

**EFEITO DE SISTEMAS DE USO DA TERRA
NA AMAZÔNIA SOBRE ATRIBUTOS DO
SOLO, OCORRÊNCIA, EFICIÊNCIA E
DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS QUE
NODULAM CAUPI
[*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**

RAFAELA SIMÃO ABRAHÃO NÓBREGA

2006

RAFAELA SIMÃO ABRAHÃO NÓBREGA

**EFEITO DE SISTEMAS DE USO DA TERRA NA AMAZÔNIA
SOBRE ATRIBUTOS DO SOLO, OCORRÊNCIA, EFICIÊNCIA E
DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS QUE NODULAM CAUPI [*Vigna
unguiculata* (L.) Walp]**

Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Prof^a. Dra. Fátima Maria de Souza Moreira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

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

Nóbrega, Rafaela Simão Abrahão.

Efeito de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] / Rafaela Simão Abrahão Nóbrega. -- Lavras : UFLA, 2006.

188p. : il.

Orientadora: Fátima Maria de Souza Moreira.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Floresta primária e secundária. 2. Pastagem. 3. Agrofloresta. 4. Agricultura. 5. Fixação biológica do nitrogênio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-631.46

RAFAELA SIMÃO ABRAHÃO NÓBREGA

**EFEITO DE SISTEMAS DE USO DA TERRA NA AMAZÔNIA
SOBRE ATRIBUTOS DO SOLO, OCORRÊNCIA, EFICIÊNCIA E
DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS QUE NODULAM CAUPI
[*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**

Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 19 de abril de 2006.

Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira

UFLA

Pesq. Dra. Diva de Souza Andrade

IAPAR

Prof. Dr. Júlio Neil Cassa Louzada

UFLA

Pesq. Dra. Rosângela Straliootto

Embrapa Agrobiologia

Profª. Dra. Fátima Maria de Souza Moreira
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Ao meu querido pai, **Antônio Abrahão** (*in memoriam*), por todo o apoio, ensinamentos, conselhos, esperanças, incentivos, compreensão e fé a mim dedicados, até nas últimas horas de sua vida,

Muitas saudades...

A minha querida mãe, **Maria de Lourdes**, por sua infinita dedicação e amor.

Ofereço

A **Deus**,
Por nunca me abandonar e
sempre me iluminar,
colocando sempre ao meu
lado muitos anjos...

Ao meu esposo, **Júlio César**, meu grande
incentivador, companheiro
constante de luta, por todo
amor, respeito,
compreensão e carinho

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Fátima Maria de Souza Moreira pela valiosa oportunidade de iniciação em Microbiologia do Solo em 1997, por acreditar no meu trabalho, pela grande amizade, apoio e confiança durante todos estes anos.

Ao projeto TSBF-CIAT/GEF-UNEP, “*Conservation and Sustainable Management of Below Ground Biodiversity*”, pelo financiamento para execução deste trabalho.

A toda a equipe envolvida na fase de coleta das amostras de solo e às comunidades Nova Aliança e Guanabara II pelo apoio, empenho e espírito de equipe, tão importantes para o êxito dos trabalhos de campo.

A todos os professores do Departamento de Ciência do Solo, em especial aos professores José Oswaldo Siqueira, Nilton Curi, Antônio Eduardo Furtini Neto, Vicente Gualberto e Janice Guedes Carvalho, por seus ensinamentos, auxílios, apoio e disponibilidade para discussões e esclarecimentos de dúvidas.

A todos os funcionários Departamento de Ciência do Solo por seu auxílio, apoio, disponibilidade e ajuda prestados.

Aos funcionários Marlene Aparecida de Souza e Manuel Aparecido da Silva pela valiosa contribuição na execução das análises, além da infinita amizade construída durante todos estes anos de trabalho em equipe.

Aos professores Romildo da Silva, Rosane Freitas Schwan e Eustáquio Souza Dias pela grande oportunidade concedida e pelas orientações e sugestões.

Aos professores Marcelo Cirillo e Daniel Furtado Ferreira pela disponibilidade e contribuição na realização das análises estatísticas.

Ao Prof. Luciano Vilela Paiva pelas sugestões e contribuições na realização de parte das análises.

Aos membros da banca examinadora, Pesq. Diva de Souza Andrade, Prof. Daniel Furtado Ferreira, Prof. Júlio Neil Cassa Louzada e Dra. Rosângela Stralio, pela participação, colaboração e sugestões apresentadas.

Aos preciosos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo, que de alguma forma sempre estiveram dispostos a discutir dúvidas e pontos de vista, além da grande ajuda e auxílio nos momentos mais difíceis: Adriana, Alexandre, Alice, Amanda, André, Cláudio, Éderson, Gláucia, José Geraldo, João Paulo, Krisle, Ligiane, Manoel, Márcia, Marlene, Meire, Michele Aparecida, Michele Rocha, Paulo, Pedro, Plínio, Rogério e Silvana.

A todos os amigos do Departamento de Ciência do Solo e de Biologia, incluindo alunos de graduação e pós-graduação, professores e funcionários, pela agradável convivência durante todos estes anos.

A Dona Izaura, Rafaela e Marlene pela importante acolhida, incentivo e apoio na fase final deste trabalho.

A todos os amigos adquiridos em Lavras.

Aos meus sogros Maria de Lourdes e Euclides; a minha sobrinha e afilhada Maria Eduarda; aos meus cunhados Euclides, Eugênia, Maria Aparecida; aos meus tios Nazira, José Alibert e Nely; e aos meus queridos padrinhos Anna Lúcia e Samir, que sempre foram compreensivos na ausência e sempre estiveram presentes, me apoiando com todo carinho, mesmo na distância.

A todos Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	01
1 Introdução geral.....	02
2 Referencial Teórico.....	05
2.1 Diversidade das bactérias que nodulam leguminosas.....	05
2.2 Relação entre alguns fatores bióticos e abióticos em ambientes edáficos e ocorrência de bactérias que nodulam leguminosas.....	08
2.2.1 Fatores abióticos.....	08
2.2.2 Fatores bióticos.....	10
2.3 Impacto dos diferentes sistemas de uso do solo sobre as bactérias que nodulam leguminosas.....	12
2.4 Métodos e índices para avaliação da riqueza e diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.....	16
2.4.1 Métodos.....	16
2.4.2 Índices de diversidade.....	18
2.5 Análises multivariadas em estudos de caracterização do solo e da diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.....	21
2.5.1 Análise de componentes principais.....	22
2.5.2 Análise Canônica.....	23
2.5.3 Análise de agrupamento “ <i>cluster</i> ”	24
3 Referências Bibliográficas.....	27
CAPÍTULO 2: Atributos químicos de solos submetidos a diferentes sistemas de uso localizados no alto rio solimões – Amazônia.....	37
Resumo.....	38
Abstract.....	39

1 Introdução.....	40
2 Material e Métodos.....	43
3 Resultados e Discussão.....	49
4 Conclusões.....	62
5 Referências Bibliográficas.....	63
CAPÍTULO 3: Ocorrência e eficiência de populações de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp] em solos sob diferentes sistemas de uso no alto rio solimões – AM	
Resumo.....	67
Abstract.....	69
1 Introdução.....	70
2 Material e Métodos.....	72
2.1 Ocorrência e eficiência das populações de bactérias que nodulam leguminosas.....	72
2.2 Análises estatísticas.....	74
3 Resultados e Discussão.....	76
3.1 Ocorrência e eficiência das populações de bactérias diazotróficas que nodulam caupi.....	76
3.2 Eficiência pontual das populações de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam caupi.....	86
3.3 Correlação canônica entre atributos edáficos e variáveis relacionadas ao crescimento e nodulação da planta.....	88
4 Conclusões.....	96
5 Referências Bibliográficas	97
CAPÍTULO 4: Diversidade de bactérias fixadoras de n_2 que nodulam caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp] isoladas de solos sob diferentes sistemas de uso na região do alto rio solimões – AM.....	
Resumo.....	102

Abstract.....	104
1 Introdução.....	106
2 Material e Métodos.....	109
2.1 Isolamento e caracterização cultural de bactérias que nodulam leguminosas.....	109
2.2 Autenticação de isolados de bactérias que nodulam leguminosas.....	111
2.2.1 Autenticação por meio da inoculação no hospedeiro original.....	111
2.2.2 Autenticação por meio da análise dos <i>nodC</i> e <i>nifH</i>	113
2.3 Análise de proteínas totais por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)	115
3 Resultados e Discussão.....	117
3.1 Isolamento e caracterização cultural de bactérias que nodulam leguminosas.....	117
3.2 Autenticação de isolados de bactérias que nodulam leguminosas.....	122
3.2.1 Autenticação por meio da inoculação no hospedeiro original.....	122
3.2.2 Autenticação por meio da análise dos <i>nodC</i> e <i>nifH</i>	123
3.3 Análise de proteínas totais por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	125
4 Conclusões.....	134
5 Referências Bibliográficas.....	135
ANEXOS.....	139

RESUMO GERAL

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. **Efeito de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. 188p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹.

Objetivando avaliar as alterações químicas edáficas, assim como a ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam leguminosas (BNL) em solos submetidos aos sistemas de uso da terra (SUTs), pastagem (P), agricultura (AG), agrofloresta (A), floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), floresta secundária em estágio avançado de regeneração (FA) e floresta primária (FP), localizados na região do Alto Rio Solimões, AM, coletaram-se amostras de solo na profundidade de 0-20 cm em março de 2004, durante o período de maior intensidade pluviométrica. Experimentos sucessivos, sob condições axênicas, em casa-de-vegetação e laboratório, foram conduzidos utilizando a espécie promíscua caupi como armadilha para capturar BNL das amostras de solo. Os SUTs influenciaram os atributos químicos do solo. Os principais fatores limitantes ao crescimento das plantas e aos organismos dos solos sob P, AG, A, FI e FA foram os baixos teores de fósforo e boro e os altos valores de acidez ativa. A análise de componentes principais revelou que os atributos do solo zinco, cálcio, capacidade de troca catiônica efetiva e acidez potencial foram os que mais discriminaram os SUTs. A FA, sistema de uso com maior tempo de sucessão secundária, apresentou os atributos químicos dos solos, no geral, mais próximos aos solos da FP. Populações de BNL estão presentes em solos sob sistemas de P, FP, FA, FI, A e AG, sendo que as populações dos solos sob AG, FP e FI não foram eficientes em promover o crescimento do caupi. O manejo do solo através da substituição da FP por outros sistemas de uso como a A, P e FA estimulou a eficiência das populações de BNL. As populações BNL oriundas de solos sob sistemas de P, FI, FA, A e AG foram heterogêneas com relação à eficiência em promover o crescimento do caupi. Os atributos edáficos, com exceção do boro, apresentaram baixa correlação com a ocorrência e eficiência de populações BNL, sendo as diferenças nestas variáveis mais relacionadas com os SUTs. As populações de BNL de caupi oriundas dos pontos 24 A (situado na agrofloresta), 87, 92, 93, 94 e 96 (pastagem), 18, 19, 21, (agricultura) e 29 (floresta secundária em estágio inicial de regeneração) apresentam-se como potenciais para isolamento de estirpes eficientes e competitivas. Os sistemas de uso da terra alteraram a diversidade cultural da população de bactérias que nodulam caupi. Os sistemas de uso da terra que tiveram maior riqueza cultural observada e estimada, de BNL isoladas de caupi,

foram, na seguinte ordem: agrofloresta > pastagem > floresta secundária em estágio inicial de regeneração > floresta secundária em estágio avançado de regeneração > agricultura > floresta primária. Pôde-se observar uma grande diversidade baseada nas análises fenotípicas pelas características culturais e dos perfis de proteína total, inclusive entre os isolados dos sistemas de uso manejados. Essa diversidade indica a resiliência das bactérias às modificações implementadas pelos diferentes sistemas de uso da terra. A diversidade obtida por características culturais foi similar àquela obtida por padrões de proteína; assim, recomenda-se o uso da primeira, mais rápida e de baixo custo em estudos de grande escala sobre a diversidade de BNL.

¹Orientadora: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA

GENERAL ABSTRACT

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. **Effects of Amazonian land use systems on soil attributes, occurrence, efficiency and diversity of bacteria nodulating cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. 188p. Thesis (Doctorate in Soil and Plant Nutrition)-Federal University of Lavras, Lavras, MG¹.

Aiming to evaluate soil chemical changes, as well as occurrence, efficiency and diversity of bacteria nodulating leguminous (BNL) in soils under the following land use systems (LUSs): pasture (P), agriculture (AG), agroforestry (A), young secondary forest (FI), old secondary forest (FA) and pristine forest (FP) situated in Upper Solimões river, AM, soil samples were collected in 0-20 cm depth in March, 2004, during the highest rainfall period. Greenhouse and laboratory experiments were carried out under axenic conditions by using the promiscuous species cowpea to trap BNL from soils. LUSs affected soil chemical attributes. Main limiting factors for plant growth and soil organisms under P, AG, A, FI e FA were low P and B contents and high values of active acidity. Principal component analysis showed Zn, Ca, effective cation exchange capacity and potential acidity as the soil attributes most discriminatory of the LUSs. The land use with more succession time-FA, presented the soil chemical attributes more closely related to pristine forest. BNL populations were present in all LUSs, however under AG, FP and FI they were not efficient in promoting plant growth. Thus, management of soil through replaement of FP by other LUS such as A, P e FA stimulated populations efficiency of BNL cowpea bacteria. BNL were highly heterogeneous in relation to their efficiency to promote cowpea growth. Soil attributes, except B, presented low correlation with occurrence and efficiency of BNL, which were more correlated to LUSs. Nitrogen fixing bacteria from some sampling points 24 A (24A), P (87, 92, 93, 94 and 96), AG (18, 19, 21) and FI (29) had populations from which efficient and competitive strains can be isolated. LUS affected cultural diversity of BNL. LUSs with highest observed and estimated diversity were in the following order: agroforestry > pasture > young secondary forest > old secondary forest > agriculture > pristine forest. A high diversity were observed both by cultural characteristics and protein profiles, among isolates, including those from managed LUSs. This diversity is due to resilience of bacteria after soil changes occurring under the LUSs after removal of pristine forest. Diversity obtained by cultural characterization was similar to that obtained by protein profiles, thus, it is recommended that the first, less expensive and fast, can be used in large scale studies of BNL.

¹Adviser: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O impacto das atividades antrópicas sobre os recursos naturais tem resultado em alterações na superfície e atmosfera terrestre, clima e, principalmente, na diversidade dos seres vivos. Como exemplos negativos destes sobre os ecossistemas têm-se a destruição das florestas e a poluição ambiental, sendo que, atualmente, poucas regiões do planeta encontram-se com seus ecossistemas primários.

A região Amazônica, com aproximadamente 5 milhões de km², abrange 59% do território brasileiro, e ainda apresenta locais que não sofreram intervenção antrópica. Os solos são, na maioria, de baixa fertilidade e com limitações como acidez elevada e baixa capacidade de troca de cátions. Possui uma ampla diversidade de seres vivos, devido ao grande número de nichos existentes, podendo-se esperar que a diversidade de organismos do solo também seja afetada pela diversidade vegetal e edáfica. Contudo, com a intensificação das atividades antrópicas, que culminam na conversão de florestas a pastagens extensivas, ocorrem desequilíbrios e redução na biodiversidade de organismos, contribuindo, na maioria das vezes, para a rápida degradação dos recursos naturais. Essa redução pode levar a alterações nas funções dos ecossistemas, que afetarão sua produtividade e sua sustentabilidade.

A diversidade microbiana do solo é considerada um fator importante na sustentabilidade de ecossistemas. Os microrganismos contribuem para o desenvolvimento da estrutura do solo e para o controle biológico de patógenos e pragas e controlam a disponibilidade de nutrientes às plantas, através da mediação dos ciclos biogeoquímicos. Além disso, pela dinâmica, e por estarem continuamente mudando e se adaptando às alterações ambientais, representam indicadores sensíveis às mudanças no solo, oriundas de alterações antrópicas, e

também no tipo de cobertura vegetal (Kennedy, 1999; Gastine et al., 2003; Ballard et al., 2004; Kaschuk et al., 2006).

Dentre os grupos de microrganismos edáficos que estabelecem simbioses com plantas, as bactérias que nodulam leguminosas (BNL) certamente se destacam por sua importância econômica, que está relacionada não só à ampla distribuição geográfica em que podem ser encontradas, como também à maior eficiência do processo decorrente de uma parceria entre vegetal e microrganismo mais evoluída (Moreira & Siqueira, 2002).

São poucos os estudos realizados com BNL na Amazônia se considerarmos sua abrangência territorial e a diversidade de ecossistemas Magalhães et al. (1982), Bonetti et al. (1984), Moreira et al. (1992), Pereira (2000) e Jesus et al. (2005). Espera-se encontrar, nestes solos, uma grande diversidade de BNL e, entre estas, obter isolados que apresentem potencial para estudos posteriores objetivando a produção de inoculantes para leguminosas de interesse agrônomo (Moreira et al., 1993; Pereira, 2000; Lacerda et al., 2004). A etapa preliminar da pesquisa envolve o levantamento da diversidade de BNL, em que a planta isca é uma variável importante a ser considerada, pois influencia na captura dos simbioses, favorecendo ou desfavorecendo a nodulação de determinados gêneros.

O feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], nativo da África (Elhassan & Focht, 1986), é amplamente cultivado nas regiões tropicais dos continentes africano, asiático e americano e apresenta alta variabilidade genética, tolerância a estresses edafo-climáticos, produtividade e capacidade de se beneficiar da simbiose com bactérias que nodulam leguminosas, recebendo maior parte do nitrogênio para seu completo desenvolvimento através da fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN). É considerada uma leguminosa promíscua, pois nodula com bactérias de vários gêneros e, assim, pode ser utilizada com sucesso em estudos que objetivem a captura destas (Lewin et al.,

1987; Martins et al., 1997; Odee et al., 1997; Handley et al., 1998; Pereira, 2000; Melloni et al., 2006).

