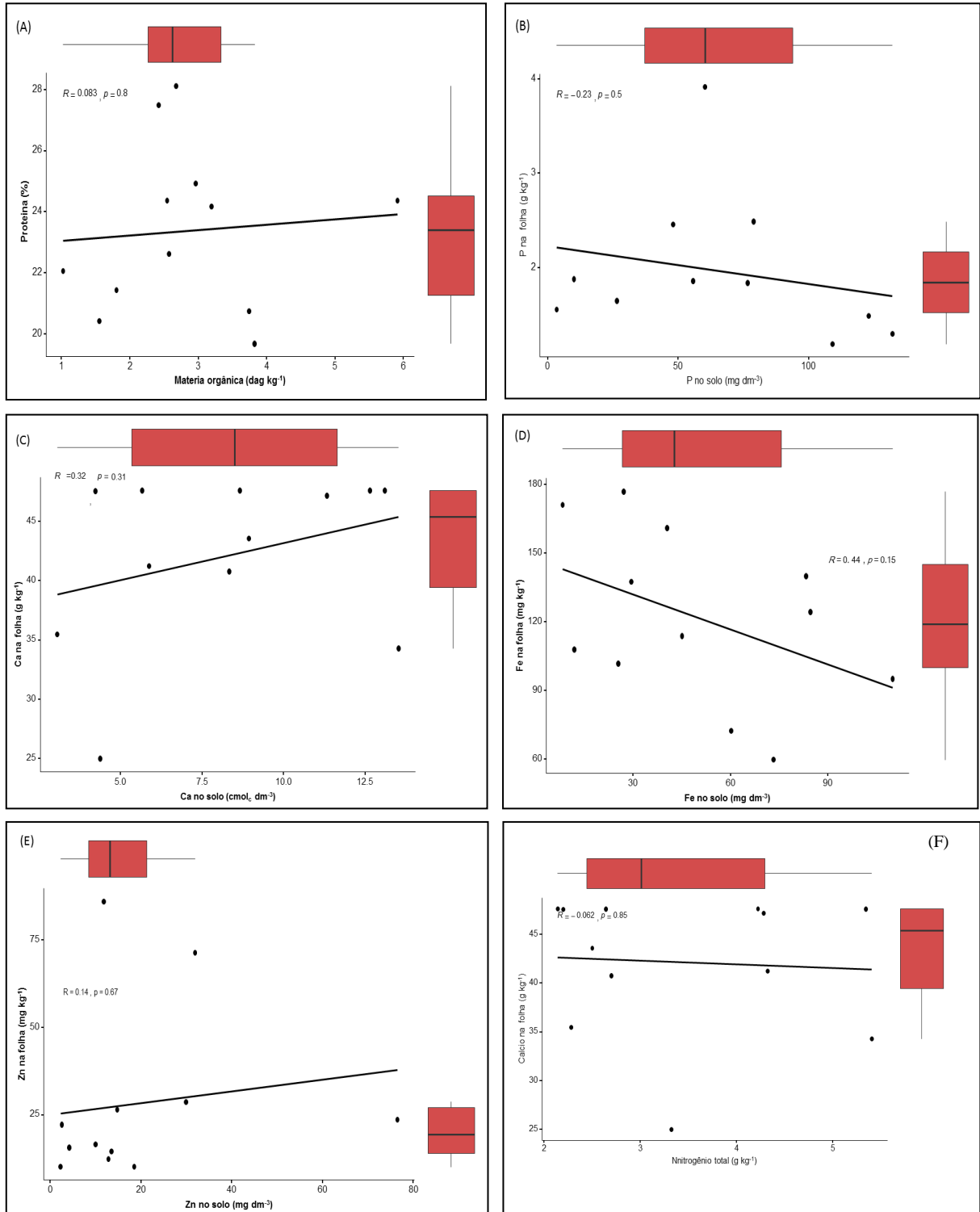
STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. & BRUSSAARD, L., eds. Soil

- biodiversity an Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford, CABI-Publishing, 2006. cap.10.
- SURYANARAYANAN, T. S.; WITTLINGER, S. K.; FAETH, S. H. Endophytic fungi associated with cacti in Arizona. **Mycological Research**, v. 109, n. 5, p. 635-639, 2005.
- TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G.C.; MOTTA, E.M.P.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; PARK, K.J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Hants, v. 60, n. 1, p. 148-160, Aug. 2009.
- TEIXEIRA, A. F. S.; KEMMELMEIER, K.; MARASCALCHI, M. N.; SÜRMER, S. L.; CARNEIRO, M. A. C.; MOREIRA, F. M. S. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in an iron mining area and its surroundings: Inoculum potential, density, and diversity of spores related to soil properties. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 5, p. 511-525, 2017.
- TOFFANELI, M. B. D.; RESENDE, S. G. Sistemas de condução na produção de folhas de ora-pro-nobis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 466-143, 2011.
- UDULUTSCH, R.G.; SOUZA, V.C.; RODRIGUES, R.; DIAS, P. 2010. Composição florística e chaves de identificação para as lianas da Estação Ecológica dos Caetetus, estado de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia** 61(4): 715-730.
- UN. World Population Prospects: The 2017 Revision, Highlights, Working Paper No. ESA/P/WP; **United Nations**, Department of Economic and Social Affairs, Population Division: New York, 2017; p 12.
- VESSEY, J.K.; PAWLOWSKI, K.; BERGMAN, B. (2004) Root-based N₂- fixing symbioses: legumes, actinorhizal plants, Parasponia and cycads. **Plant Soil** 266:205–230 doi:10.1007/s11104-005-0871-1
- VIEIRA, C. K.; MARASCALCHI, M. N.; RODRIGUES, A. V.; DE ARMAS, R. D.; STÜRMER, S. L. Morphological and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in revegetated iron-mining site has the same magnitude of adjacent pristine ecosystems. **Journal of Environmental Sciences**, v. 67, p. 1-14, 2017.
- VIEIRA, R.F.; CAMILO, J.; CORADIN, L. Espécies nativas da flora Brasileira de valor econômico atual ou potencial. Plantas para o futuro-Região Centro Oeste (2016). Ministério do meio ambiente. Brasília-DF. Biodiversidad 44. p. 280-289
- WALL, D.R.D.; BARDGETT, V.; BEHAN-PELLETIER, J. E.; HERRICK, T. H.; JONES, K.; RITZ, J.; SIX, D. R.; STRONG, W. H. 2012. Soil Ecology and Ecosystem Services. Oxford University Press, Oxford, USA
- WANG, X.; PAN, Q.; CHEN, F.; YAN, X.; LIAO, H. Effects of coinoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on soybean growth as related to root architecture and availability of N and P. **Mycorrhiza** 2011;21:173–81.
- WHITCOMB, S.A. (2000) Mycorrhizal Associations in *Opuntia humifusa* in Southern Illinois. Ph.D. **Thesis**, Southern Illinois University Carbondale, Carbondale, 85.