Este trabalho faz parte do projeto “Conservation and Sustainable Management of Below-Ground Biodiversity”, financiado pelo GEF e implementado pelo “United Nations Environment Programme (UNEP)”, que está sendo executado em sete países, Brasil, Costa do Marfim, Índia, Indonésia, Kênia, México e Uganda, cujo objetivo é despertar a consciência e a compreensão sobre a biodiversidade do solo, importante para a produção agrícola sustentada em áreas tropicais, através da demonstração de métodos para a conservação e manejo sustentado (Projeto GF/2715-02). Neste contexto, os objetivos específicos deste trabalho foram:

Avaliar as alterações químicas nos solos submetidos a diferentes sistemas de uso na região do Alto Rio Solimões, Amazônia, e identificar possíveis atributos químicos que possam afetar o manejo destes solos e as comunidades biológicas;

Avaliar a ocorrência e eficiência de populações de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp);

Avaliar a diversidade fenotípica desses microrganismos, através da caracterização cultural e por perfis de proteína total (SDS-PAGE).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diversidade das bactérias que nodulam leguminosas

Biodiversidade é uma medida da variabilidade existente intra e entre espécies. Isto inclui as diferenças relativamente pequenas entre os genomas dos membros de uma mesma espécie, assim como as diferenças entre os genomas de espécies diferentes, podendo ser mensurada em níveis taxonômicos, através de características genéticas e fenotípicas.

Entre os procariotos edáficos estão as comunidades bacterianas que são altamente diversas (Torsvik & Ovreas, 2002), havendo uma riqueza de informações genéticas desconhecidas (Borneman & Triplett, 1997), já que os ambientes edáficos são extensos e diversos e apenas 1 % dos microrganismos que os habita são observados ao microscópio, cultivados e caracterizados (Moreira & Siqueira, 2002).

A variabilidade tem como fonte principal as mutações que constituem modificações na molécula de DNA, sendo que esta carrega as informações hereditárias que são transmitidas de ascendentes para descendentes. Há, entretanto, outros tipos mais radicais de mudanças que resultam em alterações de grande escala dentro do genoma. Estas mudanças incluem rearranjos extensivos das seqüências de nucleotídeos, duplicação e deleção de genes individuais, ou mesmo de grandes partes do genoma, transferência de partes de um cromossomo para o outro e assim por diante (Alberts, 1999).

Apesar da sua aparente simplicidade genética, as bactérias possuem quase todos os mecanismos que geram variação genética e que são favorecidos pelos seguintes eventos (Alberts, 1999):

A alta taxa de divisão bacteriana significa que as mutações ocorrerão em um curto período de tempo;

As mutações em bactérias podem ser ocasionadas por mudanças nas condições ambientais;

As células bacterianas podem adquirir genes de outras bactérias;

Os genes bacterianos podem ser transferidos através da conjugação;

As bactérias podem assimilar DNA dos seus arredores;

Recombinação homóloga pode ocorrer entre duas moléculas de DNA de seqüências semelhantes;

Os genes podem ser transferidos entre bactérias por vírus bacterianos;

Elementos de transposição criam diversidade genética. A transferência de plasmídeos entre as bactérias tem sido também reconhecida como um mecanismo potencial e rápido de adaptação e colonização de diferentes nichos pelas bactérias (De La Cruz & Davies, 2000; Provorov & Vorob'ev, 2000).

Para BNL, outras prováveis causas da diversificação são a ampla distribuição geográfica deste grupo, sendo estas encontradas tanto em regiões tropicais (Moreira et al., 1993; Aguilar et al., 2001; Zilli et al., 2004; Hara & Oliveira, 2005; Jesus et al., 2005; Lima et al., 2005), quanto sub-tropicais (McInroy et al., 1999; Musiyiwa et al., 2005; Han et al., 2005 e Kaschuk et al., 2006); e a capacidade de estabelecer simbioses com diferentes plantas hospedeiras (Broughton et al., 2000) e ocupar diferentes nichos, nodulando raízes e caule (Dreyfus et al., 1988), e viver saprofiticamente (Kahindi et al., 1997; Palmer & Young, 2000; Depret et al., 2004). Além disso, diferentes gêneros e espécies podem ser obtidas de apenas uma planta (Lewin et al., 1987).

A capacidade das espécies de leguminosas estabelecerem relações simbióticas efetivas com bactéria é desconhecida em cerca de 77% das espécies leguminosas (11200 espécies); conseqüentemente, as características das espécies de rizóbio também são pouco conhecidas (Moreira, 2000). Esta corresponde à terceira maior família de plantas da Terra e essa ocorrência, em grande parte,

pode ser atribuída ao sucesso de leguminosas quanto à habilidade para formar simbiose com bactérias que fixam nitrogênio atmosférico (Moulin et al., 2001).

Por outro lado, considerando desde o primeiro relato de descrição dos simbiossomas que nodulam leguminosas até os dias atuais, há somente 12 gêneros indicados, como *Rhizobium* (Frank, 1889), *Bradyrhizobium* (Jordan, 1984), *Azorhizobium* (Dreyfus et al., 1988), *Sinorhizobium* (Chen et al., 1988), *Mesorhizobium* (Jarvis et al., 1997), *Allorhizobium* (de Lajudie et al., 1998), *Burkholderia* (Moulin et al., 2001), *Methylobacterium* (Sy et al., 2001), *Bastobacter* (van Berkun & Eardly, 2002), *Devosia* (Rivas et al., 2002), *Ralstonia* (Chen et al., 2001) e *Ochrobactrum* (Trujillo et al., 2005), com 48 espécies descritas. Pode-se verificar que há uma grande discrepância entre o número de espécies de leguminosas conhecidas em relação ao número de espécies de simbiossomas, o que indica a necessidade de mais estudos e pesquisas sobre o tema.

Se considerarmos a ocorrência das famílias botânicas presentes na Amazônia, a família *Leguminosae* é a mais rica em espécies e se encontra entre as cinco maiores em densidade de indivíduos, segundo dados compilados por Moreira et al. (1992). Moreira (1995), em um trabalho com 172 espécies de leguminosas nativas da Amazônia, verificou que 85% das espécies estudadas nodularam quando cultivadas em solo de várzea, sendo que, para 98 espécies, foram obtidos os primeiros registros de nodulação. Gehring et al., (2005) identificaram 157 espécies de leguminosas, numa região situada a 100 Km de Manaus, sendo que 78% destas tinham potencial para nodulação. A grande diversidade de espécies de leguminosas na Amazônia provavelmente pode refletir-se numa ampla diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.

Estudos objetivando identificar a ocorrência, diversidade e eficiência de BNL podem fornecer informações importantes sobre a ecologia destes microrganismos. Isto pode ser benéfico tanto em termos de manejo cultural,

visando estimular a sobrevivência das populações mais eficientes e mais específicas para determinadas culturas de interesse agrônomo e ambiental, quanto da obtenção de germoplasma mais adaptado às diferentes condições edafo-climáticas, como baixos valores de pH e temperaturas elevadas (predominantes nos solos brasileiros), uma vez que a simbiose é afetada por estas variáveis. Além disso, há possibilidade de obtenção de simbioses eficientes em fixar nitrogênio com culturas de interesse agrônomo (Moreira et al., 1993; Pereira, 2000; Lacerda et al., 2004). Segundo Lacerda et al., (2004), a inoculação com estirpes de rizóbios isoladas da região Amazônica (INPA 03-11b e UFLA 03-84), em experimento de campo, contribuiu de forma significativa para aumento (23,7 a 31,2%) no rendimento de grãos de caupi, em relação às plantas não inoculadas e não adubadas com N mineral, e ainda, algumas estirpes testadas foram mais eficientes que a estirpe BR 2001, recomendada em 1999 pela RELARE (Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola, 2000) e que atualmente foi substituída por estas.

Dessa forma, no conhecimento sobre a biodiversidade presente nos diferentes ecossistemas está a base do progresso biotecnológico esperado em diferentes áreas da ciência aplicada.

2.2 Relação entre alguns fatores bióticos e abióticos em ambientes edáficos e ocorrência de bactérias que nodulam leguminosas

2.2.1 Fatores abióticos

Bactérias são sensíveis a distúrbios como os introduzidos pelas práticas agrícolas e poluição, além de serem afetadas por uma série de fatores bióticos e abióticos. Assim, o estabelecimento de correlações entre estes, com a ocorrência

e diversidade bacteriana, pode contribuir para o entendimento sobre a qualidade do solo e o desenvolvimento de agroecossistemas sustentáveis (Kennedy, 1999).

Entre os fatores abióticos destacam-se a acidez do solo, representada pelo pH e fatores associados, como a presença de teores altos de alumínio e de manganês trocáveis. Um fator ligado à acidez que tem demonstrado grande importância é o alumínio trocável, que pode provocar uma redução na taxa de multiplicação do rizóbio (Andrade et al., 2002a), assim como afeta também o crescimento das plantas hospedeiras e o estabelecimento das simbioses entre ambos. Esses efeitos são ainda mais acentuados quando a disponibilidade de nutrientes como Ca e P é baixa (Kahindi et al., 1997) e também na ausência da planta hospedeira (Andrade et al., 2002a). Estas condições químicas são estressantes e, provavelmente, selecionam estirpes de rizóbio ineficientes em fixar nitrogênio e mais aptas apenas a sobreviverem saprofiticamente.

Em feijoeiro, os efeitos da alta concentração dos íons H^+ incluem morte do microssimbionte, como também má formação dos nódulos (Vargas & Graham, 1988). Hara & Oliveira (2005) identificaram o alumínio como fator mais limitante que a acidez para o crescimento dos isolados de rizóbio oriundos de solos álicos e ácidos em Presidente Figueiredo, AM. A exposição de isolados de bactérias que nodulam leguminosas à acidez diminui o crescimento destes microrganismos, sugerindo que alguns processos citoplasmáticos são sensíveis a esse fator (Aarons & Graham, 1991). Andrade et al. (2002b) identificaram baixa diversidade de BNL isoladas de feijoeiro em solos com alta saturação por alumínio. Contudo, Jesus (2004), ao avaliar a densidade de BNL isoladas de siratro cultivados com diluições de solo coletado na Amazônia, não verificou correlação entre estes fatores. O autor atribuiu tal comportamento ao teor de alumínio extraível, que provavelmente não tem correlação com o disponível.

Alguns mecanismos de tolerância à acidez são propostos para bactérias que nodulam leguminosas. Estirpe de *Rhizobium tropici* UMR 1899, quando

exposta ao pH ácido, produziu proteínas e incrementou o nível de K^+ celular, regulando o pH citoplasmático, o acúmulo de glutamato e a alteração da composição da membrana celular (Aarons & Graham, 1991). Segundo Watkin et al (2003), o teor adequado de K^+ no citoplasma pode auxiliar na sobrevivência da bactéria no nódulo e em concentrações de prótons sub-letais para a manutenção do pH interno da bactéria, através da troca de ânions, pelo mecanismo de transporte antiporte K-próton na membrana.

Outro fator abiótico que afeta a sobrevivência das bactérias nodulíferas no solo, pois interfere no processo de infecção, formação e retardo na nodulação, é a alta temperatura. Com base em diversos dados de literatura compilados por Straliootto & Rumjanek (1999), a temperatura crítica para a fixação biológica de nitrogênio varia de 30°C para trevo e ervilha, e entre 35 e 40°C para soja, amendoim e caupi. Assim, a tolerância a altas temperaturas é a característica principal a ser considerada em programas de seleção de rizóbios para regiões tropicais, onde as temperaturas no solo excedem 40°C e podem causar decréscimo nas taxas de fixação e nodulação (Hungria & Vargas, 2000).

O regime hídrico do solo também é considerado importante, já que os microrganismos necessitam de água para absorção de nutrientes e integridade celular (Moreira & Siqueira, 2002), e mesmo sob inundação, há relatos de ocorrência de nodulação em soja (Pires et al., 2002).

Outros fatores abióticos característicos do solo, como a textura, a porosidade, a agregação e os teores de nutrientes podem também contribuir para a variação da densidade das populações de BNL (Moreira & Siqueira, 2002).

2.2.2 Fatores bióticos

Grande parte dos microrganismos do solo são heterotróficos e participam do processo de decomposição da material orgânico. Mudanças na qualidade e quantidade de compostos exudados, assim como na composição do

tecido vegetal, provocadas por mudanças na diversidade de plantas, podem alterar a distribuição, densidade, atividade e diversidade de microrganismos constituintes da micro, meso e macrofauna edáfica (Wardle & Lavelle, 1997; Dakora, 2003).

As plantas, através da exploração do solo pelas raízes, exudação de compostos orgânicos na rizosfera, podem controlar parâmetros abióticos do solo, como concentração de nutrientes e umidade do solo, que podem modificar indiretamente a atividade e a diversidade microbiana (Paul & Clark, 1989). Por causa destas interações complexas entre plantas, fauna, e por fatores abióticos, a descrição das mudanças na estrutura de comunidade de planta afetando os organismos edáficos pode ser difícil de prever. Apesar desta complexidade, é necessário o entendimento sobre estes efeitos para estabelecimento destas relações.

Bactérias que nodulam leguminosas (BNL) são isoladas de uma ampla gama de espécies que habitam diferentes ecossistemas, sendo que as comunidades destes microrganismos variam consideravelmente com a presença de determinada espécie hospedeira no ecossistema (Martins et al., 1997; Andrade et al., 2002b; Ballard et al., 2004). Isto é devido ao estímulo das plantas, proporcionado pela exudação de compostos orgânicos na rizosfera (Dakora, 2003), podendo essas ser isoladas de solos rizosféricos de culturas como o trigo, a cevada e o milho (Depret et al., 2004; Schmalenberger & Tebbe, 2003).

Coutinho et al. (1999) observaram que amostras derivadas de solos sob pastagem não cultivados com leguminosas apresentaram maior diversidade destas bactérias que em áreas de cultivo de soja. As leguminosas também apresentam a capacidade de modificar o pH rizosférico (Muofhe & Dakora, 2000), podendo interferir na disponibilidade de nutrientes (Dakora, 2003),

estimulando ou não determinados grupos de microrganismos no ambiente rizosférico.

Vários compostos fenólicos exudados por leguminosas que estabelecem simbiose, como o luteolin, 4', 7-dihydroxyflavanone 4', 7-dihydroxyflavone, são capazes de induzir os genes nod. Já o quercetin estimula o crescimento das BNL (Hartwing et al., 1991). Em cultivos consorciados, e também em rotações de culturas considerando leguminosas e gramíneas, os flavonóides exudados nas raízes de ambas as plantas podem estimular a multiplicação de BNL em solos com baixa densidade destes microrganismos. Assim, plantios mistos favorecem a sobrevivência, multiplicação e diversidade destas bactérias em ambientes edáficos.

2.3 Impacto dos diferentes sistemas de uso do solo sobre as bactérias que nodulam leguminosas

O solo pode ser considerado um dos habitats mais complexos, heterogêneos e dinâmicos quando comparado aos demais. Devido a estas características peculiares, serve de meio para uma grande diversidade de organismos que são capazes de conviver em equilíbrio dinâmico. Estes muitas vezes estabelecem relações de sobrevivência, que podem ser tanto negativas quanto positivas, limitando as explosões populacionais (Moreira & Siqueira, 2002).

Entre as populações de microrganismos que habitam o solo, as BNL podem viver de forma saprofítica ou estabelecer relações que incluem competição por nutrientes e pelos sítios de nodulação nas raízes do hospedeiro, predação, parasitismo e sofrer inibição pela antibiose (Pereira et al., 1999).

Com as alterações promovidas pelo manejo do solo, mudanças na composição da vegetação, disponibilidade de nutrientes, estrutura do solo e teor de umidade, entre outros atributos edáficos, são verificadas. Dessa forma, as

relações entre as comunidades de microrganismos também sofrem alterações, uma vez que uns podem ser mais favorecidos que outros em relação às novas condições ambientais predominantes.

Do ponto de vista ecológico, a fixação biológica de nitrogênio simbiótica é um processo de adaptação para uma situação de balanço de nitrogênio desequilibrado, já que as leguminosas apresentam poucos nódulos em ecossistemas naturais e equilibrados, e nodulam absolutamente bem em condições de cultivo nas quais o nitrogênio é limitante (Magalhães et al., 1982).

Zilli et al. (2004) também atribuem a carência de nódulos coletados em solos sob vegetação clímax ao baixo requerimento por N, que não é considerado um fator limitante nestas condições. Em solos sob floresta primária, tal fato também pode ser atribuído à falta do hospedeiro, que condiciona as células a se adaptarem às condições saprofíticas, em que coexistem com a grande diversidade de microrganismos edáficos (Borneman & Triplett, 1997), e ao fato de que muitas espécies ocupam o mesmo nicho ecológico, havendo, assim, provavelmente, uma baixa densidade das populações de bactérias simbióticas. Resultados semelhantes, em florestas clímax na Amazônia, foram encontrados por Magalhães et al. (1982), Bonetti et al. (1984), Moreira et al. (1992), Pereira (2000) e Jesus et al. (2005); em solo sob em cerrado nativo no nordeste brasileiro, por Zilli et al. (2004); e em floresta tropical úmida na África, por Fening & Danso (2002).

Em um trabalho realizado na França, por Depret et al. (2004), o impacto do tempo da monocultura sobre a diversidade genética de *R. leguminosarum* bv. *viciae* foi dependente da espécie cultivada e/ou das práticas agronômicas envolvidas. O cultivo de milho, em contraste com outros manejos, incluindo monocultura de trigo, decresceu a diversidade de *R. leguminosarum* bv. *viciae*, mas sua abundância não foi afetada após 11 anos de cultivo contínuo de milho. A monocultura de milho selecionou um subgrupo específico de *R.*

leguminosarum bv *viciae* independente do ambiente edáfico; porém, mais estudos foram sugeridos para avaliar o risco da perda do potencial de FBN devido ao decréscimo da diversidade.

Palmer & Young (2000) compararam a diversidade genética de BNL, após o longo tempo de cultivo convencional, em relação a pradarias nativas e concluíram que a diversidade de *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* foi maior nos solos cultivados que em solos sobre pradarias.

Ferreira et al. (2000), avaliando os efeitos dos métodos de cultivo e seus efeitos sobre o tamanho e a diversidade de *Bradyrhizobium* que nodula soja em solos cultivados no Paraná, concluíram que o uso de práticas agrícolas como o pousio e a rotação de culturas com leguminosas não só contribui para sustentabilidade agrícola, como também para a manutenção da diversidade e da população de *Bradyrhizobium*. Práticas agrícolas que melhorem as condições do ambiente edáficos, como minimização da acidez do solo, também estimulam a diversidade de rizóbios que nodulam o feijoeiro (Andrade et al., 2002b).

Zilli et al. (2004), avaliando a diversidade de rizóbios que nodulam caupi em áreas de cerrado do nordeste brasileiro, através de ARDRA (Análise de Restrição de DNA Ribossomal Amplificado), mostraram que no cerrado nativo somente foram encontrados isolados de *B. elkanii*. Nas áreas em que haviam sido cultivadas leguminosas ocorreram duas situações distintas: onde somente se cultivou soja, houve maior proporção de *B. japonicum*; e onde se cultivaram soja e caupi, ocorreu maior proporção de *B. elkanii*, sendo observada menor diversidade em áreas com maior número de cultivos de caupi e soja. Os autores sugeriram que a presença das leguminosas pode favorecer condições ecológicas específicas, nas quais determinados grupos de rizóbios adquirem características competitivas importantes para seu estabelecimento.

Kaschuk et al. (2006) avaliaram a diversidade de rizóbios em solos cultivados com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre sistema de cultivo

convencional e plantio direto em relação a gramíneas nativas utilizadas para a pastagem, em Santa Catarina, através da amplificação do DNA por PCR (reação em cadeia da polimerase) com primers específicos para na análise da região 16S rDNA. A diversidade genética dos isolados de rizóbio foi maior no plantio direto em relação ao convencional, o que indica maior capacidade saprofítica dos simbiontes oriundos dos solos sobre o plantio direto. A diversidade genética em pastagens nativas foi menor que nos sistemas cultivados, possivelmente devido à ausência da planta hospedeira e à queimada no inverno.

Pereira (2000), avaliando diferentes manejos do solo, como monocultura, sistema agroflorestal, pastagem capoeira e floresta na Amazônia, sobre a diversidade e eficiência de populações de bactérias que nodulam leguminosas, verificaram que a pastagem foi o sistema de manejo que proporcionou maiores valores para estas variáveis devido a apresentar melhores condições químicas, como maiores valores de pH e saturação de bases e menores de Al^{3+} . Contudo, na floresta primária, ambiente em que foi obtido o menor número de isolados, houve maior diversidade de espécies que nodulam leguminosas em relação aos demais sistemas de uso. Isto pode ser devido ao fato de que solos sob floresta não estão submetidos a praticamente nenhuma perturbação antrópica, e ainda à adaptação de populações de bactérias que nodulam leguminosas a estresses químicos edáficos, pois, na natureza, a seleção de organismos é conduzida para sobrevivência e não para eficiência. No entanto, a autora ressalta que estas interpretações precisam ser criteriosas, uma vez que a planta isca utilizada para o isolamento das bactérias influencia nos resultados encontrados. Tal fato pode ser atribuído ao estímulo ou não para o estabelecimento da simbiose, que tem como etapas fundamentais a pré-infecção (envolve o reconhecimento e interação entre a espécie de planta hospedeira e o simbionte), a infecção da planta pela bactéria e a formação e funcionamento do nódulo (fixação biológica do nitrogênio).

Jesus et al. (2005) encontraram uma ampla diversidade de grupos culturais de BNL em solos cultivados com pupunha, mandioca e da floresta primária na região do Alto Solimões, na Amazônia. Nas áreas cultivadas com mandioca foi registrada a maior diversidade, indicando que os sistemas de uso alteraram as comunidades de BNL.

Na Amazônia, assim como nas demais regiões brasileiras, poucos estudos foram realizados com o objetivo de pesquisar o impacto do manejo sobre os ecossistemas edáficos, considerando a diversidade de grupos de organismos específicos como as BNL. Neste sentido, ao considerarmos a grande diversidade de ecossistemas presentes, é de se esperar, também, uma grande diversidade de BNL. Assim, as modificações introduzidas pelo cultivo podem fornecer informações importantes para o entendimento da ocorrência e diversidade e ecologia de bactérias que nodulam leguminosas.

Em síntese, trabalhos que avaliaram o impacto do manejo sobre grupos específicos de bactérias em diferentes regiões do Brasil e do mundo constataram o efeito estimulante do cultivo sobre a diversidade de BNL e que determinadas espécies de plantas cultivadas também exercem efeitos diferenciados sobre estas bactérias, ora estimulando a ocorrência e diversidade, ora não.

2.4 Métodos e índices para a avaliação da riqueza e diversidade de bactérias que nodulam leguminosas

2.4.1 Métodos

A utilização de características culturais para identificação dos isolados, apesar das sofisticadas técnicas moleculares, ainda é extremamente útil, principalmente em países que não possuem condições de utilizar tecnologias de alto custo. Além disso, estudos bioquímicos e fisiológicos são básicos para detalhar a taxonomia polifásica dos isolados (Maatallah et al., 2002). Dentre as características culturais que podem ser avaliadas têm-se produção de

exopolissacarídeos, tamanho, formato, cor, tempo de formação de colônias isoladas e alteração do pH do meio de cultura (Vincent, 1970; Odee et al., 1997; Martins et al., 1997). Através destas características, os gêneros de rizóbio descritos até o momento podem ser diferenciados com base em características culturais e morfológicas em meio de cultura 79 (Fred & Waksman, 1928). Conforme abordado por Moreira (1991), as características culturais dos gêneros de *Rhizobium* e *Sinorhizobium* neste meio de cultura são colônias circulares com 2 a 4 mm de diâmetro, quando isoladas, produção intensa de polissacarídeos extracelulares (PEC), convexas, translúcidas e mucilaginosas. Muitas espécies apresentam centro amarelo devido à absorção do indicador de pH (azul de bromotimol- AB). Geralmente produzem reação ácida no meio, mas podem não produzir modificação visível do pH. O tempo de aparecimento de colônias isoladas (TACI) varia de dois a três dias, correspondendo aos gêneros de crescimento rápido. O gênero *Mesorhizobium* apresenta todas as descrições anteriores, mas com TACI entre três e cinco dias, podendo ser de crescimento rápido a intermediário. *Allorhizobium* também apresenta as mesmas características anteriores, variando apenas no tamanho das colônias, que são de 0,5 a 3 mm de diâmetro, e TACI de um a dois dias. Já *Azorhizobium* apresenta colônias circulares de 0,5 mm, com coloração creme, pouca produção de PEC, alcalinizando o meio de cultura, com TACI variando entre três e quatro dias (crescimento intermediário a rápido). Estirpes de *Bradyrhizobium* têm colônias circulares que não excedem 1 mm quando isoladas. A produção de PSE varia de pouco (geralmente em isolados de crescimento muito lento) a abundante, geralmente opacas, menos frequentemente translúcidas, sendo brancas, convexas, textura granular e produzem reação alcalina no meio. O TACI varia entre seis e dez dias (crescimento lento a muito lento).

As diversas técnicas que podem ser utilizadas para a avaliação da diversidade de bactérias podem se basear em características fenotípicas ou em

características genotípicas. Alguns exemplos de técnicas que podem ser utilizadas para a caracterização e para a avaliação da diversidade de microrganismos são a avaliação de características culturais, proteína total por SDS-PAGE (dodecil sulfato de sódio - gel de poliacrilamida-PAGE); a avaliação da composição celular de ácidos graxos, perfil de proteínas total, RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, ou seja, DNA polimórfico amplificado aleatoriamente), que utiliza “primers” (oligonucleotídeos) com seqüências arbitrárias para iniciar a cópia e amplificação do DNA molde, RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, polimorfismo pelo tamanho dos fragmentos de restrição). ITS- PCR (espaço intergênico do rDNA) - (“*Polymerase Chain Reaction*”, reação em cadeia da polimerase, AFLP (“*Amplified Fragment Length Polymorphism*”, polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados), Hibridização DNA-DNA, diversidade e filogenia dos genes *nodC* e *nifH* (Harrison et al., 1992; Laguerre et al., 1993; Laguerre et al., 1994; Bruijn, 1997; Odee et al., 1997; Vinuesa et al., 1998; Moreira et al., 1993; Parker e Lunk, 2000; Lima et al., 2005; Laguerre et al., 2001).

2.4.2 Índices de diversidade

A grande maioria dos métodos propostos para avaliar a diversidade das espécies se refere à diversidade alfa dentro das comunidades. Para diferenciar os métodos em função das variáveis biológicas, Moreno (2001) os subdividiu em dois grandes grupos: a) Métodos baseados na quantificação do número de espécies presentes (riqueza específica); e b) Métodos baseados na estrutura das comunidades para avaliar a distribuição proporcional do valor de importância de cada espécie (abundância relativa dos indivíduos, sua biomassa, cobertura, produtividade, etc). Segundo Moreno (2001), se entendermos a diversidade como resultado de um processo evolutivo que se manifesta com a existência de diferentes espécies dentro de um habitat particular, uma simples contagem do

número de espécies diferentes dentro deste habitat (índice de riqueza específica) seria suficiente para descrever a diversidade alfa, sem a necessidade de uma avaliação do valor de importância de cada espécie dentro da comunidade.

No caso de populações de bactérias que nodulam leguminosas, a determinação do número total de espécies não é possível devido às limitações dos métodos de captura a partir de nódulos obtidos após a inoculação do substrato, incluindo a própria planta-isca e fatores bióticos e abióticos, que também influenciam na ocorrência ou não da nodulação da planta hospedeira. Segundo Mc Innes et al. (2004), alguns índices têm sido utilizados para representar a diversidade de isolados de bactérias que nodulam leguminosas, como os de Shannon-Weaver e Simpson. Exemplos de tais aplicações podem ser verificados nos trabalhos de Coutinho et al (1999), que além de utilizarem o índice de Shannon-Weaver para estimar a diversidade de 31 isolados, utilizaram uma adaptação do método do quadrado médio, consistindo de 300 sorteios dos dados e cálculo do índice de diversidade em uma curva com dados acumulados; Zilli et al. (2004), que com base em características dos grupos culturais de 230 isolados de caupi utilizaram o índice de Shannon-Weaver para estimar a diversidade destes isolados; e Mc Innes et al. (2004), que utilizando índices de riqueza de Shannon-Weaver em dados de diversidade de vários trabalhos publicados, mostraram que as populações de bactérias que nodulam leguminosas nativas são frequentemente estruturadas e geneticamente diversas.

Enquanto o uso de índices de riqueza de estirpes tem facilitado uma comparação ampla nos estudos de bactérias que nodulam leguminosas, derivados de várias espécies hospedeiras e locais, as limitações dos índices também são evidenciadas. A relação matemática entre o número de estirpes identificadas e o número de isolados recuperados é assumida ser linear para estes índices. Contudo, Handley et al. (1998) plotaram estas relações para seis

populações de *R. leguminosarum* bv *viciae* e uma variedade de curvas foi obtida (Figura 1).

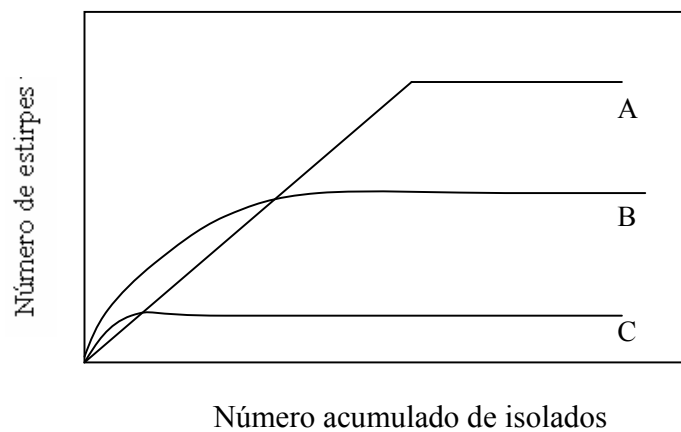


FIGURA 1 Relação entre o número de estirpes identificadas e o número acumulado de isolados recuperados de populações ou comunidades de rizóbio (compilado de Handley et al., 1998). Significados das letras encontram-se no texto.

As Curvas A, B, C são baseadas em populações de *R. leguminosarum* bv *viciae* por Handley et al. (1998) e assume-se que todas as populações de bactérias que nodulam leguminosas e comunidades contêm um número finito de estirpes. A curva A indica que os isolados de rizóbios são altamente diversos, resultando numa relação exponencial, e após a assíntota, há uma relação de estabilidade entre o número de estirpes identificadas e o número de isolados recuperados. Na curva B, há uma relação curvilínea em que a parte inicial da curva é íngreme, indicando freqüente recuperação de novas estirpes em relação ao número de isolados acumulados. Contudo, com o aumento do número de isolados amostrados, a curva achata-se, indicando que estirpes já identificadas

foram reamostradas. A curva C é similar à curva B, mas os isolados apresentam menor riqueza. Segundo Mc Innes et al. (2004), as curvas de riqueza de estirpes podem ser utilizadas para comparações entre tratamentos em populações ou comunidades dentro do mesmo estudo, cujas seguintes vantagens sobre índices de riqueza são destacadas: a) curvas de riqueza de estirpes podem identificar parte, ou a maioria das estirpes que são recuperadas das comunidades e populações amostradas; b) diferenças entre a riqueza de estirpes entre sítios múltiplos são realmente aparentes e podem ser comparadas usando análise de regressão; c) há variação no número total de isolados recuperados de cada população; d) o número acumulado de estirpes pode ser plotado, indicando se a amostragem espacial foi adequada.

2.5 Análises multivariadas em estudos de caracterização do solo e da diversidade de bactérias que nodulam leguminosas

A análise de dados é parte essencial para a interpretação dos resultados gerados na pesquisa, e quando for baseada na avaliação de apenas uma única variável, que é medida sistematicamente, é denominada univariada. Tal análise é comumente aplicada nos diversos ramos da pesquisa em Ciência do Solo, incluindo comparações entre atributos químicos, físicos, análises de plantas sob diferentes tratamentos, entre outros, tendo uma aceitação ampla em todas as áreas das Ciências Agrárias.

Contudo, sua utilização torna-se muito limitada quando se tem um grande número de variáveis a serem analisadas em um só experimento. Isto acontece porque a análise individual de cada uma dessas variáveis gera dificuldade na interpretação dos dados e, conseqüentemente, no estabelecimento das conclusões, uma vez que as tendências observadas nas variáveis submetidas a um mesmo tratamento podem ser discrepantes ou contraditórias. A análise multivariada, nestes estudos, tem maior aplicabilidade, pois, segundo Ferreira

(1996), permite a redução de dados ou simplificação estrutural - o fenômeno sob estudo é representado da maneira mais simples possível, sem sacrificar informações valiosas e tornando as interpretações mais simples; a ordenação e o agrupamento de tratamentos ou variáveis similares, baseados em dados amostrais ou experimentais; a investigação da dependência entre variáveis; a predição: relações entre variáveis devem ser determinadas para o propósito de predição de uma ou mais variável com base na observação de outras variáveis; a construção e o teste de hipóteses.

2.5.1 Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) é uma técnica multivariada proposta por Pearson, em 1901, e desenvolvida por Hotelling, em 1933, para aplicação, originalmente, em variáveis quantitativas. Entre os métodos descritivos exploratórios, a ACP tem por finalidades básicas a redução de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais; a determinação de combinações lineares de variáveis; a seleção de fatores como a escolha de variáveis mais úteis; a visualização de dados multidimensionais e a identificação de grupos de objetos. Esta análise, de ampla utilização em ecologia e em ciências florestais, vem sendo aplicada em estudos de solo, auxiliando nas interpretações e tendências observadas. Assim, os componentes principais são uma técnica de análise intermediária, a qual, portanto, não constitui um método final e conclusivo. Esse tipo de análise se presta fundamentalmente como um passo intermediário em grandes investigações científicas (Ferreira, 1996). Na atualidade, é mais utilizada para a síntese de dados ambientais, ou seja, na ordenação de sítios a partir de variáveis ambientais (Kent & Coker, 1992), podendo ser utilizada para auxiliar na caracterização de atributos físicos, químicos e mineralógicos de solos (Alvarenga & Davide, 1999; Gomes et al., 2004) e estudo de contaminantes no solo (Golobocanin et al., 2004). Como

exemplo de seu uso com variáveis de solo podem ser citados os estudos com padrões regionais de diferenciação de solos na Amazônia colombiana (Lips & Duivenvoorden, 1996), o regime de nutrientes em diferentes solos florestais de uma costa montanhosa do Canadá (Splechna & Klinka, 2001), as relações entre propriedades abióticas e bióticas do solo durante períodos de pousio no Senegal (Manlay et al., 2000) e a discriminação de classes de vegetação na Mata Atlântica (Freitas & Cruz, 2005).

O princípio da ACP está na rotação ortogonal dos eixos cartesianos, preservando a variância contida nos eixos originais. É estabelecida com base em uma matriz de semelhança (correlações, variâncias-covariâncias ou até mesmo de similaridades), um conjunto de eixos (componentes ou fatores) perpendiculares. Cada componente corresponde a um autovetor dessa matriz. Assim, com base em uma matriz de correlação entre m variáveis, serão calculados m autovetores (= eixos fatoriais) de comprimento $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \dots, \lambda_m$, decrescentes em razão da sua contribuição à variância total dos dados. Esses comprimentos são proporcionais os m autovetores (=raízes latentes) da matriz. Desse modo, o primeiro eixo da ACP, sobre o qual serão ordenadas as amostras, representará a maior parte da variação dos dados. O resultado disso é um sistema reduzido de coordenadas, proporcionando informações sobre as semelhanças das amostras (Dias, 1998; Valentin, 2000).

2.5.2 Análise Canônica

Outro método estatístico multivariado que facilita a interpretação dos dados é a análise de correlação canônica diferente da análise de componentes principais, pois o foco é no conjunto de variáveis (Abreu & Veter, 1978). Esta análise procura identificar e quantificar as associações entre dois conjuntos de variáveis. Uma coleção de variáveis é particionada em dois conjuntos ($X^{(1)}, X^{(2)}$), cujo objetivo é encontrar combinações lineares $U=a^tX^{(1)}$ e $V=b^tX^{(2)}$, de modo

que U e V tenham maior correlação possível. Essas combinações lineares podem dar uma visão das relações entre os dois conjuntos de variáveis.

Basicamente, o procedimento necessário para realizar uma análise da correlação canônica resume-se em determinar o par de combinações lineares que tem a maior correlação entre todos os pares não correlacionados com o par selecionado inicialmente. Assim, não existirá nenhuma outra combinação linear de variáveis em que a correlação seja menor que essa. Os pares de combinações lineares são denominados de variáveis canônicas e suas correlações, de correlações canônicas.

Assim, a aplicabilidade dessa análise é ampla, podendo ser utilizada em estudos exploratórios. Assim com em um conjunto grande de variáveis pode-se estudar somente umas poucas combinações lineares de variáveis, poder-se-á, então, estudar aquelas combinações lineares cuja correlação é mais elevada. Como exemplos de trabalhos na área da Ciência do Solo pode-se citar um estudo sobre as características indicativas de sensibilidade do arroz ao alumínio em que as correlações canônicas se mostraram eficientes para a obtenção de combinações lineares capazes de relacionar características vegetativas medidas em solução nutritiva, e produtividades em campo, fornecendo, assim, combinações estruturalmente simples, de elevada correlação e significância (Vicente et al., 1998). Em outro trabalho, Bulluck et al. (2002) determinaram a influência de fertilizantes orgânicos e sintéticos nas propriedades físicas químicas e biológicas de solos sob cultivo convencional e orgânico.