- WIJAYAWARDENE, N. N.; PAWŁOWSKA, J.; LETCHER, P. M.; KIRK, P. M.; HUMBER, R. A.; SCHÜBLER, A.; WRZOSEK, M.; MUSZEWSKA, A.; OKRASIŃSKA, A.; ISTEL, L.; GEŚIORSKA, A.; MUNGAI, P.; LATEEF, A. A.; RAJESHKUMAR, K. C.; SINGH, R. V.; RADEK, R.; WALTHER, G.; WAGNER, L.; WALKER, C.; WIJESUNDARA, D. S. A.; PAPIZADEH, M.; DOLATABADI, S.; TOKAREV, Y. S.; LUMYONG, S.; HYDE, K. D. Notes for genera: basal clades of Fungi (including Aphelidiomycota, Basidiobolomycota, Blastocladiomycota, Calcarisporiellomycota, Caulochytriomycota, Chytridiomycota, Entomophthoromycota, Glomeromycota, Kickxellomycota, Monoblepharomycota, Mortierellomycota, Mucoromycota, Neocallimastigomycota, Olpidiomycota, Rozellomycota and Zoopagomycota). **Fungal Diversity**, v. 92, n. 1, p. 43-129, 2018.
- WU, L.; GUO, S. (2008) Interaction between an isolate of darkseptate fungi and its host plant *Saussurea involucreata*. **Mycorrhiza** 18:79–85. doi:10.1007/s00572-007-0159-9
- YANNI, Y.G.; RIZK, R.Y.; CORICH, V.; SQUARTINI, A.; NINKE, K.; PHILIP-HOLLINGSWORTH, S.; ORGAMBIDE, G.; BRUIJN, F.D.; STOLTZFUS, J.; BUCKLEY, D.; SCHMIDT, T.M.; MATEOS, P.F.; LADHA, J.K. ; DAZZO, F.B. Natural endophytic associations between *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. **Plant Soil**, 194:99-114, 1997.
- YEAGER, C.M.; KORNISKY, J.L.; HOUSMAN, D.C.; GROTE, E.E.; BELNAP, J.; KUSKE, C.R. (2004) Diazotrophic community structure and function in two successional stages of biological soil crusts from the Colorado Plateau and Chihuahuan Desert. **Appl Environ Microbiol** 70:973–983
- YOUNG, P. (1992) Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms. In: Stacey G, Burris RH, Evans HJ (eds) Biological nitrogen fixation. **Chapman and Hall Inc**, New York, pp 43–86
- ZEGBE, J. A.; SERNA-PEREZ, A. (2017). Seasonal Changes and Nutrient Concentrations of “Cristalina” Cactus Pear Cladodes in Response to NPK Fertilization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**.doi:10.1080/00103624.2017.1298783
- ZEM, L. M.; HELM, C. V.; HENRIQUES, G. S.; CABRINI, D. A.; ZUFFERLLATO-RIBAS, K. C. (2017). *Pereskia aculeata*: biological analysis on wistar rats. **Food Science and Technology**, 37(1), 42-47.
- ZHANG, Y.; GUI, L.D.; LIU, R.J. (2004) Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. **Plant Soil** 261:257–263
- ZUBEK, S.; BLASZKOWSKI, J. (2009) Medicinal plants as hosts of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. **Phytochem Rev** 8:571–580

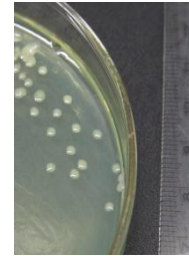
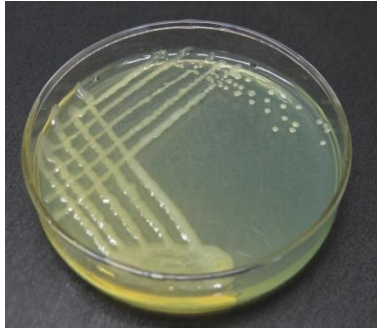
ANEXOS

Figura S1- Relação entre atributos químicos do solo e teores dos correspondentes elementos na folha de OPN. (A) Matéria orgânica no solo e proteína na folha, (B) Fósforo no solo e Fósforo na folha após ter extraído um valor extremo (Ijaci5), (C) Cálcio no solo e Cálcio na folha, (D) Ferro no solo e Ferro na folha.

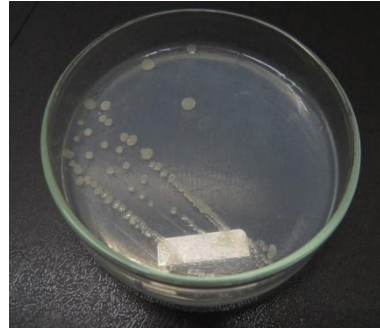


Fonte: Do autor (2019).

Figura S2 - Aspecto das colônias em meio batata de estirpes isoladas de solo (aderido a raiz), raiz (sem lavar), e água (maceração de raízes em água) no estudo em ora-pro-nobis. (Continua).



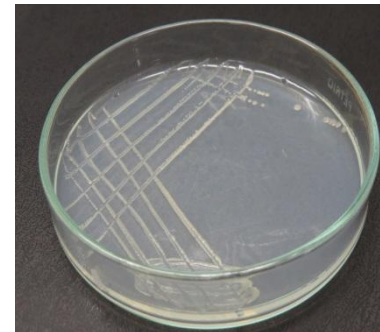
UFLA 271
Acinetobacter sp.



UFLA 335
Azohydromonas
australica



UFLA 324
Azohydromonas
sp.



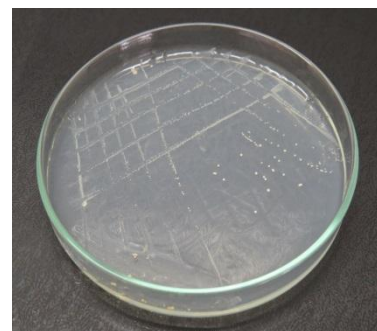
UFLA 301
Azospirillum
agricola



UFLA 337
Azospirillum
brasiliense



UFLA 283
Azospirillum sp.

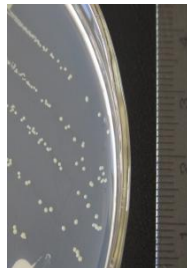
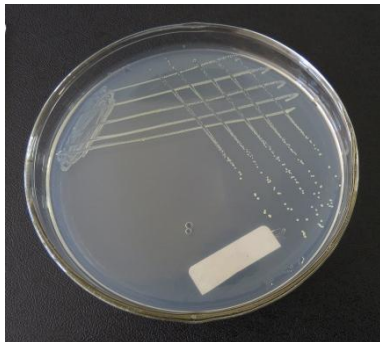


UFLA 293
Azospira sp.

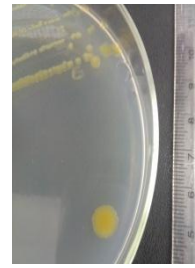
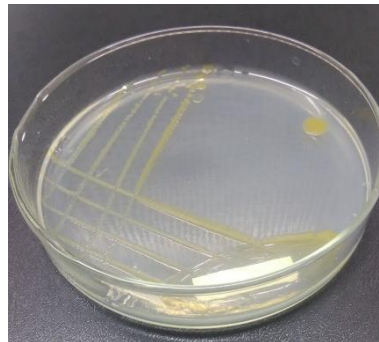


UFLA 261
Bacillus
safensis

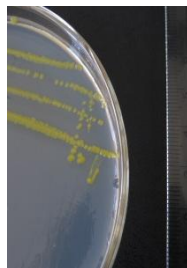
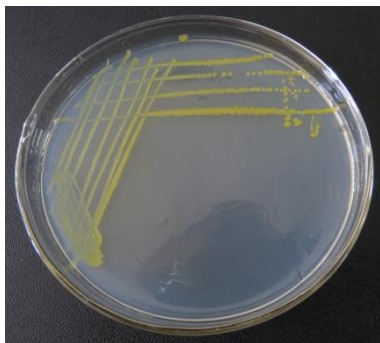
Figura S2 - Aspecto das colônias em meio batata de estirpes isoladas de solo (aderido a raiz), raiz (sem lavar), e água (macerado de raízes em água) no estudo em ora-pro-nobis. (Conclusão).



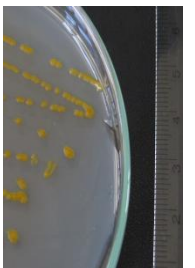
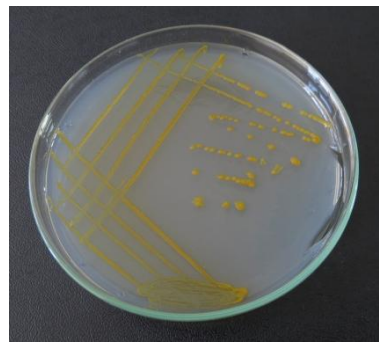
UFLA 330
Brevundimonas
sp.



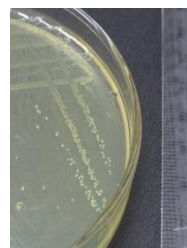
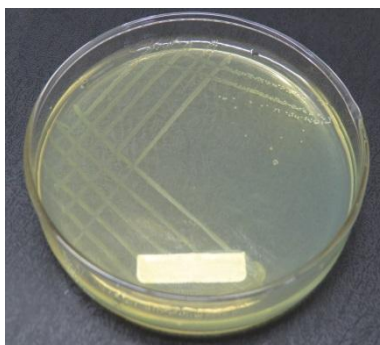
UFLA 274
Caulobacter
segnis



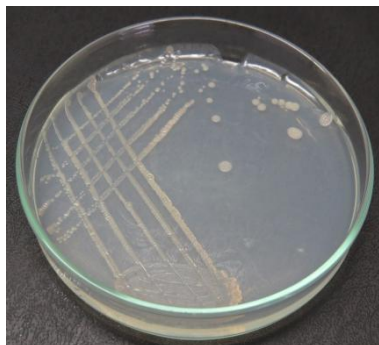
UFLA 278
Caulobacter
sp.