2.5.3 Análise de agrupamento “cluster”

Na análise dos dados, principalmente quando se considera um grande número de variáveis analisadas, há uma tendência natural de se agruparem as amostras de mesma característica objetivando descrever, da maneira mais clara e sintética possível, o padrão ou comportamento observado. Assim, a análise de

agrupamento é considerada ferramenta básica para a classificação de n itens diversos (populações, clones, variedades, indivíduos, etc.).

A caracterização de um grande número de isolado de bactérias através de análise fenotípica numérica é realizada muitas vezes utilizando o critério de agrupamento para a seleção de isolados representativos, que serão a seguir analisados quanto a outras características, como análise de métodos genotípicos ou fenotípicos mais complexos e dispendiosos e características simbióticas (Straliozzo & Rumjanek, 1999).

Segundo Valentin (2000), agrupar objetos consiste em reconhecer entre eles um grau de similaridade suficiente para reuni-los num mesmo conjunto. As etapas de uma análise de agrupamento são as seguintes:

- 1- Coleta e organização dos dados que serão reunidos numa tabela com m colunas (descritores) e n linhas (objetos).
- 2- Escolha do modo de análise: modo Q (agrupamento de objetos) ou modo R (agrupamento de descritores), de acordo com o objetivo do trabalho.
- 3- Escolha do coeficiente de associação (similaridade, distância, dependência).
- 4- Escolha do método de agrupamento, que depende de critérios baseados no menor grau de distorção, e sua capacidade de evidenciar melhor a estrutura dos dados.
- 5- Elaboração e interpretação do dendrograma.

As interpretações de análises microbiológicas através de agrupamento de dados de descrição de características fenotípicas (morfológicas, fisiológicas, perfil de proteínas) permitem comparar um grande número de isolados e verificar possíveis similaridades e diferenças entre eles. Isto é possível devido à análise conjunta dos dados utilizando métodos estatísticos de avaliação das

diferenças e similaridades entre os microrganismos, de uma forma menos subjetiva e mais rigorosa, fornecendo medidas quantitativas de similaridade.

Maatallah et al. (2002) utilizaram análise de agrupamento e identificaram 5 grupos fenotípicos de bactéria que nodulam leguminosas a 82% de similaridade. Lima et al. (2005), ao avaliarem a diversidade fenotípica (SDS-PAGE) de 46 estirpes isoladas da Amazônia, formaram 11 grupos ao nível de similaridade de 80%, dos quais apenas um grupo continha a estirpe referência de *B. elkanii* (BR 29), recomendada como inoculante para a soja. Jesus (2004), com base em dendrogramas de similaridade entre isolados de bactérias que nodulam leguminosas, constatou que foi possível o cálculo de ajustes de distribuições de abundância e dos índices de diversidade para os grupos formados a 80%. Hungria et al. (2001) utilizaram 20 parâmetros morfológicos e fisiológicos para o agrupamento de isolados de bactéria que nodulam leguminosas de crescimento rápido objetivando a caracterização preliminar.

Assim, as análises multivariadas auxiliam no levantamento preliminar da diversidade presente no ambiente e o efeito conjunto de múltiplas variáveis edáficas que reconhecidamente afetam a diversidade e ocorrência dos organismos.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARONS, S.R.; GRAHAM, P.H. Response of *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* to acidity. **Plant and Soil**, v.13, n.4/1, p.145-151, 1991.

ABREU, M.A.; VETTER, D. A análise de relações entre conjuntos de variáveis na matriz geográfica: correlação canônica. In: FAISSOL, S. **Tendências atuais na geografia urbana/regional: teorização e quantificação**. Rio de Janeiro: IBGE, 1978. p.133-144.

AGUILAR, O.M; LÓPEZ, M.V.; RICCILLO, P.M. The diversity of rhizobia nodulating beans in Northwest Argentina as a source of more efficient inoculant strains. **Journal of Biotechnology**, v.91, n.2-3, p.181-188, 2001.

ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. 756p.

ALVARENGA, M.I.N.; DAVIDE, A.C. Características físicas e químicas de um latossolo vermelho-escuro e a sustentabilidade de agroecossistemas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.4, p.933-942, 1999.

ANDRADE, D.S.; MURPHY, P.J.; GILLER, K.E. Effects of liming and legume/cereal cropping on populations of indigenous rhizobia in an acid Brazilian Oxisol. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p.477-485, 2002a.

ANDRADE, D.S.; MURPHY, P.J.; GILLER, K.E. The diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brasil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.1, p.4025-4034, 2002b.

BALLARD, R.A. et al. Size, symbiotic effectiveness and genetic diversity of field pea rhizobia (*Rhizobium leguminosarum* bv *viciae*) populations in south Australian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.1347-1355, 2004.

BONETTI, R.; OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, F.M.M. População de *Rhizobium* spp. e ocorrência de micorriza VA em cultivos de essências florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.139-139, 1984. Edição especial.

BORNEMAN, J.; TRIPLETT, E.W. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: Evidence for unusual microorganisms and microbial populations shifts associated with deforestation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, n.7, p.2647-2653, 1997.

BROUGHTON, W.J. et al. Organization, transcriptional and functional analysis of the *Rhizobium* sp. NGR 234 genome. In: PEDROSA, F.O. et al. (Ed.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p.271-274.

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

BULLUCK III, L.R. et al. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. **Applied Soil Ecology**, v.19, n.2, p.147-160, 2002.

CHEN, W.M. et al. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov. isolated from nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.1729-1735, 2001.

CHEN, W.X.; YAN, G.H.; LI, J.L. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.38, p.392-397, 1988.

COUTINHO, H.L.C. et al. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, v.13, p.159-167, 1999.

DAKORA, F.D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. **New Phytologist**, v.158, p.39-49, 2003.

de La CRUZ, F.; DAVIES, J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. **Trends in Microbiology**, v.8, n.3, p.128-141, 2000.

de LAJUDIE, P. et al. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. **International journal of Systematic Bacteriology**, v.48, p.369-382, 1998.

DEPRET, G. et al. Long-term effects of crop management on *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* populations. **FEMS Microbiology Ecology**, v.51, n.1, p.87-97, 2004.

DIAS, L.A.S. **Análises multidimensionais**. In: ALFENAS, A.C. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins. Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, MG: UFV, 1998. 574p.

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

ELHASSAN, G.A.; FOCHT, D.D. Comparison of inoculant and indigenous rhizobial dinitrogen fixation in cowpea by direct nitrogen-15 analyses. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.50, n.4, p.923-927, 1986.

FENING, J.O.; DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.23-29, 2002.

FERREIRA, D.F. **Análise multivariada**. 1996. 400p. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/dex522.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2006.

FERREIRA, M.C. et al. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, v.32, p.627-637, 2000.

FRANK, B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v.7, p.332-346, 1889.

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. **Laboratory manual of general microbiology**. New York: McGraw-Hill Book, 1928. 143 p.

FREITAS, S.R.; CRUZ, B.M. Análise de componentes principais e modelo linear de mistura na discriminação de classes de vegetação na Mata Atlântica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: INPE, 2005. p.1529-1536.

GASTINE, A.; SCHERER-LORENZEN, M.; LEADLEY, P.W. No consistent effects of plant diversity on root biomass, soil biota and soil abiotic conditions in temperate grassland communities. **Applied Soil Ecology**, v.224 p.101–111, 2003.

GEHRING, C. et al. Biological nitrogen fixation in secondary regrowth and mature rainforest of central amazonia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.111, p.237-252, 2005.

GOLOBOCANIN, D.D.; SKRBIC, B.D.; MILJEVIC, N.R. Principal component analysis for soil contamination with PAHs. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.75, p.219-223, 2004.

GOMES, J.B.V. et al. Análise de componentes principais de atributos físicos, químicos e mineralógicos de solos do bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, n.1, p.137-153, 2004.

HAN, S.Z.; WANG, E.T.; CHEN, W.X. Diverse bacteria isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* and species within the genera *Campylotropis* and *Cassia* grown in China. **Systematic and Applied Microbiology**, v.28, n.3, p.265-276, 2005.

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

HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p.667-672, 2005.

HARRISON, S.P. et al. Characterization of *Rhizobium* isolates by amplification of DNA polymorphisms using random primers. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, n.12, p.1009-1015, 1992.

HARTWING, U.A.; JOSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. Flavonoids released naturally from alfafa seeds enhance growth of *Rhizobium melilot*. **Plant Physiology**, v.95, p.797-803, 1991.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics with an emphasis on Brazil. **Field Crops Res.**, v.65, p.151-164, 2000.

- HUNGRIA, M. et al. Preliminary characterization of soyabean nodules in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.1349-1361, 2001.
- JARVIS, B.D.W. et al. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.47, p.895-898, 1997.
- JESUS, E.C. **Diversidade de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de três sistemas de uso da terra na região do Alto-Solimões – AM**. 2004. 114p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- JESUS, E.C. et al. Diversidade de bactérias que nodulam siratro em três sistemas de uso da terra da Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.8, p.769-776, ago. 2005.
- JORDAN, D.C. Rhizobiaceae Conn 1938. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.D. BERGEY'S. **Manual of systematic bacteriology**. London: Williams and Wilkins, 1984. p.234-244.
- KAHINDI, J.H.P. et al. Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria. **Applied Soil Ecology**, v.6, p.55-76, 1997.
- KASCHUK, G. et al. Differences in common bean rhizobial populations associated with soil tillage management in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v.87, n.2, p.205-217, 2006.
- KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.74, p.65-76, 1999.
- KENT, M.; COKER, P. **Vegetation description and analysis**. Baffins Lane: J. Wiley, 1992. 363p.
- LACERDA, A.M. et al. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão caupi. **Revista Ceres, Viçosa**, v.51, n.293, p.67-82, 2004.
- LAGUERRE, G.; BARDIN, M.; AMARGER, N. Isolation from soil of symbiotic and nonsymbiotic *Rhizobium leguminosarum* by DNA hybridization. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, p.1142-1149, 2001.

- LEWIN, A. et al. Multiple host-specificity loci of the broad host-range *Rhizobium* sp. NGR234 selected using the widely compatible legume *Vigna unguiculata*. **Plant Molecular Biology**, v.8, n.6, p.447-459, 1987.
- LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.M.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Isoladas de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.40, n.11, p.1095-1104, 2005.
- LIPS, J.M.; DUIVENVOORDEN, J.F. Regional patterns of well drained upland soil differentiation in the middle Caquetá basin of Colombian Amazonia. **Geoderma**, v.72, p.219-257, 1996.
- MAÂTALLAH, J. et al. Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum*) growing in Moroccan soils. **Agronomie**, v.22, p.321-329, 2002.
- MAGALHÃES, F.M.M. et al. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus, AM. **Acta Amazônica**, Manaus, v.12, n.3, p.509-514, 1982.
- MANLAY, R.J. et al. Relationships between abiotic and biotic soil properties during fallow periods in the sudanian zone of Senegal. **Applied Soil Ecology**, v.14, p.89-101, 2000.
- MARTINS, L.M.V.; NEVES, M.C .P.; RUMJANEK, N.G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east region of Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.1005-1010, 1997.
- MCINNES, A. et al. Structure and diversity among rhizobial strains, populations and communities- a review. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, n.1295-1308, 2004.
- MCINROY, S.G. et al. Characterization of rhizobia from African acacias and other tropical woody legumes using Biolog™ and partial 16S rRNA sequencing. **FEMS Microbiology Letters**, v.170, n.1, p.111-117, 1999.
- MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.2, p.230-243, 2006.

MOREIRA, F.M.S. **Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica**. 1991. 152 p. Tese (Doutorado)–Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro.

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

MOREIRA, F.M.S. Biodiversity of rhizobia from a wide range of forest *Leguminosae* species in Brazil. In: PEDROSA; F. et al. (Ed.). Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity. Dordrecht, Holanda. Kluwer Academic Publishers: 2000, p.181-182.

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

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

MOREIRA, F.M.S. et al. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic and Applied Microbiology**, New York, n.1, v.16, p.135-146, 1993.

MORENO, C.E. **Métodos para medir la biodiversidad**. Zaragoza, 2001. 84p. (M&T- Manuales y Tesis SEA, 1).

MOULIN, L. et al. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of proteobacteria. **Nature**, London, v.411, n.6850, p.948-950, 2001.

MUSIYIWA, K.; MPEPEREKI, S.; GILLER, K.E. Symbiotic effectiveness and host ranges of indigenous rhizobia nodulating promiscuous soyabean varieties in Zimbabwean soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, n.6, p.1169-1176, 2005.

ODEE, D.W. et al. Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. **Plant and Soil**, v.188, p.65-75, 1997.

- PALMER, K.M.; YOUNG, J.P.W. Higher diversity of *Rhizobium leguminosarum* Biovar *viciae* populations in arable soils than in grass soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.6, p.2445-2450, 2000.
- PARKER, M.A.; LUNK, A. Relationships of Bradyrhizobia from *Platypodium* and *Machaerium* (Papilionoideae: tribe Dalbergiatae) on Barro Colorado Island, Panama. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology**, Basingstoke, v.50, n.3, p.2279-2285, May 2000.
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. San Diego, CA: Academic, 1989. 275p.
- PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia**. 2000. 93p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- PEREIRA, J.C.; NEVES, M.C.P.; DROZDOWICZ, A. Influência da antibiose exercida por actinomicetos às estirpes de *Bradyrhizobium* spp., na nodulação da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.1, p.99-108, 1999.
- PIRES, J.L.F.; SOPRANO, E.; CASSOL, B. Adaptações morfofisiológicas da soja em solo inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.1, p.41-50, 2002.
- PROVOROV, N.A.; VOROB'ev, N.I. Evolutionary genetics of nodule bacteria: Molecular and populations aspects. **Russian Journal of Genetics**, v.36, n.12, p.1323-1335, 2000.
- RIVAS, R. et al. A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans* (L.f.) Druce. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.68, p.5217-5222, 2002.
- SCHMALENBERGER, A.; TEBBE, C.C. Bacterial diversity in maize rhizosphere: conclusions on the use of genetic profiles based on PCR-amplified partial small subunit rRNA genes in ecological studies. **Mol. Ecol.**, p.251-262, 2003.
- SPLECHTNA, B.E.; KLINKA, K. Quantitative characterization of nutrient regimes of high-elevation forest soils in the southern coastal region of British Columbia, Canada. **Geoderma**, v.102, p.153-174, 2001.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. **Biodiversidade de rizóbios que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose**. Seropédica, Embrapa-CNPAB, 1999. 51p. (Documentos, 94).

SY, A. et al. *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, Oxford, v.183, n.1, p.214-220, 2001.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v.5, p.240-245, 2002.

TRUJILLO, M.E. et al. Nodulation of *Lupinus albus* by Strains of *Ochrobactrum lupine* **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 71, n.3 p. 1318-1327, 2005

VALENTIN, J.L. **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 118p.

VAN BERKUN, P.; EARDLY, B.D. The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificand* is a nitrogen-fixing symbiont of *Aeschynomene indica*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.68, p.1132-1136, 2002.

VARGAS, A.A.T.; GRAHAM, P.H. *Phaseolus vulgaris* cultivar and *Rhizobium* strain in acid-pH tolerance and nodulation under acid conditions. **Field Crops Res.**, v.19, p.91-101, 1988.

VICENTE, F.M.P., ROSSIELLO, R.O.P.; PEREIRA, E.M.B. Características indicativas de sensibilidade ao alumínio em arroz. II correlação canônica com a produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.1, 1998.

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

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

WARDLE, D.A.; LAVELLE, P. Linkages between soil biota, plant litter quality and decomposition. In: GADISH, G., GILLER, K.E. (Ed.). **Driven by nature:** plant litter quality and decomposition. Wallingford, UK: CAB International, 1997. p.107-124.

WATKIN, E.L.J.; O'HARA, G.W.O.; LEE, A.R. Physiological responses to acid stress of an acid soil tolerant and an acid-soil sensitive strain of *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii*. **Soil Biological and Biochemistry**, 35, p.621-624, 2003.

ZILLI, J.E. et al. Assessment of cowpea *Rhizobium* diversity in cerrado areas of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.281-287, 2004.

CAPÍTULO 2

ATRIBUTOS QUÍMICOS DE SOLOS SUBMETIDOS A DIFERENTES SISTEMAS DE USO LOCALIZADOS NO ALTO RIO SOLIMÕES - AMAZÔNIA

RESUMO

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Atributos químicos solos submetidos à diferentes sistemas de uso localizados no alto Rio Solimões - Amazônia. In: _____. **Efeito de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp].** 2006. Cap.2, p.37-65. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹.

Geralmente os fatores limitantes ao crescimento das plantas são os mesmos que direta ou indiretamente afetam os organismos do solo, assim como os processos que mediam. Neste contexto, características químicas de solos submetidos aos diferentes sistemas de uso (SUTs), pastagem, agricultura, agrofloresta, floresta secundária em estágio avançado de regeneração, floresta secundária em estágio inicial de regeneração e floresta primária no noroeste da Amazônia, foram avaliadas e interpretadas através de análise univariada (Anova com teste de Scott-Knott) e multivariada (componentes principais). A textura dos solos variou entre média, argilosa e muito argilosa. Os sistemas de uso da terra influenciaram a fertilidade dos solos. Os principais fatores que podem limitar o cultivo e a fixação biológica nos solos sob pastagem, agricultura, agrofloresta, floresta secundária em estágio inicial e avançado de regeneração foram os baixos teores de fósforo e boro, os altos valores de acidez ativa, trocável e potencial. A análise de componentes principais revelou que os atributos do solo mais correlacionadas com diferenças entre os SUTs foram zinco, cálcio, capacidade de troca catiônica efetiva e acidez potencial. A floresta secundária em estágio avançado de regeneração apresentou os atributos químicos dos solos, no geral, mais próximos aos solos da floresta primária.

¹ Orientadora: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA

ABSTRACT

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Chemical attributes of soils from different land use systems Upper Solimões River, Amazon Region. In: _____ **Effects of Amazonian land use systems on soil attributes, occurrence, efficiency and diversity of bacteria nodulating cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. Chap. 2, p.37-65. Thesis (Doctorate in Soil and Plant Nutrition) – Federal University of Lavras, Lavras, MG¹.