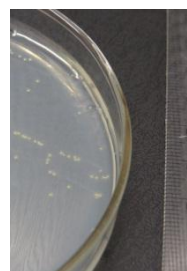
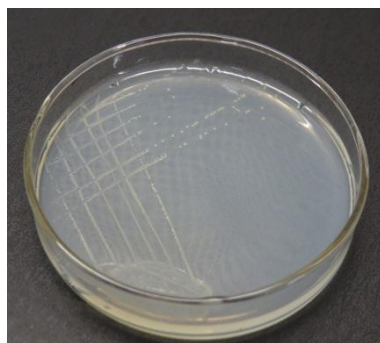
UFLA 277
Cryseobacterium
sp.



UFLA 294
Pseudoacidovorax
sp.



UFLA 306
Pseudomonas
sp.



UFLA 290
Variovorax
sp.

Fonte: Do autor (2019).

Figura S3 - Esporos de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas rizosfera de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.). (A) *Archaeospora trappei*; (B) *Ambispora leptoticha*; (C) *Ambispora* sp1; (D) *Claroideoglomus etunicatum*; (E) *Dominikia* sp1; (F) *Funneliformis mosseae*; (G) *Glomus glomerulatum*; (H) *Glomus microaggregatum*; (I) *Glomus* sp1; (J) *Glomus* sp2; (K) *Glomus* sp3; (L) *Glomus* sp4; (M) *Rhizophagus intraradices*; (N) *Sclerocystis coremioides*; (O) *Sclerocystis sinuosa*. (Continua).

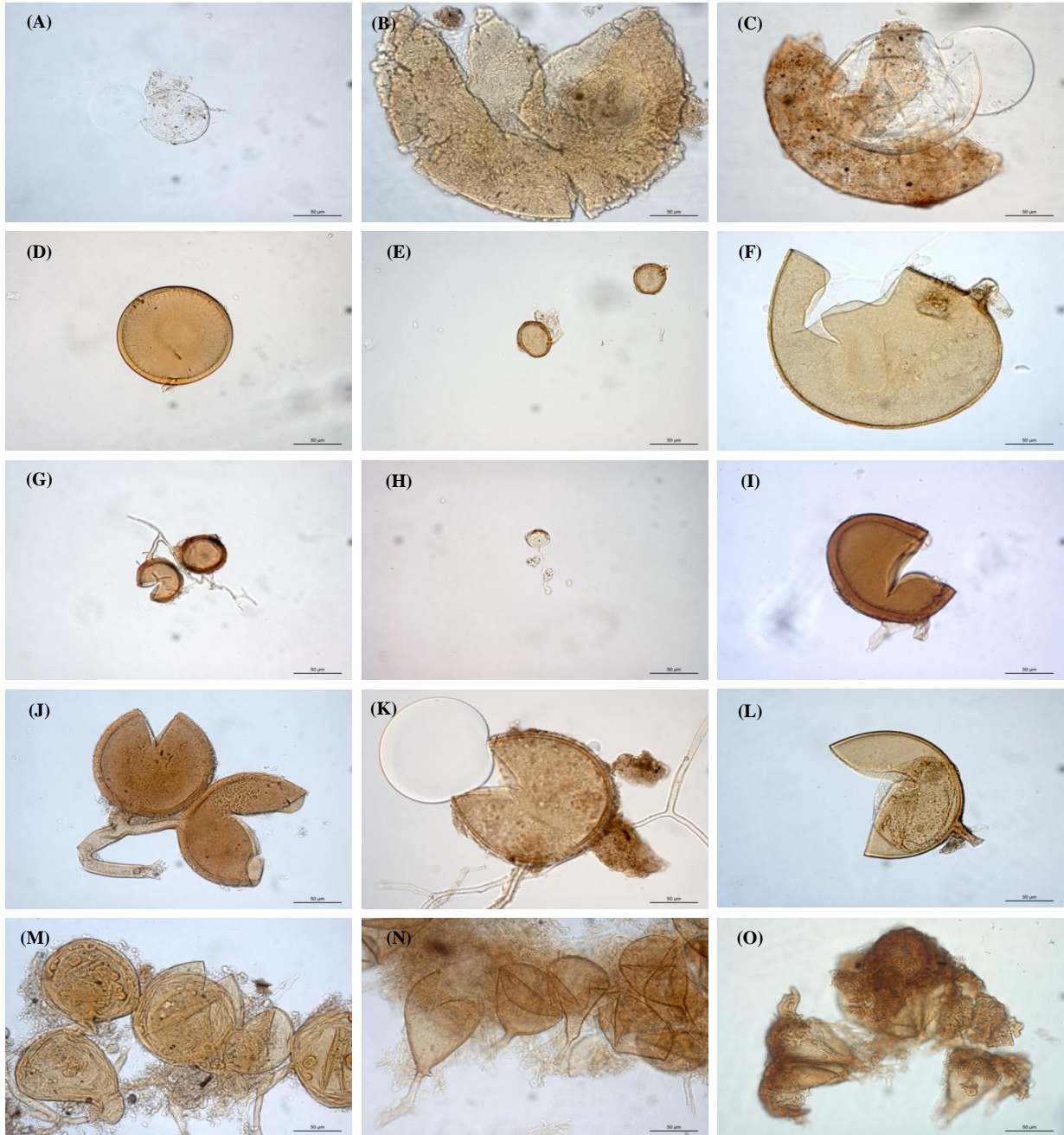
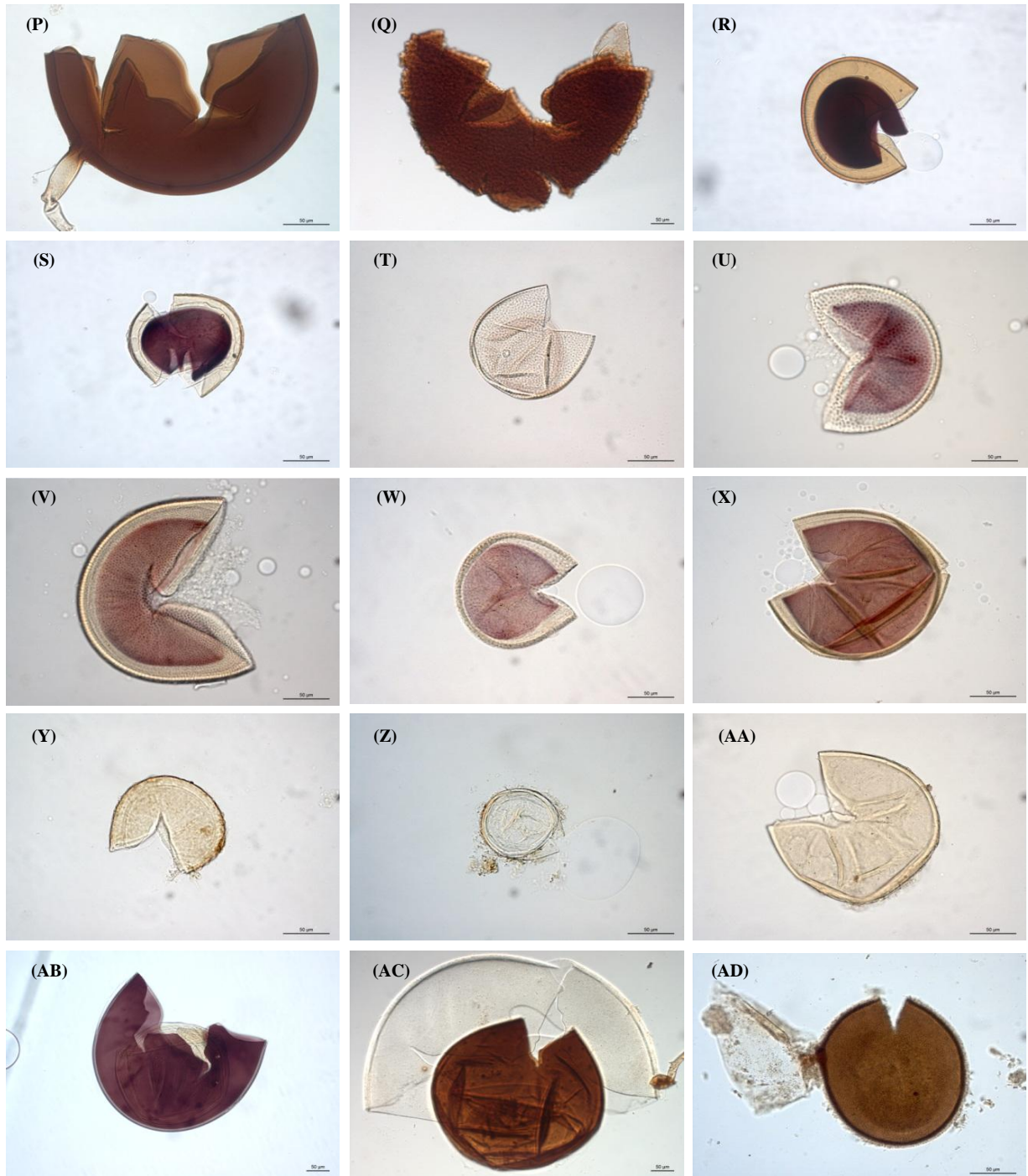
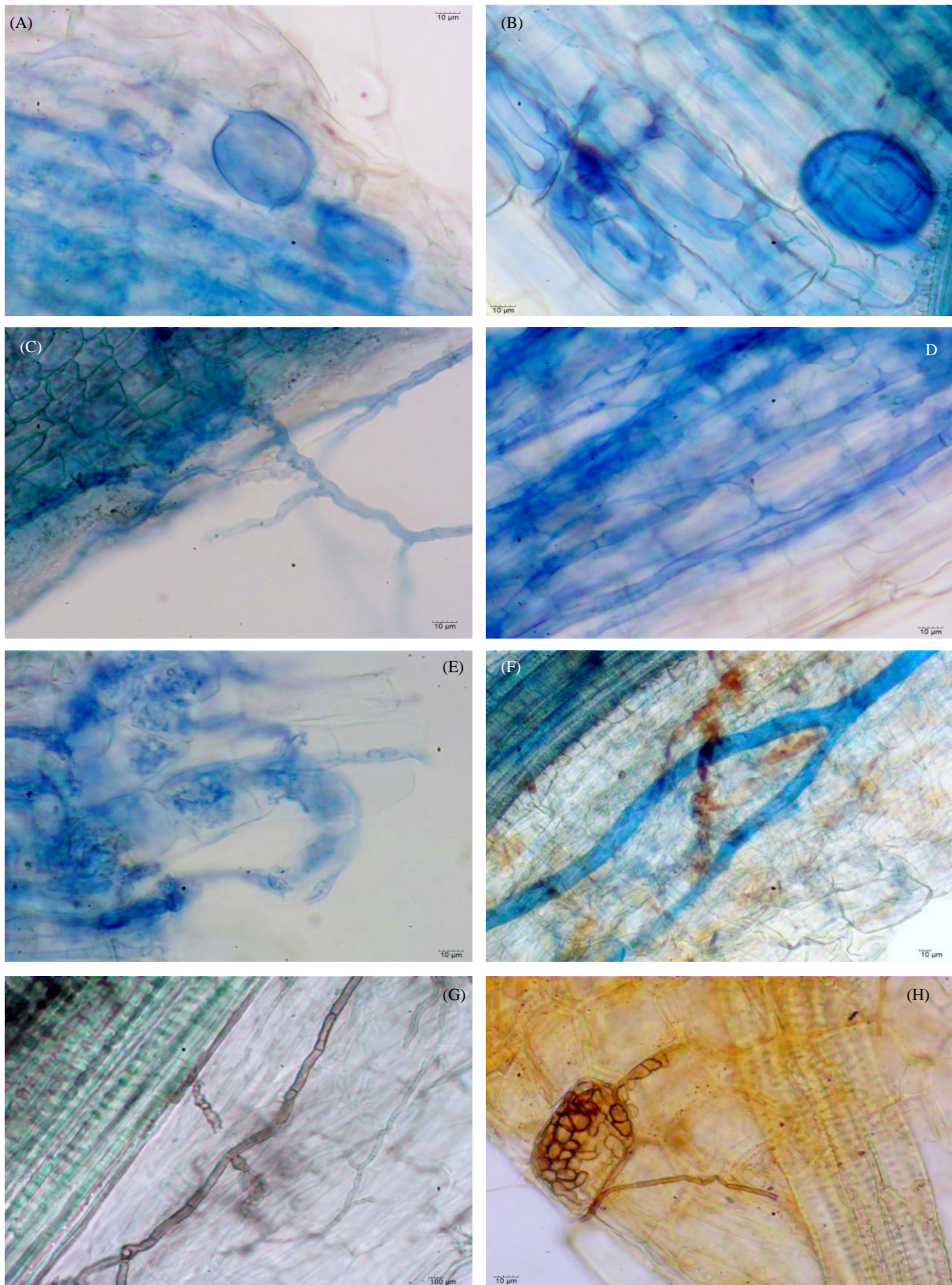