Limiting factors for plants growth are usually the same that direct or indirectly affect soil organisms and their processes. Chemical and physical attributes of soils under different land use systems (LUS) (forest, old secondary forest, young secondary forest, agroforestry, pasture, agriculture) in the upper Solimões River, Amazon region noroeste da Amazônia, were evaluated through univariate (Anova with Scott-Knott test) e multivariate (PCA-principal components analysis). Soil texture varied from medium and clayed to very clayed. Land use systems affected soil fertility. Main factors that may limit cultivation and nitrogen fixation in soils under pasture, agriculture, agroforestry, young and old secondary forest where low P and B contents, high exchangeable and potential active acidity. Principal component analysis showed that attributes most correlated with differences in LUS were: zinc, calcium, effective cation exchange capacity and potencial acidity. Old secondary forest presented soil attributes more similar to forest.

¹Adviser: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

Os atributos químicos, físicos e biológicos do solo interagem dinamicamente entre si e ainda com o clima e a vegetação, influenciando não só a produtividade agrícola, como também a sustentabilidade dos ecossistemas.

Em solos sob condições naturais como a floresta primária as taxas de remoção de material orgânico e inorgânico são balanceadas com a reposição natural, formando um ciclo auto-sustentável. Já nos solos sob condições cultivo, o tipo de cobertura vegetal e a adoção ou não de práticas conservacionistas e fertilizantes em interação com as características químicas, físicas e biológicas do solo irão determinar o impacto do manejo sobre a matéria orgânica e as modificações na disponibilidade dos nutrientes, principalmente em condições tropicais. Dessa forma, sistemas de cultivo que promovam o acréscimo ou conservação da matéria orgânica, além da disponibilidade adequada dos nutrientes, são essenciais para a manutenção de uma agricultura sustentável, principalmente em solos originalmente pobres, em que os nutrientes se encontram mais concentrados na biomassa vegetal (Jordan & Herrera, 1981; Moran et al., 2000).

A matéria orgânica do solo, cuja principal fonte é a vegetação, incluindo a rizosfera das plantas, fornece substratos e energia para o crescimento e a atividade dos organismos heterotróficos que, portanto, são afetados pela cobertura vegetal. Por outro lado, os organismos edáficos desempenham papel importante em processos biofísicos e bioquímicos do solo que garantem a ciclagem de nutrientes.

Na Amazônia, grande parte dos solos estudados apresenta sérias limitações ao cultivo devido à baixa fertilidade (Cochrane & Sanchez, 1982; Demattê, 1988). Contudo, se considerarmos a extensão territorial (5 milhões de km²) e a grande diversidade de ecossistemas presentes, poucas são as

informações sobre esta região, principalmente quando diferenças nos sistemas de uso são consideradas. Assim, trabalhos que objetivem identificar a capacidade produtiva dos solos e seus possíveis fatores limitantes (Cochrane & Sanchez, 1982; Rodrigues et al., 2001, Mac Grath et al., 2001a; Numata et al., 2002; Araújo et al., 2004) , assim como práticas que garantam uma ciclagem eficiente, são essenciais. Mc Grath et al. (2001b) e Alfaia et al. (2004), avaliando a fertilidade de solos em sistemas de agrofloresta e pastagem do município de Nova Califórnia, RO, identificaram os atributos químicos potássio e fósforo como fatores limitantes à manutenção dos sistemas produtivos daquela região. Em levantamento exploratório do estado nutricional de bananas cultivadas em seis municípios do Estado do Amazonas, Moreira et al. (2004) indicaram que mais de 50% das áreas apresentavam alguma deficiência em micronutrientes como cobre, ferro, manganês e zinco. Rodrigues (1998), ao avaliar a fertilidade de solos de diferentes localidades sob cultivo intensivo, na região Amazônica, indicou respostas significativas do arroz para adição de Cu, Mo e Zn a partir do terceiro cultivo, sugerindo, assim, que o cultivo continuado de solos pode levar ao aparecimento de deficiências de micronutrientes nessa cultura. Além disso, Moran et al. (2000) apontaram a fertilidade do solo como elemento chave para discriminar taxas de sucessão secundária em estudos comparativos intra-regionais na Amazônia. Embora os efeitos de atributos químicos e físicos sobre os organismos sejam amplamente documentados em condições de laboratório ou controladas, trabalhos indicando o efeito de fatores químicos e físicos sobre populações de organismos do solo e condições naturais são praticamente inexistentes.

Em busca do manejo sustentável, para o atendimento das necessidades básicas das comunidades que sobrevivem dos recursos naturais e que praticam agricultura baseada na derrubada e queima da mata, torna-se necessária a

realização de pesquisas para auxiliar as ações produtivas com o objetivo de promover o mínimo de impacto ao meio ambiente.

Neste contexto, este trabalho objetiva avaliar as alterações químicas nos solos submetidos a diferentes sistemas de uso, no noroeste da Amazônia, e identificar possíveis atributos químicos limitantes ao cultivo e que também podem afetar as comunidades biológicas. Em trabalhos posteriores os resultados obtidos no presente estudo serão utilizados para análises multivariadas com outros atributos biológicos avaliados no projeto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O local de estudo foi formado por seis áreas amostrais, com aproximadamente 9 hectares cada, localizadas no município de Benjamin Constant, noroeste do Estado do Amazonas, região denominada de Alto Solimões, na tríplice fronteira Brasil, Colômbia e Peru, entre as coordenadas geográficas 4°20' e 4°26' Sul e 69°36' e 70°2' Oeste, compreendendo as comunidades Guanabara II, Nova Aliança e a cidade de Benjamin Constant, situadas a aproximadamente 1.100 km a oeste de Manaus, na base do Rio Solimões (Figura 1). São áreas povoadas por remanescentes de povos indígenas da Amazônia e um dos mais importantes “hotspots” em termos de agrobiodiversidade (Moreira et al., 2005; Fidalgo et al., 2005).

O clima da região é tropical úmido ou superúmido Af (Köppen), sem estação seca, com temperatura e precipitação média anual de 25,7°C e de 2.562 mm, respectivamente. O total das chuvas do mês mais seco é superior a 100 mm, com maiores precipitações concentradas nos meses de dezembro a abril (Coelho et al., 2006).

Para esta região, destaca-se o levantamento dos recursos naturais realizado em pequena escala (1:1.000.000) no projeto RADAMBRASIL (Brasil, 1977). O material geológico das áreas pertence à Formação Solimões e, segundo o levantamento de solos realizados por Coelho et al. (2006), as áreas deste estudo estão sobre Gleissolos, Cambissolos e Alissolos.

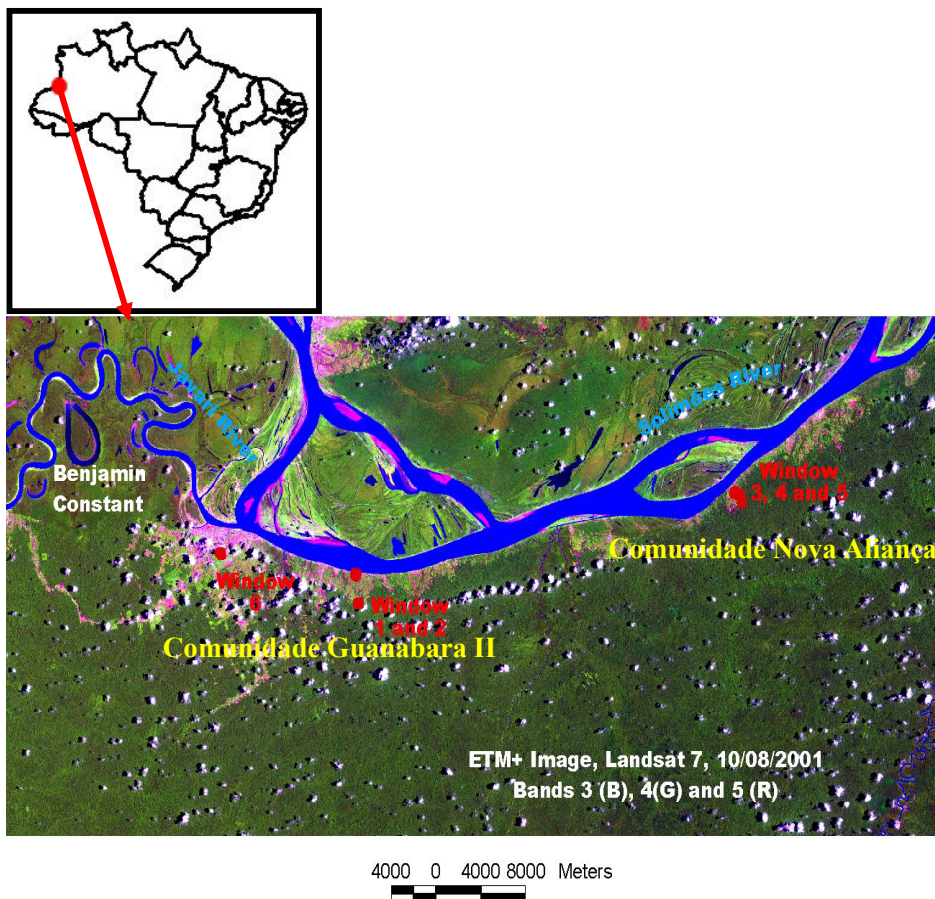


FIGURA 1 Local da realização das áreas de coleta (cidade de Benjamin Constant e comunidades indígenas Nova Aliança e Guanabara II, no município de Benjamin Constant).

Os sistemas de uso da terra (SUTs) estudados foram caracterizados, por Fidalgo et al. (2005), quanto à cobertura vegetal e ao uso atual, como: (F) Floresta Tropical Aberta, sub região dos baixos platôs da Amazônia (Brasil, 1977); (FA) floresta secundária em estágio avançado de regeneração com mais de 5 anos de formação, após ter sido área de cultivo; (FI) floresta secundária em

estádio inicial de regeneração com menos de 5 anos de formação, após ter sido área de cultivo; (AG) agricultura, cultivos agrícolas anuais (mandioca, milho, cana-de-açúcar, abacaxi) e semiperenes (banana); e (A) agrofloresta, grande parte da vegetação é formada pela regeneração espontânea de espécies de floresta secundária e ainda há o enriquecimento de espécies através do plantio de mudas de interesse econômico como cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), pupunha (*Bactris gassipae*), banana, abacaxi e café, entre outros. Essas áreas foram desflorestadas entre os anos de 1979 e 1983 e cultivadas com banana e mandioca. A formação dos sistemas agroflorestais teve início logo após os primeiros ciclos de cultivo, entre os anos de 1980 e 1984; (P) pastagem, área restrita a Benjamin Constant, que foi implantada em 1970 com capim imperial (*Axonopus scoparius*). Com seu declínio, há aproximadamente 11 anos, decorrido da implantação, o capim Imperial foi substituído por *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* e grama batatais (*Paspalum notatum flugge*); atualmente a pastagem também se encontra com várias espécies invasoras. A reforma das pastagens é realizada através do plantio de mudas em cova. As capinas são realizadas três vezes ao ano com auxílio de facão, enxada e machado. As ilustrações representativas de cada SUTs encontram-se na figura 2. Em todos os SUTs não são utilizados corretivos, fertilizantes e controle de pragas e não há registros de utilização de inoculantes de bactérias que nodulam leguminosas.

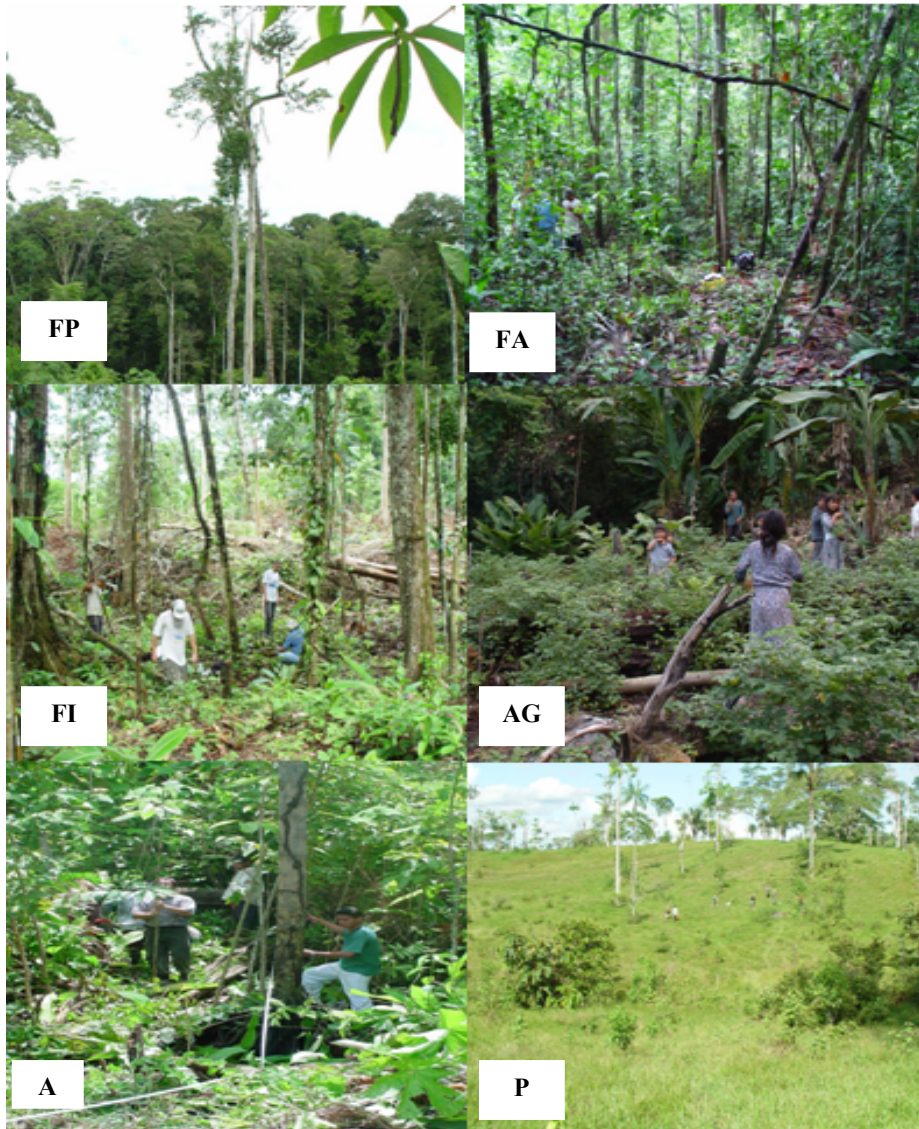


FIGURA 2 Sistemas de uso da terra localizados na Amazônia. FP: Floresta primária; P: pastagem; A: agrofloresta; AG: agricultura; FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração.

Na primeira quinzena de março de 2004 (período úmido e com maior intensidade pluviométrica) coletaram-se 98 amostras de solo na camada de 0-20 cm, utilizando-se trado de rosca, totalizando 30 pontos amostrados na FI, 10 na FA, 17 na FP, 13 em P, 18 AG e 10 em A.

Cada ponto de amostragem principal fazia parte de uma malha pré-estabelecida, distribuída em 6 janelas com cerca de 9 ha cada, seguindo as normas instituídas do projeto para todos os países envolvidos (Moreira & Bignell, 2006, ver também www.biosbrasil.ufla.br), e os pontos distavam entre si, de modo geral, 100 m, com alguns pontos distantes a 50 m (Anexo 1A). Cada ponto principal foi georreferenciado e a partir dele foram coletadas 12 amostras simples dispostas em círculos concêntricos de 3 e 6 m de raio, que foram posteriormente misturadas para constituir a amostra composta do ponto avaliado, conforme a figura 3.

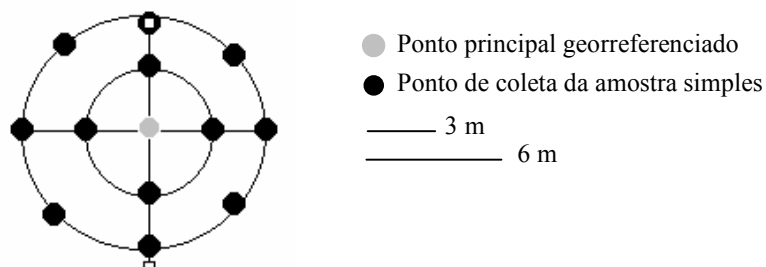


FIGURA 3 Esquema de coleta das amostras de solo.

Antes da coleta das amostras em cada ponto, retirou-se a serrapilheira do local e todo material a ser utilizado foi flambado para evitar contaminação microbológica entre os pontos, uma vez que nas mesmas amostras compostas

foram analisadas comunidades biológicas de microrganismos (nematóides, fungos endomicorrízicos, saprofíticos, anátogonistas, fitopatogênicos e entomopatogênicos, bactérias capazes de nodular leguminosas e diazotróficos associativos). Organismos da meso e macrofauna foram também analisados nos mesmos pontos e na mesma época, porém com outros tipos de amostragem.

De cada amostra composta retirou-se uma amostra de solo que foi seca ao ar e passada em peneira de malha de 2 mm, para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). As análises químicas e físicas seguiram os métodos compilados em EMBRAPA (1997) e foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Lavras. Na TFSA determinaram-se textura; pH em H₂O, KCl e CaCl₂ relação 1:2,5 (solo:água); alumínio (Al³⁺), cálcio (Ca²⁺) e magnésio (Mg²⁺) (extraídos com KCl 1 mol L⁻¹); fósforo (P) e potássio (K⁺) (Mehlich-1); fósforo remanescente (P-rem); enxofre S (extraído por fosfato monocálcico com 500 mg L⁻¹ de P e determinado por turbidimetria); acidez potencial (H+Al); boro (água quente), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn) e cobre (Cu) (Mehlich-1) e matéria orgânica (digestão úmida). Com os resultados obtidos nas análises do complexo sortivo, calcularam-se a soma de base trocáveis (SB), a capacidade de troca catiônica efetiva (t) e a potencial (T) e as saturações de bases (V) e por Al (m). A fertilidade do solo foi analisada segundo os critérios adotados pela CFSEMG (1999). Inicialmente, para cada SUT foi realizada a análise dos atributos químicos através da Anova, com teste de Scott-Knott para cada tratamento (p<0,05). Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de componentes principais (ACP) utilizando o Software R (2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média de pH dos solos na floresta primária foi de 4,5 (indicativa de acidez muito elevada), de alumínio trocável (Al^{3+}), de 5,7 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (alto); e de acidez potencial (H + Al), 22,1 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (alto). Sob pastagem, o pH foi 5,2 (acidez média), Al^{3+} de 2,8 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (alto) e H + Al de 12,8 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (alto). Nos demais sistemas de uso, os valores de pH variaram entre 4,6 (elevado na floresta secundária em estágio avançado de regeneração) a 5,4 (acidez média na agricultura); o Al^{3+} , de 1,7 (agricultura) a 5,2 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (floresta secundária em estágio avançado de regeneração); e H + Al, de 8,2 (agricultura) a 19,9 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ (floresta secundária em estágio avançado de regeneração), valores considerados altos (Tabela 1).