Figura S3 - Esporos de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas rizosfera de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.). (P) *Septoglomus constrictum*; (Q) *Acaulospora foveata*; (R) *Acaulospora mellea*; (S) *Acaulospora morrowiae*; (T) *Acaulospora* cf. *minuta*; (U) *Acaulospora* cf. *paulinae*; (V) *Acaulospora rehmi*; (W) *Acaulospora scrobiculata*; (X) *Acaulospora spinosissima* (Y) *Diversispora* sp1; (Z) *Diversispora* sp2; (AA) *Diversispora* sp3; (AB) *Cetraspora pellucida*; (AC) *Dentiscutata cerradensis*; (O) *Entrophospora infrequens*. (Conclusão).



Fonte: Do autor (2019).

Figura S4 - Estruturas de colonização encontradas na raízes de ora-pro-nobis. (A) esporo, hifa e arbúsculos. (B) Esporo e hifas. (C) hifas. (D) hifas com septos irregulares. (E) arbúsculos. (F) hifa bifurcada. (G) hifa de DSE. (H) esclerosio de DSE.



Fonte: Do autor (2019).

Figura S5 - Locais e planta do estudo. L1: Ijaci1; L2: Ijaci2; L3: Ijaci3; L4: Ijaci4; L5: Ijaci5; L6: Ijaci6; L7: Itumirim1; L8: Lavras1; L9: Lavras2; L10: Lavras3; L11: Perdões1; L12: Perdões2.



Fonte: Do autor (2019).

Tabela S1 - Meio de cultura NFb modificado (MAGALHÃES, 1981), e meio de cultura batata.

| Reagentes | Quantidades |
|--|-------------|
| Acido málico | 0,5 g |
| K ₂ HPO ₄ | 0,5 g |
| Manitol | 0,5 g |
| Sacarose | 0,5 g |
| Mg SO ₄ . 7H ₂ O | 0,2 g |
| NaCl | 0,1 g |
| CaCl ₂ . 2 H ₂ O | 0,02 g |
| Solução de vitaminas | 1,0 mL |
| Solução de Micronutrientes | 2,0 mL |
| FeEDTA Solução 1,64% | 4,0 mL |
| Azul de bromotimol (0,5% em 0,2 N Na OH) | 2,0 mL |
| Água destilada | 1000 mL |
| pH | 6,8 |
| Agar (semi-sólido) | 1,75 g |
| KOH | 0,4 g |

Ajustar o pH para 6,8 e completar o volume para 1000mL com água destilada. Adicionar 1,8 g de Agar para meio semi-sólido, e 17, 5 g para meio sólido mais 0.2 g de extrato de levedura.

| Solução de Micronutrientes | | Solução de Vitaminas | |
|---|------------|----------------------|------------|
| Reagente | Quantidade | Reagente | Quantidade |
| NaMoO ₄ . 2 H ₂ O | 0,2 g | Biotina | 10,0 mg |
| MnSO ₄ . H ₂ O | 0,235 g | Piridoxina | 20,0 mg |
| H ₃ BO ₃ | 0,28 g | Água Estéril | 100,0 mL |

Dissolver em banho-maria e completar o volume para 100mL com água destilada. Manter a solução em geladeira.

| Meio de cultura batata | |
|--|-------------|
| Reagentes | Quantidades |
| Batata | 200g |
| Ácido málico | 2,5g |
| Açúcar cristal | 2,5g |
| Solução de micronutrientes | 2 mL |
| Solução de vitaminas | 1 mL |
| Azul de bromotimol (0,5% em 0,2 N Na OH) | 2 gotas |

Pesar 200 g de batata inglesa, descascar e cozinhar durante 30 minutos em água destilada. Em seguida filtrar em funil com algodão. Em separado, misturar as quantidades do ácido málico e açúcar dissolvendo-os em água destilada até 50 mL, ajustando o pH para 6,8 com KOH (pastilhas). Adicionar no filtrado essa solução e as soluções de micronutrientes e vitaminas. Completar para 1000 mL com água destilada.

Fonte: Do autor (2019).

Tabela S2 - Identificação das estirpes diazotróficas com base nas sequências do gene 16S rRNA mais similares encontradas no Genbank.

| Código UFLA | Área de origem | | Grupos Fenotípicos | NPB | Sequencia mais similar encontrada no GenBank | | |
|----------------|----------------|----------|-----------------------|-------------------|---|--------|-----------|
| | Local | Ambiente | | | Especie | SI (%) | Acesso |
| UFLA 332 | Ijaci1 | água | CMAO | 395 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 360 | Ijaci1 | água | CPAO | 535 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 333 | Ijaci1 | água | CMAO | 489 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 302 | Ijaci1 | raiz | CAVO | 633 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676405 |
| UFLA 268 | Ijaci1 | raiz | CMGO | 590 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | HE977586 |
| UFLA 265 | Ijaci1 | raiz | CMGO | 530 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP007794 |
| UFLA 275 | Ijaci1 | raiz | CMGO | 457 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | CP007794 |
| UFLA 272 | Ijaci1 | raiz | CPSO | 643 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676402 |
| UFLA 283 | Ijaci1 | solo | CAGB | 1185 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | HQ678656 |
| | | | | 1185 ^C | <i>Azospirillum humicireducens</i> | 99 | CP015285 |
| | | | | 1185 ^C | <i>Azospirillum melinis</i> | 99 | GU256442 |
| UFLA 294 | Ijaci1 | solo | CMGO | 1194 ^C | <i>Pseudoacidovorax intermedius</i> | 99 | NR_044241 |
| | | | | 1194 ^C | <i>Pseudacidovorax sp.</i> | 99 | HQ834240 |
| UFLA 346 | Ijaci2 | água | LPSO | 417 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542383 |
| | | | | 417 ^F | <i>Azospirillum lipoferum</i> | 99 | DQ787330 |
| | | | | 417 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| UFLA 359 | Ijaci2 | água | UESO | 475 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP007797 |
| UFLA 319 | Ijaci2 | água | LESO | 546 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP007797 |
| UFLA 324 | Ijaci2 | água | UESO | 1333 ^C | <i>azohydromonas australica</i> | 99 | NR_041243 |
| | | | | 1333 ^C | <i>azohydromonas riparia</i> | 99 | NR_149203 |
| UFLA 269 | Ijaci2 | raiz | CMGB | 783 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542383 |

| | | | | | | | |
|----------|--------|------|------|-------------------|--------------------------------|-----|-----------|
| | | | | 783 ^F | <i>Azospirillum lipoferum</i> | 99 | DQ787330 |
| | | | | 783 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| UFLA 267 | Ijaci2 | raiz | CMGB | 1227 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676404 |
| | | | | 1227 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 261 | Ijaci2 | raiz | LPAO | 859 ^F | <i>Bacillus safensis</i> | 99 | HQ284924 |
| UFLA 277 | Ijaci2 | solo | LMVO | 1217 ^C | <i>Chryseobacterium sp.</i> | 99 | KX079857 |
| UFLA 299 | Ijaci2 | solo | CMGO | 677 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 290 | Ijaci2 | solo | CMGO | 1329 ^C | <i>Variovorax paradoxus</i> | 100 | JN627864 |
| | | | | 1329 ^C | <i>Variovorax sp.</i> | 100 | JN561302 |
| UFLA 297 | Ijaci2 | solo | CAVO | 687 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | FN813485 |
| UFLA 296 | Ijaci2 | solo | LPSO | 509 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676398 |
| UFLA 278 | Ijaci2 | solo | CMGB | 1225 ^C | <i>Caulobacter flavus</i> | 99 | KR086403 |
| | | | | 1225 ^C | <i>Caulobacter hibisci</i> | 99 | NR_157984 |
| UFLA 280 | Ijaci2 | solo | CMGB | 753 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 98 | NR_148768 |
| UFLA 343 | Ijaci3 | água | CPSO | 456 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 344 | Ijaci3 | água | CPAB | 892 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | AF411852 |
| UFLA 327 | Ijaci3 | água | CPAO | 1284 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676403 |
| | | | | 1284 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 306 | Ijaci3 | raiz | CMGB | 1400 ^C | <i>Pseudomonas sp.</i> | 99 | KF317736 |
| UFLA 314 | Ijaci3 | raiz | CMGB | 1284 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676403 |
| | | | | 1284 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 379 | Ijaci3 | raiz | CAGB | 1235 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676405 |
| UFLA 352 | Ijaci3 | solo | LESO | 588 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | CP007794 |
| UFLA 362 | Ijaci4 | água | CMGO | 797 ^R | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | HQ189391 |
| | | | | 797 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | FR667883 |
| UFLA 262 | Ijaci4 | raiz | CMGO | 580 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | FR667886 |
| UFLA 354 | Ijaci4 | solo | LPSO | 426 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676405 |
| UFLA 336 | Ijaci5 | água | CMGO | 476 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | JN167553 |

| | | | | | | | |
|----------|----------|------|------|-------------------|--------------------------------|-----|-----------|
| | | | | 476 ^F | <i>Azospirillum melinis</i> | 99 | GU256442 |
| UFLA 337 | Ijaci5 | água | CMGO | 1221 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP007794 |
| UFLA 264 | Ijaci6 | raiz | CPAO | 436 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 309 | Ijaci6 | raiz | LMGO | 611 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 308 | Ijaci6 | raiz | LPGO | 392 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676402 |
| UFLA 330 | Itumirim | água | CMGB | 642 ^R | <i>Brevundimonas sp.</i> | 100 | KM979021 |
| UFLA 320 | Itumirim | água | CMGB | 474 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542374 |
| | | | | 474 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| UFLA 321 | Itumirim | água | CMGB | 787 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542374 |
| | | | | 787 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| | | | | 787 ^F | <i>Azospirillum melinis</i> | 99 | GU256442 |
| | | | | 787 ^F | <i>Azospirillum lipoferum</i> | 99 | DQ787330 |
| UFLA 356 | Itumirim | água | CMGB | 804 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 98 | NR_148768 |
| UFLA 323 | Itumirim | água | CMGB | 766 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 325 | Itumirim | água | CMGB | 1239 ^C | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 318 | Itumirim | água | CMGB | 831 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 334 | Itumirim | água | LMAB | 694 ^R | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 307 | Itumirim | raiz | CMGO | 785 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542374 |
| | | | | 785 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| | | | | 785 ^F | <i>Azospirillum melinis</i> | 99 | GU256442 |
| | | | | 785 ^F | <i>Azospirillum lipoferum</i> | 99 | DQ787330 |
| UFLA 304 | Itumirim | raiz | CMGB | 762 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542374 |
| | | | | 762 ^F | <i>Azospirillum zeae</i> | 99 | FR667885 |
| | | | | 762 ^F | <i>Azospirillum melinis</i> | 99 | GU256442 |
| | | | | 762 ^F | <i>Azospirillum lipoferum</i> | 99 | DQ787330 |
| UFLA 266 | Itumirim | raiz | CMGB | 494 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 98 | NR_148768 |