Sob condições naturais, ou seja, na floresta primária, verifica-se que as variáveis referentes à quantificação da acidez referem-se a solos ácidos. Mesmo sob efeito das cinzas, que são produtos da queima da floresta primária e ou secundária, essas variáveis sofreram alterações nos valores médios, nos demais sistemas de uso, sendo que a agricultura e pastagem foram os SUTs que apresentaram os maiores valores médios de pH. Nos solos sob agricultura este efeito pode ser atribuído ao menor tempo decorrido da última queimada (cerca de 30 dias antes da coleta das amostras).

A toxidez causada pelo alumínio é um dos mais importantes fatores que limitam o crescimento e/ou o desenvolvimento das plantas em solos ácidos, principalmente em pH abaixo de 5,0. Contudo, não são observados sintomas visuais de toxidez nas culturas da região, uma vez que parte do Al^{3+} compõe as lâminas existentes entre as camadas de esmectita, resultado de adições de alúvios que se sedimentam e precipitam em solução, com posterior transformação em minerais primários 2:1. Assim, esses solos diferem consideravelmente dos demais solos ácidos do Brasil (Marques et al., 2002) e

também dos mais bem drenados da parte oriental da Amazônia, derivados de sedimentos mais antigos ou de rochas cristalinas (Lima et al., 2006), uma vez que são ricos em minerais alteráveis. Segundo Jesus (2004), em alguns solos próximos aos da área do presente estudo, que também apresentaram altos teores de alumínio e baixos valores de pH, não se verificou correlação entre densidade de células de bactérias nodulíferas de leguminosas, em relação à acidez trocável.

TABELA 1 Valores médios de pH, macronutrientes e complexo sortivo de solos na camada de 0-20 cm submetidos a diferentes sistemas de uso da terra (SUTs) no Alto Solimões, Amazônia.

SUT	pH	-----mg dm ⁻³ -----				-----cmol _c dm ⁻³ -----						
		S	P	P-rem	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	t	T
FP ⁽¹⁾	4,5 ME ⁽⁷⁾	7,2 B	4,0 B	10,2	62,8 M	3,8 M	2,0 A	5,7 A	22,1 A	6,0 A	11,7 A	28,1 A
	(c) ⁽⁸⁾ 4,7/4,2 ⁽⁹⁾	(a) 14,3/3,3	(a) 5,5/2,3	14,0/6,8	(b) 86,0/36,0	(c) 8,0/1,3	(a) 3,0/1,0	(a) 9,3/2,5	(a) 33,4/8,8	(a) 11,2/2,6	(a) 16,7/9,1	(a) 39,1/15,4
P ⁽²⁾	5,2 M	6,0 M	2,8 MB	11,2	40,4 MB	2,2 M	1,4 A	2,8 A	12,8 A	3,8 M	6,6 A	16,6 A
	(a) 5,4/4,9	(a) 7,5/4,5	(a) 5,2/2,0	14,3/7,7	(c) 67,0/27,0	(d) 3,7/1,4	(b) 2,5/0,6	(b) 4,7/1,4	(b) 29,9/6,3	(a) 6,1/2,2	(b) 9,0/3,7	(c) 33,6/8,6
A ⁽³⁾	4,9 M	22,9 BMB	4,5 B	14,4	62,8 M	7,3 A	2,1 A	2,5 A	12,4 A	9,6 A	12,1 A	22,0 A
	(b) 5,5/4,6	(a) 173,4/3,3	(a) 10/1,4	18,3/10,9	(b) 124,0/34,0	(b) 12,0/4,6	(a) 3,6/1,0	(b) 3,6/0,5	(b) 17,1/5,6	(b) 15,8/6,5	(a) 17,2/9,2	(b) 29,1/4,5
AG ⁽⁴⁾	5,4 M	5,5 M	4,4 B	17,9	94,5 BM	8,9 A	2,5 A	1,7 A	8,2 A	11,7 A	13,3 A	19,9 A
	(a) 6,4/4,7	(a) 10,3/2,1	(a) 9,3/2,3	25,2/8,5	(a) 136,0/42,0	(a) 17,5/4,6	(a) 3,7/1,2	(c) 5,4/0,0	(c) 21,4/2,3	(b) 21,3/7,3	(a) 21,6/8,4	(b) 32,0/12,9
FI ⁽⁵⁾	4,9 E	6,9 M	3,6 B	14,2	76,4 BM	6,1 A	2,5 A	3,0 A	13,0 A	8,8 A	11,9 A	21,8 A
	(b) 5,8/4,3	(a) 32,6/1,8	(a) 8,9/2,0	24,4/6,0	(a) 136,0/41,0	(b) 10,5/2,6	(a) 4,8/1,2	(b) 8,2/0,4	(b) 29,9/3,6	(b) 15,5/4,4	(a) 18,8/6,4	(b) 35,2/14,0
FA ⁽⁶⁾	4,6 E	22,4 BMB	3,8 B	11,4	56,1 M	4,0 M	1,7 A	5,2 A	19,9 A	5,8 A	11,1 A	25,7 A
	(c) 5,8/4,0	(a) 173,4/4,1	(a) 5,2/2,3	21,1/6,5	(b) 99,0/34,0	(c) 12,7/0,8	(b) 4,3/0,2	(a) 9,4/0,2	(a) 33,4/4,0	(a) 17,2/1,1	(a) 17,3/8,8	(a) 35,4/15,2

⁽¹⁾ FP: Floresta primária; ⁽²⁾ P: pastagem; ⁽³⁾ A: agrofloresta; ⁽⁴⁾ AG: agricultura; ⁽⁵⁾ FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; ⁽⁶⁾ FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração. ⁽⁷⁾ Classes de interpretação segundo 5ª. Aproximação para Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H+Al, SB, t, T: M= Médio, A= Alto, B= Baixo. Classes de interpretação para acidez ativa (pH): ME: muito elevada; E: elevada; M: média. Classes de interpretação da disponibilidade para enxofre, fósforo e potássio de acordo com o valor de fósforo remanescente (P-rem): MB: muito baixo; B: baixo; M: médio; BM: bom, BMB: muito bom. ⁽⁸⁾ Letras diferentes entre parênteses diferem na coluna pelo teste de Scott-Knott (p<0,05) ⁽⁹⁾ Limites de máximo e mínimo.

Os valores médios de soma de bases (SB) variaram de 3,8 (médio) na pastagem a 11,7 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (alto) na agricultura. Estes refletiram o comportamento das bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+) no solo em resposta aos sistemas de uso adotados (Tabela 1). A conversão da floresta primária com SB de 6,0 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (alto) para o SUT agricultura (11,7 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) incrementou a fertilidade deste SUT devido à queima dos resíduos vegetais, com liberação de nutrientes que estavam imobilizados na biomassa. A deposição das cinzas contribuiu para o pequeno aumento do pH, redução do Al^{3+} e aumento do Ca^{2+} . Na agricultura, houve pontos em que o Al^{3+} foi ausente e isto, possivelmente, pode ser atribuído ao efeito corretivo da cinza, amplamente relatado na literatura (Mc Grath et al., 2001b; Numata et al., 2002; Sampaio et al., 2003; Alfaia et al., 2004).

A pastagem apresentou valor médio similar à soma de bases em comparação com a floresta primária, o que expõe a fragilidade deste SUT, que é cultivado sem adição de fertilizantes ou adubos. Isso indica que os nutrientes contidos na vegetação original da floresta após a queima foram perdidos, provavelmente por ser a pastagem uma cobertura menos eficiente do solo, em relação à floresta primária. Um comportamento inverso foi relatado por Müller et al. (2004) em pastagens produtivas e degradadas no norte de Marabá - PA, segundo os quais os valores de SB foram maiores que os dos solos sob floresta primária. Tais autores indicaram que a degradação das pastagens não estava diretamente ligada às modificações das características químicas do solo, sendo mais dependentes das características fisiológicas das pastagens, como a espécie de gramínea, o estágio e a idade. Ainda, deve-se considerar que a elevada disponibilidade de nutrientes nos solos sob pastagem favorece os cultivos sucessivos, que são precedidos de queimadas, o que contribui para o empobrecimento do solo através das perdas por erosão e volatilização (Müller et al., 2004; Sampaio et al., 2003).

Os teores de K^+ na agrofloresta ($62,8 \text{ mg dm}^{-3}$), floresta secundária em estágio avançado de regeneração ($56,1 \text{ mg dm}^{-3}$) e floresta primária ($62,8 \text{ mg dm}^{-3}$) foram classificados como médios. Na agrofloresta, este nutriente é muito demandado para frutíferas como cupuaçu, pupunheira e bananeiras (Alves, 1991) e, se não for repostado nos cultivos posteriores, poderá limitar a produção, conforme abordado por Alfaia et al. (2004) em sistemas agrofloretais em Rondônia. Na agricultura e na floresta secundária em estágio inicial de regeneração, os teores de K^+ foram maiores e classificados como bons. Na pastagem, constatou-se o menor teor de K^+ disponível em relação aos demais SUTs, provavelmente pela maior suscetibilidade deste nutriente em ser perdido por lixiviação, que é muito favorecida devido ao elevado índice pluviométrico na região.

Os teores de fósforo disponíveis foram similares entre os SUTs e apresentaram-se muito baixos na pastagem ($2,8 \text{ mg dm}^{-3}$) a baixos nos demais SUTs (Tabela 1), sendo, portanto, um fator limitante (Mc Grath et al., 2001a e Alfaia et al., 2004) à agricultura e à agrofloresta em que estão as culturas de subsistência das comunidades e ao manejo da pastagem.

Os teores de matéria orgânica, classificados como médios em todos os SUTs, foram maiores na agricultura, na agrofloresta e na floresta em estágio inicial de regeneração (Tabela 2). Os solos sob floresta primária e sob floresta secundária em estágio avançado de regeneração apresentaram teor médio de $1,7 \text{ dag kg}^{-1}$; os da pastagem ($1,6 \text{ dag kg}^{-1}$) não diferiram destes. A conservação dos teores de matéria orgânica nos solos sob vegetação de gramíneas, no geral com o predomínio de textura média (Tabela 2), ocorreu devido ao tipo de sistema radicular associado com uma contínua deposição de restos culturais, que favorecem uma maior incorporação de matéria orgânica nos solos. Martinez & Zinck (2004), ao contrário, observaram, em sistemas de pastagem em San José del Guaviare, Amazônia colombiana, que com o aumento da idade da pastagem

e o tipo de manejo empregado ocorre um declínio da produção de material orgânico, sendo essa perda bem pronunciada em solos mais arenosos, o que não foi observado nas pastagens deste trabalho, apesar de decorridos 40 anos de sua implantação, provavelmente porque não são arenosos, e sim de textura média a muito argilosa.

Os teores de S situaram-se entre 5,5 para a agricultura e 22,9 mg dm⁻³ para agrofloresta (Tabela 1). Os solos sob cultivo como pastagem, agricultura e floresta secundária em estágio inicial de regeneração apresentaram teores médios; já para a floresta primária, a floresta secundária em estágio avançado de regeneração e a agrofloresta, os teores encontrados foram muito bons, não havendo diferenças significativas entre os SUTs; assim, esse nutriente não constitui um fator limitante ao cultivo dos solos.

TABELA 2 Valores médios de saturação por bases (V), saturação por alumínio (m), matéria orgânica (MO), micronutrientes e textura de solos na camada de 0-20 cm sob diferentes sistemas de uso da terra (SUT) no Alto Solimões, Amazônia.

SUT	V	m	MO	Zn	Fe	Mn	Cu	B	Areia	Silte	Argila
	-----%-----		Dag kg ⁻¹	-----mg dm ⁻³ -----					-----%-----		
FP ⁽¹⁾	22,3 MB ⁽⁷⁾	49,4 A	1,7 M	6,5 A	190,0 A	70,0 A	1,5 BM	0,3 B	13,6	44,1	42,3
	(a) ⁽⁸⁾	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(a)	(a)	(b)	(b)	(a)
	43,0/9,0 ⁽⁹⁾	72,0/23,0	2,2/1,0	17,9/1,4	338,5/124,1	137,7/9,4	3,3/0,7	0,7/0,0	27/4	53/31	65/32
P ⁽²⁾	24,2 MB	42,5 A	1,6 M	7,7 A	471,8 A	40,5 A	1,9 A	0,1 MB	28,2	39,2	32,6
	(a)	(a)	(b)	(a)	(a)	(a)	(a)	(b)	(a)	(a)	(a)
	35,5/11,0	65,0/28,0	2,0/1,3	21,4/2,0	1150,5/74,9	139,2/15,8	2,8/1,2	0,7/0,0	50/10	53/10	45/24
A ⁽³⁾	43,9 B	21,4 M	1,8 M	5,2 A	136,7 A	58,0 A	2,0 A	0,4 M	13,6	47,4	39,0
	(b)	(b)	(a)	(a)	(c)	(a)	(a)	(a)	(b)	(b)	(a)
	61,7/29,7	33,0/5,0	2,2/1,5	14,6/2,0	231,7/75,6	99,7/11,2	3,7/0,8	0,7/0,0	30/7	54/39	52/30
AG ⁽⁴⁾	61,6 M	12,8 B	1,9 M	7,0 A	97,3 A	70,1 A	1,4 BM	0,4 M	22,4	39,8	37,8
	(a)	(c)	(a)	(a)	(c)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)
	85,5/29,9	37,0/0,0	2,2/1,4	18,9/1,6	162,0/10,2	116,4/20,9	1,9/0,7	0,6/0,1	36/10	48/32	55/25
FI ⁽⁵⁾	43,6 B	25,3 M	1,9 M	6,7 A	157,6 A	53,9 A	2,0 A	0,2 B	22,0	41,9	36,1
	(b)	(b)	(a)	(a)	(b)	(a)	(a)	(b)	(a)	(a)	(a)
	81,1/15,0	61,0/4,0	2,6/1,3	20,9/1,6	332,0/59,8	139,2/23,4	4,6/0,2	0,5/0,0	53/5	54/26	64/21
FA ⁽⁶⁾	26,9 B	51,9 A	1,7 M	3,6 A	126,2 A	56,4 A	1,4 BM	0,1 MB	13,2	47,3	39,5
	(a)	(a)	(b)	(a)	(c)	(a)	(a)	(b)	(b)	(b)	(a)
	81,1/4,0	87,0/1,0	2,1/1,4	7,9/2,0	222,0/53,0	89,5/18,0	2,3/0,7	0,4/0,0	27/6	51/40	47/31

⁽¹⁾ FP: Floresta primária; ⁽²⁾ P: pastagem; ⁽³⁾ A: agrofloresta; ⁽⁴⁾ AG: agricultura; ⁽⁵⁾ FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; ⁽⁶⁾ FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração. ⁽⁷⁾ Classes de interpretação segundo 5^a. Aproximação para V%, m% e micronutrientes: MB: muito baixo; B: baixo; M: médio; BM: bom, A: alto, MA: muito alto. ⁽⁸⁾ Letras diferentes entre parênteses diferem na coluna pelo teste de Scott-Knott (p<0,05) ⁽⁹⁾ Limites de máximo e mínimo.

Com relação aos micronutrientes, os teores de Fe variaram entre 97,3 e 471,8 mg dm⁻³; Zn, de 3,6 a 7,7 mg dm⁻³; Mn, de 40,5 a 70,1 mg dm⁻³; e Cu, de 1,4 a 2,0 mg dm⁻³, sendo classificados como altos, e não apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre os SUTs (Tabela 2). Os teores médios de Fe foram superiores aos teores encontrados por Rodrigues (1998) em solo com horizonte A antrópico e Espodosolo, 11,58 e 55,20 mg dm⁻³, respectivamente; e inferiores aos de Latossolo e Neossolo (629,03 e 55,20 mg dm⁻³, respectivamente), todos representativos da Amazônia (Rodrigues, 1998), e apresentaram grande amplitude em todos os SUTs deste estudo, sendo a menor média encontrada nos solos sob pastagem. Os teores de Mn e Zn também foram superiores aos encontrados em Latossolos, Espodosolos e Argissolos representativos da região Amazônica (Rodrigues, 1998).

Os teores de B extraídos em água quente encontrados nos solos estão na faixa considerada média para agrofloresta e agricultura (Tabela 2). Nos demais solos sob pastagem, floresta secundária em estágio inicial e avançado de regeneração, os teores ficaram abaixo do considerado adequado ($< 0,3$ mg kg⁻¹) e abaixo dos encontrados por Rodrigues (1998), que foram de 1,79 a 30 mg kg⁻¹. Provavelmente, o material mineral de origem destes solos é pobre em boro, sendo o reservatório deste micronutriente disponível à matéria orgânica (principal fonte natural de boro) através da sua reciclagem, uma vez que não se fazem adubações no local do estudo.

Para a análise conjunta dos atributos edáficos e dos SUTs, realizou-se a análise de componentes principais, sendo que os dois componentes explicam 71,7% da variação total (Figura 4 a). As variáveis mais correlacionadas com o primeiro eixo de ordenação foram os teores de areia e argila, com índices de correlação de 0,61 e -0,60, respectivamente; para o segundo eixo, a característica relevante para ordenação foi o teor silte (-0,74) (Tabela 3).

TABELA 3 Correlação entre as variáveis independentes com cada componente principal.

Variável	PC1	PC2
MO	-0,176	0,335
umidade	-0,451	0,431
areia	0,612	0,355
silte	-0,194	-0,737
argila	-0,595	0,180
Proporção explicada	0,432	0,717

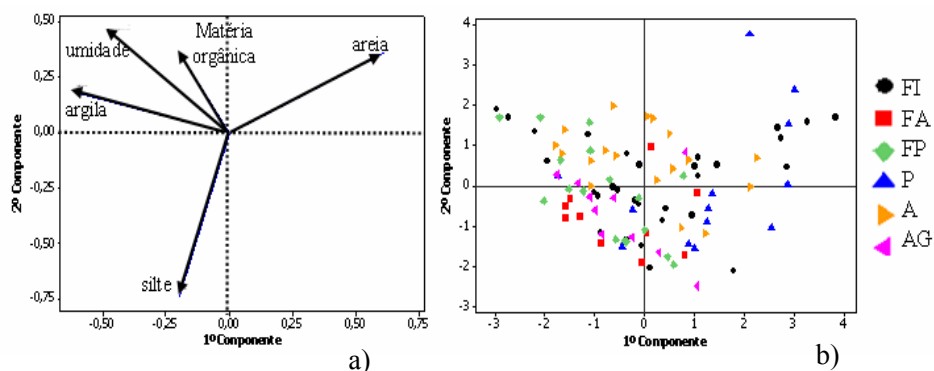


FIGURA 4 Diagrama de ordenação dos atributos areia, argila, silte, teores de umidade e matéria orgânica e dos SUTs analisados (b): FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração FP: floresta primária; P: pastagem; AG: agricultura; A: agrofloresta produzidos por análise de componentes principais.

Os pontos que se posicionaram relativamente próximos da região central do diagrama apresentaram menor correlação com as características de maior relevância (Figura 4 b). A pastagem teve seus pontos mais posicionados à direita do diagrama, indicando menor correlação com a matéria orgânica e maior com teor de areia (Tabela 2). Os demais pontos foram muito heterogêneos, o que é

comprovado pela variabilidade dos atributos analisados (Tabelas 1 e 2). Conforme os teores médios de argila, silte e argila, os solos apresentaram a textura variando entre média, argilosa e muito argilosa, sendo estas encontradas em vários pontos dentro do mesmo SUT. Assim, esses atributos não discriminaram os SUTs estudados (Figura 4 b).

Utilizando os demais atributos para a ACP (Figura 5 a), os dois componentes explicaram em 46,7% a variação total (Tabela 4).

TABELA 4 Correlação entre as variáveis independentes com cada componente principal.

Variável	PC1	PC2
Fe	-0,402	0,011
Cu	-0,106	0,113
Zn	0,011	0,577
K	0,361	0,215
Ca	0,538	0,105
t	0,491	-0,266
B	0,329	-0,292
S	0,086	-0,320
H+Al	-0,225	-0,582
Proporção explicada	0,316	0,467

Contudo, convém salientar que apesar de este valor ser relativamente baixo, foi considerado, pois utilizou-se a análise de componentes principais somente para discriminar os SUTs ilustrando apenas as tendências .

Os atributos químicos mais correlacionados com o primeiro eixo de ordenação e que apresentaram contribuição desprezível foram Zn (0,01) e S (0,09), e os que apresentaram uma contribuição baixa foram Cu, K, B e H+Al, com índices de correlação de -0,11, 0,36; 0,33 e -0,23, respectivamente (Tabela 4). O teores de Ca^{2+} (0,54) e t (0,49) apresentaram melhor correlação com o primeiro eixo. No segundo eixo as características relevantes para ordenação

foram Zn (0,58) e H + Al (0,58) (Figura 5 b). Os demais atributos mais correlacionados com o segundo eixo foram os teores de Fe (0,01), Cu (0,113), K (0,22), Ca (0,11), t (-0,27), B (-0,29) e S (-0,32), que também apresentaram contribuições baixas, sendo desprezíveis (Tabela 4).

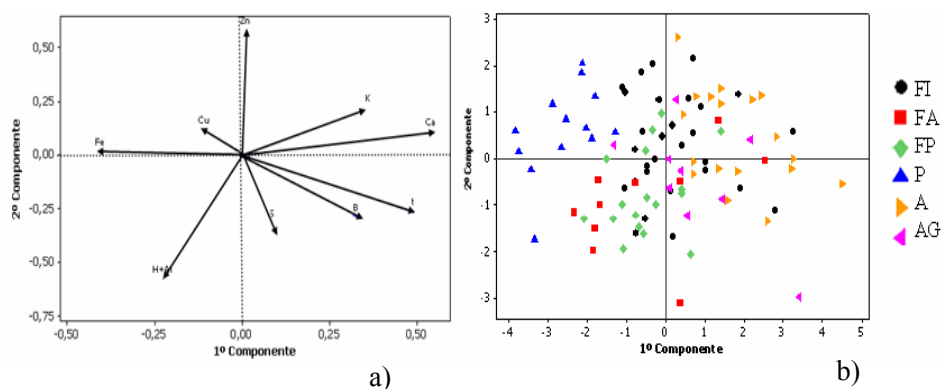


FIGURA 5 Diagrama de ordenação dos atributos químicos do solo (a) e dos SUTs analisados (b): FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração FP: floresta primária; P: pastagem; AG: agricultura; A: agrofloresta produzidos por análise de componentes principais. Significado das abreviaturas das características do solo apresentadas no diagrama a, vide texto.

De modo geral, observa-se um agrupamento da pastagem no quadrante superior esquerdo, indicado pela correlação negativa com os teores de cobre e para a agricultura e agrofloresta no direito (Figura 5 b), que apresenta uma correlação positiva com os teores de cálcio nestes solos. Para os demais sistemas de uso, não se verificou discriminação, o que pode ser indicativo de uma maior homogeneidade entre eles. Contudo, alguns pontos amostrados dos sistemas de uso floresta primária e floresta secundária em estágio avançado de regeneração

ficaram correlacionados, o que ilustra um comportamento similar entre as variáveis consideradas. Dentre estes sistemas, a floresta secundária em estágio avançado de regeneração, após ter sido cultivada no passado, apresentou os atributos químicos dos solos, no geral, mais próximos aos dos solos da floresta primária (correlação positiva com H+Al). A vegetação atual dos solos, caracterizada por Fidalgo et al. (2005), expressa também a maior proximidade com floresta primária.

Na recuperação dos ecossistemas, tanto quanto à parte edáfica como quanto à vegetação, o repouso da área após cultivos intensivos garante uma melhor eficiência do restabelecimento da sucessão ecológica, com deposição de serapilheira e aumento da cobertura vegetal que estimulam a atividade da microbiota edáfica atuante na mineralização dos nutrientes. Contudo, para a reintegração dos solos sob floresta secundária em estágio avançado de regeneração a agricultura é questionada. Gehring et al. (2005) identificaram elevada susceptibilidade à degradação dos solos sob floresta secundária na Amazônia Central, após a reintrodução destes aos ciclos de cultivo, devido à baixa fertilidade. No entanto, este não parece ser o caso das áreas do Alto Rio Solimões.

Os teores de enxofre, cálcio e magnésio, no geral, se encontram adequados nos solos sob os diferentes SUTs; contudo, os teores de fósforo e boro e a acidez ativa são os fatores mais limitantes ao crescimento vegetal, podendo afetar não só as plantas, mas também organismos como as bactérias simbióticas, que nodulam leguminosas, e principalmente as de vida livre, como as associativas. Por exemplo, o pH do solo influencia o número de bactérias que nodulam leguminosas e em solos com pH 4,0 há registros de menor ocorrência do que em solos menos ácidos (Fening & Danso, 2002). A nodulação também depende de um suprimento adequado de fósforo e boro e é inversamente afetada por teores tóxicos de Al^{3+} . Contudo, essa limitação oferece uma oportunidade

para a seleção de isolados menos suscetíveis à acidez, assim como os que têm habilidade de fixar nitrogênio em simbiose nestas condições.

4 CONCLUSÕES

Os sistemas de uso da terra influenciaram os atributos químicos do solo.

Os principais fatores limitantes ao cultivo nos solos sob pastagem, agricultura, agrofloresta, floresta secundária em estágio inicial e avançado de regeneração foram os baixos teores de P e B e os altos valores de acidez ativa.

A análise de componentes principais revelou que os atributos do solo Zn, Ca, t, e H+Al foram os que mais discriminaram os SUTs.

A floresta secundária em estágio avançado de regeneração, sistema de uso com maior tempo de sucessão secundária, apresentou os atributos químicos dos solos, no geral, mais próximos aos solos da floresta.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFAIA, S.S. et al. Evaluation of soil fertility in smallholder agroforestry systems and pastures in western Amazonia. Agriculture, **Ecosystems and Environment**, v.102, p.409-414, 2004.
- ALVES, E.J. **A cultura da banana no Brasil e proposições para o seu melhoramento**. 2.ed. Cruz das Almas, BA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1991. 40p.
- ARAÚJO, E.A. et al. Uso da terra e propriedades físicas e químicas de Argissolo amarelo distrófico na Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, p.307-315, 2004.
- BRASIL. Departamento Nacional de Produção Mineral. Projeto RADAMBRASIL. **Folha SB. 19 – Juruá**; geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra. Rio de Janeiro, 1977. 436 p. (Levantamento de Recursos Minerais, 15).
- COCHRANE, T.T.; SANCHEZ, P. Land resources, soils, and their management in the Amazon region. In: HECHT, S.B. (Ed.). **Amazonia: agriculture and land-use research**. Cali, Columbia: CIAT, 1982. p.137-209.
- COELHO, M.R. et al. **Solos das áreas-piloto do projeto GEF BIOS (Conservation and sustainable management of below-ground biodiversity: phase 1, município de Benjamin Constant, estado do Amazonas**. Rio de Janeiro, 2006. (no prelo).
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**, 5ª aproximação. Viçosa, 1999. 359p.
- DEMATTÊ, J.L.I. **Manejo dos solos ácidos dos trópicos úmidos: Região Amazônica**. Campinas: Fundação Cargil, 1988. 251p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212p.

FENING, J.O.; DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.23-29, 2002.

FIDALGO, E. C. C. et al. **Levantamento do uso e cobertura da terra de seis áreas amostrais relacionadas ao projeto “Conservation and sustainable management of below-ground biodiversity: Phase 1”, Município de Benjamin Constant (AM)**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. Apostila.

GEHRING, C.; DENICH, M; VLEK, L.G. Resilience of secondary forest regrowth after slash-and-burn agriculture central Amazonia. **Journal of Tropical Ecology**, v.21, p.519-527, 2005.

JESUS, E.C. **Diversidade de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de três sistemas de uso da terra na região do Alto-Solimões – AM**. 2004. 114p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

JORDAN, C.; HERRERA, I. Tropical rain forest: are nutrients really critical? **Am. Natur.**, v.117, p.167-180, 1981.

LIMA, H.N. et al. Mineralogia e química de três solos de uma topossequência da bacia sedimentar do Alto Solimões, Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, p.59-68, 2006.

Mac GRATH, D.A.; DURYEY, M.L.; CROPPER, W.P. Soil phosphorus availability and fine root proliferation in Amazonian agroforests 6 years following forest conversion. **Agriculture Ecosystems e Environment**, v.83, p.271-284, 2001a.

Mac GRATH, D.A. et al. Effects of land use change on soil nutrient dynamics in Amazonia. **Ecosystems**, v.4, p.625-645, 2001b.

MARQUES, J.J. et al. Mineralogy of soils with unusually high exchangeable Al from the western Amazon Region. **Clay Minerals**, v.37, p.651-661, 2002.

MARTINEZ, L.J.; ZINCK, J.A. Temporal variation of soil compaction and deterioration of soil quality in pasture areas of Colombian Amazonia. **Soil e Tillage Research**, v.75, p.3-17, 2004.

MORAN, E.F. et al. Effects of soil fertility and land-use on forest succession in Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v.139, p.93-108, 2000.

MOREIRA, F. M. S.; BIGNELL, D. E. 2006. **Standard methods for assessment of soil biodiversity in the context of land-use practice.** Nairobi, Quênia, 2006. (no prelo).

MOREIRA, A.; PEREIRA, J.C.R.; ARRUDA, M.R. Avaliação exploratória do estado nutricional de bananais cultivados em seis Municípios do Estado do Amazonas. **Revista de Ciências Agrárias**, v.43, n.1, 2004.

MOREIRA, F.M.S. et al. Biodiversidade de ecossistemas naturais: Projeto Conservação e Manejo Sustentável da Biodiversidade do Solo- BiosBrasil: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO SOLOS: sustentabilidade e qualidade ambiental, 30., 2005, Recife, PE. SBCS, Viçosa, 2005. p.1-41.

MÜLLER, M.M.L. et al. The relationship between pasture degradation and soil properties in the Brazilian amazon: a case study. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v.103, p.279-288, 2004.

NUMATA, I.; SOARES, J.V.; LEÔNIDAS, F.C. Comparação da fertilidade de solos em Rondônia com diferentes tempos de conversão de floresta em pastagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.949-955, 2002.

RODRIGUES, M.R.L. **Disponibilidade de micronutrientes em solos da Amazônia.** 1998. 156p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

RODRIGUES, M.R.L.; MALAVOLTA, E.; MOREIRA, A. Comparações entre soluções extratoras de ferro e manganês em solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.1, p.143-149, 2001.

SAMPAIO, F.A.R. et al. Balanço de nutrientes e da fitomassa em um argissolo amarelo sobre floresta tropical amazônica após a queima e cultivo com arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.1161-1170, 2003.

SOFTWARE R (R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

CAPÍTULO 3

OCORRÊNCIA E EFICIÊNCIA DE POPULAÇÕES DE BACTÉRIAS QUE FIXAM NITROGÊNIO EM SIMBIOSE COM CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) WALP] EM SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE USO NO ALTO RIO SOLIMÕES - AM

RESUMO

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Ocorrência e eficiência de populações de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) em solos sob diferentes sistemas de uso no Alto Rio Solimões - AM. In: _____ . **Efeito de sistemas de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. Cap. 3, p.66-100. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG¹.

O objetivo do trabalho foi avaliar ocorrência e eficiência de populações de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), em solos sob os sistemas de uso da terra (SUTs) pastagem, agricultura, agrofloresta, floresta secundária em estágio inicial de regeneração, floresta secundária em estágio avançado de regeneração e floresta primária, sendo que em nenhuma das áreas houve a introdução de estirpes exóticas através da inoculação. Coletaram-se amostras de solo na camada de 0-20 cm em 98 pontos de diferentes SUTs, distribuídos em 6 malhas (janelas) de amostragem de cerca de 9 ha cada, no Alto Rio Solimões – AM, e distantes 100 m (ou 50 m) entre si. Suspensões de amostras compostas de solo em solução salina (NaCl 0,55%) coletadas em cada ponto de amostragem foram inoculadas em plantas de caupi cultivadas em vasos Leonard, em casa-de-vegetação da Universidade Federal de Lavras, MG. Após dois meses de cultivo, coletaram-se as plantas e avaliaram-se matéria-seca da parte aérea, raiz e total, número e peso de nódulo fresco, acúmulo de nitrogênio na matéria seca da parte aérea e eficiência relativa dos tratamentos em relação às estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11B, recomendadas como inoculantes para o caupi, e à adubação nitrogenada. As populações de bactérias diazotróficas nodulíferas de caupi estavam presentes em solos, sob todos os sistemas de uso pesquisados, sendo que, na média, as oriundas de solos sob floresta, agricultura e floresta em estágio inicial de regeneração não foram eficientes em promover o crescimento do caupi. O manejo do solo através da substituição da floresta primária por outros SUTs estimulou a seleção de populações eficientes de bactérias diazotróficas. A análise de componentes principais revelou que as populações oriundas de solos sob sistemas de pastagem, floresta secundária em estágio avançado de regeneração, floresta secundária em estágio inicial de regeneração, agrofloresta e agricultura foram heterogêneas em promover o crescimento do caupi e que os pontos 87 e 93 situados na pastagem, 18 e 19 (agricultura) e 29 (floresta secundária em estágio inicial de regeneração) apresentam-se com potencial para isolamento de estirpes eficientes e competitivas. Os atributos químicos e físicos do solo apresentaram

baixa correlação com a ocorrência e eficiência de populações de bactérias que nodulam caupi.

¹ Orientadora: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA

ABSTRACT

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Occurrence and efficiency of nitrogen fixing bacteria establishing symbiosis with cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) in soils under different use systems in Upper Solimões River, Amazon region, AM. In: _____ **Effects of Amazonian land use systems on soil attributes, occurrence, efficiency and diversity of bacteria nodulating cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. Chap. 3, p.64-100. Thesis (Doctorate in Soil and Plant Nutrition)-Federal University of Lavras, Lavras, MG¹.

This paper aimed to evaluate occurrence and efficiency of nitrogen fixing bacterial populations able to establish symbiosis with cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), in soils under the land use systems (LUSs): pasture, agriculture, agroforestry, young secondary forest, old secondary forest and primary forest. In no one of the areas in each LUSs, exotic strains were introduced by using inoculants. Composed samples were collected at 0-20 cm depth in 98 sampling points distributed in 6 sampling grids (windows) with about 9 há each, in Upper Solimões river – AM. Distance between points was usually 100 m (or 50 m for a few of them). Suspensions in NaCl solution (0,55%) of composed soil samples collected in each sampling point were inoculated in cowpea plants cultivated in Leonard jars in greenhouse at Federal University of Lavras, MG. After two months, plants were harvest and shoot and root dry matter weight, nodule number and fresh matter weight, shoot N content and relative efficiency were evaluated in relation to plants receiving inoculum of strains recommended as inoculants to cowpea (UFLA 03-84 and INPA 03-11B), as well as to plants receiving mineral nitrogen. Diazotrophic cowpea nodulating bacteria were present in soils under all LUSs, however those from in Forest, agriculture and Young secondary forestry were in the mean, inefficient in promoting cowpea growth. Management of soil by substituting forestry by agriculture, pasture and old secondary forest induced selection of more efficient strains. Principal component analysis revealed that soil populations from pasture, old secondary Forest, Young secondary forest, agroforestry and agriculture were heterogeneous in promoting plant growth. Sampling points 87 and 93 located in pasture, 18 and 19, (agriculture) and 29 (Young secondary forest) presented populations potentially useful for isolation of efficient and competitive strains. Chemical and physical soil attributes had low correlation with occurrence and efficiency of cowpea nodulating bacterial populations.

¹ Adviser: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

As populações de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico são afetadas por fatores bióticos e abióticos do solo, tais como atributos químicos e físicos, presença do hospedeiro vegetal, histórico de cultivo e manejo, entre outros (Coutinho et al., 1999; Kenned, 1999; Ferreira et al., 2000; Andrade et al., 2002; Miethling et al. 2003, Depret et al., 2004; Melloni et al., 2006). Para a análise da ocorrência e da potencialidade das populações em fixar nitrogênio, em estudos exploratórios, a planta isca constitui mais uma variável a ser considerada, pois influencia na captura das bactérias nativas, já que sua capacidade de estabelecer simbiose é restrita a determinadas espécies de bactérias, mesmo para plantas consideradas promíscuas como o caupi (Lewin et al., 1987; Martins et al., 1997; Odee et al., 1997; Handley et al., 1998; Pereira, 2000; Melloni et al., 2006).