| | | | | | | | |
|----------|----------|------|------|-------------------|-------------------------------------|-----|-----------|
| UFLA 301 | Itumirim | raiz | CMGO | 1234 ^C | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 310 | Itumirim | raiz | CPSB | 1243 ^C | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 313 | Itumirim | raiz | CMGB | 1252 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AB542379 |
| UFLA 284 | Itumirim | solo | CMGB | 560 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 97 | NR_148768 |
| UFLA 295 | Itumirim | solo | CMGB | 1245 ^C | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 317 | Itumirim | solo | LMGB | 1363 ^C | <i>Azospirillum agricola</i> | 99 | NR_148768 |
| UFLA 331 | Lavras1 | água | UESO | 1275 ^C | <i>Azohydromonas riparia</i> | 99 | KT750333 |
| | | | | 1275 ^C | <i>Azohydromonas australica</i> | 99 | NR_041243 |
| UFLA 282 | Lavras1 | solo | LPSO | 1184 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676405 |
| UFLA 285 | Lavras1 | solo | LPSO | 673 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 345 | Lavras3 | água | CMGO | 466 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 340 | Lavras3 | água | CESO | 1331 ^C | <i>Azohydromonas australica</i> | 99 | NR_041243 |
| | | | | 1331 ^C | <i>Azohydromonas riparia</i> | 99 | NR_149203 |
| UFLA 342 | Lavras3 | água | CESO | 1348 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676404 |
| | | | | 1348 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 335 | Lavras3 | água | CPAB | 1384 ^C | <i>Azohydromonas australica</i> | 99 | NR_041243 |
| UFLA 357 | Lavras3 | água | CPAB | 1267 ^C | <i>Brevundimonas lenta</i> | 99 | NR_044186 |
| | | | | 1267 ^C | <i>Brevundimonas kwangchunensis</i> | 99 | AY971369 |
| UFLA 341 | Lavras3 | água | CMAO | 465 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676402 |
| UFLA 260 | Lavras3 | raiz | CPAO | 304 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676405 |
| UFLA 288 | Lavras3 | solo | LPSO | 643 ^F | <i>Azohydromonas australica</i> | 99 | NR_041243 |
| UFLA 291 | Lavras3 | solo | LPSO | 653 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 281 | Lavras3 | solo | LPSO | 1224 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676404 |
| | | | | 1224 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 271 | Perdões1 | raiz | CMGO | 431 ^R | <i>Acinetobacter sp.</i> | 99 | MH703494 |
| UFLA 311 | Perdões1 | raiz | LMGO | 780 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676398 |
| UFLA 287 | Perdões1 | solo | LMGO | 753 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676405 |

| | | | | | | | |
|----------|----------|------|------|-------------------|--------------------------------|-----|-----------|
| UFLA 293 | Perdões1 | solo | CMGO | 1282 ^C | <i>Azospira oryzae</i> | 99 | NR_074103 |
| | | | | 1282 ^C | <i>Azospira sp.</i> | 99 | GU294119 |
| UFLA 328 | Perdões2 | água | CPAO | 763 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 98 | NR_148768 |
| | | | | 763 ^F | <i>Azospirillum sp.</i> | 98 | AB049110 |
| UFLA 349 | Perdões2 | água | CMGO | 615 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 350 | Perdões2 | água | CMGO | 659 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 326 | Perdões2 | água | CPAO | 405 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP022262 |
| UFLA 339 | Perdões2 | água | CPAO | 652 ^F | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | KP676403 |
| UFLA 338 | Perdões2 | água | CMGO | 587 ^F | <i>Azospirillum agricola</i> | 98 | NR_148768 |
| UFLA 347 | Perdões2 | água | CPAO | 1343 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676403 |
| UFLA 361 | Perdões2 | água | CMGO | 1228 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676403 |
| UFLA 348 | Perdões2 | água | CPSO | 1187 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676403 |
| | | | | 1187 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | LN614537 |
| UFLA 274 | Perdões2 | raiz | CPAB | 616 ^F | <i>Caulobacter segnis</i> | 100 | CP027850 |
| UFLA 312 | Perdões2 | raiz | CPSO | 1147 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | KP676404 |
| | | | | 1147 ^C | <i>Azospirillum sp.</i> | 99 | AF411852 |
| UFLA 377 | Perdões2 | solo | LESO | 699 ^R | <i>Azospirillum brasilense</i> | 99 | CP007794 |
| | | | | 699 ^R | <i>Azospirillum formosense</i> | 99 | NR_117483 |
| UFLA 355 | Perdões2 | solo | LPSO | 1228 ^C | <i>Azospirillum brasilense</i> | 100 | CP007794 |

Legenda: solo: solo aderido à raiz, raiz: raiz sem lavar, água: macerado das raízes em água

Fonte: Do autor (2019).