Considerando as limitações gerais para a avaliação da diversidade de microrganismos edáficos (Kirk et al., 2004), estudos que permitam uma avaliação parcial da ocorrência e funcionalidade das populações de bactérias que nodulam leguminosas (BNL) podem fornecer informações úteis sobre a ecologia local, além de serem importantes sob dois principais aspectos. O primeiro é que a presença de populações de BNL nativas no solo pode representar uma barreira à introdução de inoculantes, pois estas podem não estar adaptadas às condições edafo-climáticas dos locais as quais foram introduzidas. O segundo é que o solo é um reservatório importante de recurso genético para a seleção de estirpes eficientes, componentes das populações nativas. Assim, o isolamento e o cultivo das bactérias objetivando identificar suas potencialidades permitem a avaliação de sua capacidade simbiótica (Pereira, 2000; Lima et al., 2005; Lacerda et al., 2004).

A introdução de inoculantes de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico selecionadas para determinadas leguminosas pode maximizar a fixação biológica do nitrogênio (FBN) na agricultura e implementar o manejo agrícola sustentável. Além disso, o conhecimento das populações nativas edáficas e suas alterações com as mudanças no manejo e atributos do solo podem constituir um indicador das intervenções antrópicas sobre a estrutura populacional do simbionte alvo em estudo.

Assim, como objetivos, este trabalho visa avaliar a ocorrência e eficiência de populações de bactérias que fixam nitrogênio em simbiose com caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) em diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões - AM e verificar os efeitos de atributos edáficos sobre estas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Ocorrência e eficiência das populações de bactérias que nodulam leguminosas

Na primeira quinzena de março de 2004 (período úmido e com maior intensidade pluviométrica), coletaram-se 98 amostras de solo na camada de 0-20 cm, utilizando-se trado de rosca, totalizando 30 pontos amostrados na floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), 10 na floresta secundária em estágio avançado de regeneração (FA), 17 na floresta primária (FP), 13 em pastagem (P), 18 na agricultura (AG) e 10 em agrofloresta (A).

Para a avaliação da ocorrência e eficiência das populações de BNL conduziu-se, de agosto a outubro de 2004, durante 61 dias, um experimento em vaso Leonard (Vincent, 1970), seguindo os métodos padronizados instituídos no projeto para todos os países envolvidos (Moreira & Bignell, 2006), em casa-de-vegetação da Universidade Federal de Lavras. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, desbalanceado (DIC), com seis tratamentos (SUTs), sendo 30 repetições para a floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), 10 para a floresta secundária em estágio avançado de regeneração (FA), 17 para a floresta primária (FP), 13 em pastagem (P), 18 na agricultura (AG) e 10 em agrofloresta (A). Acrescentaram-se, a cada repetição de campo, três repetições analíticas para cada ponto amostrado nos diferentes sistemas de uso e quatro tratamentos controle com três repetições, sendo dois constituídos pela inoculação das estirpes referência recomendadas pela RELARE (Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola) como inoculante para caupi (INPA 03-11B e UFLA 03-84) e dois controles, um sem N e sem inoculação e outro com nitrogênio e sem inoculação. Para os controles, o nitrogênio foi

aplicado em cinco etapas, com intervalos de sete dias, num total de 350 mg de N (NH_4NO_3) por vaso.

A parte superior dos vasos de Leonard foi composta de uma mistura de 1:1 de areia (250mL) e de vermiculita (250mL) e a inferior, por solução nutritiva de Jensen modificada (K_2HPO_4 0,2 g L^{-1} ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g L^{-1} , NaCl 0,2 g L^{-1} , CaHPO_4 1 g L^{-1} , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g L^{-1} ; H_3BO_3 2,86 mg L^{-1} ; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2,03 mg L^{-1} ; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,22 mg L^{-1} ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,08 mg L^{-1} e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,09 mg L^{-1}), diluída quatro vezes. Após o preparo das soluções nutritivas e dos vasos, estes foram autoclavados por uma hora a uma pressão de 1,5 kg/cm^2 , a 127°C. O cultivar de caupi utilizado foi a BR14 Mulato. As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol puro por 5 segundos e hipoclorito de sódio 1% por 2 minutos, com lavagens sucessivas em água destilada estéril. Posteriormente, foram imersas em água estéril por 2 horas e colocadas em placas de petri com algodão umedecido (autoclavados) por 12 horas, em câmara de crescimento a 28°C. Para verificar a eficiência do processo de desinfestação, vinte sementes do mesmo lote foram colocadas em meio de cultura sólido 79.

Realizaram-se diluições de 10^{-1} das 98 amostras de solo em solução salina 0,55% (10 g de solo com base no peso seco: 90 mL solução salina esterilizada), as quais foram misturadas em agitadores horizontais durante 30 min. a 220 rpm. Utilizaram-se quatro sementes por vaso e, em cada uma, foi inoculado 1mL das suspensões de solo e solução salina. Para a composição dos tratamentos controle inoculou-se 1 mL de meio 79 semi-sólido, com a estirpe na fase log de seu crescimento apresentado aproximadamente 10^8 células por semente (quatro dias de cultivo a 28°C) em cada semente. Na testemunha sem inoculação e sem adição de nitrogênio foi inoculado apenas 1 mL de meio 79 estéril. Na superfície do vaso foi colocada uma camada fina de mistura esterilizada de areia, benzeno e parafina (proporção de 5:1:0,015

respectivamente), com a finalidade de evitar prováveis contaminações. Os níveis de solução nos vasos foram repostos periodicamente com solução nutritiva de Jensen estéril. Decorridos três a cinco dias da germinação, foi feito o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. A temperatura média da casa-de-vegetação foi aferida semanalmente, identificando-se as médias de máxima e mínima, que se situaram entre 15,1 a 37,2 °C, respectivamente, sendo a máxima obtida de 45°C e a mínima, de 13°C.

As plantas foram colhidas no início do estágio de florescimento para as determinações do número (NN) e peso de nódulo frescos (PNF), matéria seca da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST), porcentagem e acúmulo de N na MSPA (ANPA) (Sarruge e Haag, 1979). A eficiência relativa (ER) de cada tratamento foi calculada alterando-se a fórmula de Bergensen et al. (1971): $ER = (MSPA \text{ inoculada}) * 100 / (MSPA \text{ da planta inoculada com a estirpe recomendada pela RELARE})$.

2.2 Análises estatísticas

Inicialmente, para cada tratamento (sistemas de uso da terra - SUTs) foi realizada a análise dos dados referentes ao crescimento e nodulação do caupi através da ANOVA com teste t de Bonferroni ($p < 0,05$). Para a análise das variáveis, os dados foram transformados para raiz quadrada. As repetições de campo (pontos coletados) que apresentaram valores médios de eficiência relativa maior ou igual a 70%, em relação à estirpe inoculante INPA03-11B, foram analisados também isoladamente através da ANOVA com teste t de Bonferroni ($p < 0,05$). Posteriormente, utilizaram-se técnicas multivariadas para avaliação simultânea das relações entre as variáveis através da análise de componentes principais (ACP) com o software R (2005). Em seguida, a análise de correlação canônica foi realizada no programa PC SAS (SAS Institute, Cary, NC) com o objetivo de determinar quais atributos químicos edáficos (dados

descritos no segundo capítulo) influenciaram o crescimento e nodulação das populações de BNL. Esta análise, realizada na matriz dos resíduos, foi proveniente de um modelo inteiramente casualizado multivariado, em que se realizou a correlação entre o grupo formado pelos atributos edáficos (caracterizados no capítulo 2) (P, K, Ca, Mg, H+Al, Al, m, T, Zn, Fe, B, SB, t, Mn, Cu, S, matéria orgânica, umidade, areia, silte, argila) e o grupo formado pelas variáveis relacionadas ao crescimento e nodulação das plantas de caupi (MSR, MSPA, MST, NN e PNF).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ocorrência e eficiência das populações de bactérias diazotróficas que nodulam caupi

Em todos os SUTs foi detectada a presença de bactérias que nodulam caupi, sendo que o NN e PNF variaram de 7 e 0,1 g para floresta primária; 16 e 0,3 g floresta secundária em estágio inicial de regeneração; 29 e 0,6 g agricultura; 41 e 0,8 g pastagem; 42 e 0,8 g floresta secundária em estágio avançado de regeneração e 49 e 0,9 g na agrofloresta, respectivamente. Não foi detectada a presença de nódulos nas testemunhas com e sem N (Tabela 1).

Considerando que o número de nódulos é reflexo do número de bactérias presentes nas amostras, este representa uma medida semiquantitativa do número de células presentes. Assim, pode-se afirmar que as densidades foram menores na floresta primária, floresta secundária em estado inicial de regeneração e agricultura, as quais não diferiram entre si estatisticamente. Já na pastagem, agrofloresta e floresta secundária em estágio avançado de regeneração as densidades foram mais elevadas. Embora os números de nódulos tenham sido menores que os das estirpes inoculantes, deve-se considerar que estas estavam em culturas puras no vaso e não sofreram competição, ou outro tipo de relação antagonista que certamente ocorreu nas amostras de solo inoculadas e afeta negativamente a capacidade de nodular de bactérias simbióticas. Assim, as densidades inferidas nestes SUTs podem ser consideradas altas. Por exemplo, os números médios de nódulos estavam em torno de 40, enquanto na estirpe inoculante INPA 3-11B, que recebeu 10^8 células, este número era aproximadamente o dobro. Dos 98 pontos coletados, 26 não nodularam e destes, cerca de 44% foram coletados na agricultura, 40% na floresta secundária em estágio inicial de regeneração, 24% na floresta primária, 10% na floresta

secundária em estágio avançado e 8% na pastagem, sendo que somente na agrofloresta todos os pontos coletados apresentaram nódulos.

TABELA 1 Matéria seca da raiz (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST), número de nódulo (NN), peso de nódulo fresco (PNF) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA) de plantas de caupi inoculadas com solo, estirpes tipo de bactérias que nodulam leguminosas e controle adubado com N mineral.

SUT ⁽¹⁾	MSR	MSPA	MST	NN	PNF	ANPA
	-----g-----			----nº----	----g---	mg planta ⁻¹
FP ⁽²⁾	0,5 (b) ⁽⁸⁾	0,5 (e)	0,9 (e)	7,0 (c)	0,1 (b)	3,9 (e)
	0,7/0,3 ⁽⁹⁾	0,7/0,4	1,4/0,7	27,0/0	0,4/0,0	9,3/1,3
P ⁽³⁾	1,1 (b)	1,6 (d)	2,7 (d)	41,0 (b)	0,8 (a)	42,1 (d)
	3,1/0,2	3,7/0,3	5,9/0,8	147,0/0,0	1,8/0,0	107,0/2,9
A ⁽⁴⁾	1,1 (b)	1,26 (d)	2,4 (d)	49,0 (b)	0,9 (a)	31,4 (d)
	3,8/0,4	2,3/0,2	6,2/0,9	122,0/0,0	2,4/0,0	76,3/2,0
AG ⁽⁵⁾	0,6 (b)	0,9 (e)	1,5 (e)	29,0 (c)	0,6 (b)	20,9 (e)
	1,6/0,3	3,6/0,2	4,9/0,6	124,0/0,0	2,7/0,0	94,5/1,1
FI ⁽⁶⁾	0,7 (b)	1,0 (e)	1,3 (e)	16,0 (c)	0,3 (b)	10,1 (e)
	1,8/0,3	2,8/0,3	4,5/0,6	141,7/0,0	3,0/0,0	91,3/1,5
FA ⁽⁷⁾	0,7 (b)	1,4 (d)	1,7 (e)	42,1 (b)	0,8 (a)	22,9 (d)
	1,3/0,3	1,8/0,3	3,1/0,7	127,0/0,0	1,7/0,0	48,5/2,0
UFLA 03-84	0,7 (b)	5,3 (b)	6,0 (b)	139,0 (a)	1,4 (a)	181,7 (b)
	1,0/0,4	6,3/4,5	6,7/5,5	163,0/97,0	2,7/0,5	225,0/146,9
INPA 03-11b	0,8 (b)	2,9 (c)	3,8 (c)	89,0 (a)	0,5 (a)	90,3 (c)
	1,3/0,5	3,5/2,3	4,2/3,2	151,0/37,0	0,9/0,2	110,4/78,6
NH ₃ NH ₄	3,4 (a)	11,5 (a)	14,9 (a)	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	462,1 (a)
	4,8/1,9	12,2/10,7	16,5/14,0	0,0/0,0	0,0/0,0	473,9/443,8
Sem N	0,6(b)	0,3 (e)	0,9 (e)	0,0	0,0	2,7 (e)
	0,7/0,3	0,4/0,2	0,6/0,2	0,0/0,0	0,0/0,0	1,9/0,5

⁽¹⁾ Sistemas de uso da terra. ⁽²⁾ FP: Floresta primária. ⁽³⁾ P: Pastagem. ⁽⁴⁾ A: Agrofloresta. ⁽⁵⁾ AG: Agricultura. ⁽⁶⁾ FI: Floresta secundária em estágio inicial de regeneração. ⁽⁷⁾ FA: Floresta secundária em estágio avançado de regeneração. ⁽⁸⁾ Letras diferentes entre parênteses diferem na coluna pelo teste t de Bonferroni (p<0,05). ⁽⁹⁾ Limites de máximo e mínimo.

As populações de BNL nos SUTs, com exceção da floresta primária, agricultura e floresta secundária em estádio inicial de regeneração, promoveram acréscimos nos valores de MSPA, MST e acúmulo de N na MSPA em relação ao controle (sem nitrogênio e sem inoculação) (Tabela 1). Apesar disto, foram ineficientes em relação aos controles inoculados com as estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11b. A deficiência de nitrogênio no controle sem N e sem inoculação, e também nas plantas inoculadas com populações ineficientes, foi detectada visualmente, com as plantas apresentando clorose generalizada e menor crescimento vegetativo (Figura 1).



FIGURA 1 Eficiência das populações de bactérias que nodulam leguminosas em simbiose com caupi cultivado em vaso de Leonard. Da esquerda para direita: controle sem inoculação e sem adubação nitrogenada, quatro vasos subseqüentes inoculados com soluções de solos diluídos a 10^{-1} , oriundos de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia, quinto vaso inoculado com a estirpe recomendada pela RELARE para caupi e o sexto sem inoculação e com adubação nitrogenada.

As altas temperaturas registradas no início do experimento, na fase inicial de nodulação das plantas, possivelmente prejudicaram a eficiência da simbiose, uma vez que os controles, que foram inoculados com as estirpes recomendadas pela RELARE, apresentaram crescimento inferior em relação à testemunha nitrogenada, com NN médio de 139 para UFLA 03-84 e 89 para INPA 03-11b e produção de MSPA de 5,3 e 2,9, respectivamente. Sabe-se que plantas adubadas com N são mais tolerantes aos estresses abióticos que plantas cuja aquisição deste nutriente se origina da fixação biológica de nitrogênio (Moreira & Siqueira, 2002). Por outro lado, o experimento foi conduzido durante dois meses e a quantidade de N mineral fornecido ao controle foi maior em relação a outro trabalho conduzido por Lima et al. (2005), durante 30 dias com fornecimento de 201 mg de nitrogênio ao controle mineral. No experimento de Lima et al. (2005), os controles UFLA 03-84 e INPA 03-11B apresentaram a mesma produção de MSPA que o controle com N mineral, 13,06 e 9,97 g, respectivamente, com NN de 871 e 753, respectivamente. Como a tolerância a altas temperaturas deve ser considerada na seleção de isolados eficientes para condições tropicais, pode-se considerar que as populações que nodularam o caupi são efetivas e apresentam potencial como fonte de recursos genéticos para inoculantes nos trópicos.

Para a análise conjunta das variáveis relacionadas ao crescimento e nodulação do caupi (que reflete eficiência das populações de bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio), como MSPA, MSR, MST, NN, PNF e ANPA, e seu comportamento dentro dos SUTs, realizou-se a análise de componentes principais (ACP).

A ACP apresentou autovalores de 0,901 no primeiro eixo e 0,076 no segundo, e os dois componentes explicam aproximadamente 98% da variação total (Tabela 2).

TABELA 2 Correlação entre as variáveis independentes com cada componente principal.

VARIÁVEL	PC1	PC2
MST ⁽¹⁾	-0,578	0,564
PNF ⁽²⁾	-0,561	-0,800
ANPA ⁽³⁾	-0,592	0,207
Proporção explicada	0,901	0,076

⁽¹⁾ Matéria seca total. ⁽²⁾ Peso de nódulo fresco. ⁽³⁾ Acúmulo de nitrogênio na parte aérea.

As variáveis mais correlacionadas com o primeiro eixo de ordenação foram MST e ANPA, com índices de correlação de -0,578 e -0,592; respectivamente; e para o segundo eixo, a característica relevante para ordenação foi PNF (-0,80) (Tabela 2 e Figura 2 a).

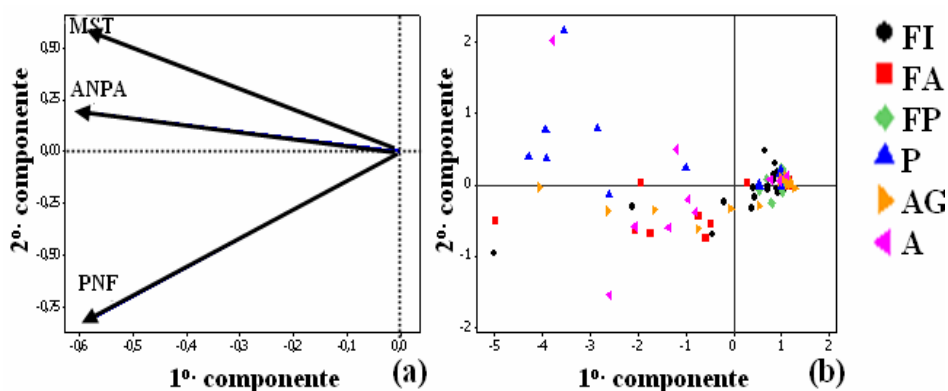


FIGURA 2 (a) Diagrama de ordenação das variáveis: matéria seca total (MST), acúmulo e nitrogênio na matéria seca da parte aérea (ANPA) e peso de nódulo fresco (PNF). (b) SUTs analisados: FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração; FP: floresta primária; P: pastagem; AG: agricultura e A: agrofloresta.

Todos os pontos sob floresta primária e a maioria dos pontos da floresta secundária em estágio inicial de regeneração e da agrofloresta agruparam-se no centro do gráfico, apresentando baixa correlação com as variáveis de maior relevância (Figura 2 b). As produções de MSPA da floresta primária, agricultura e floresta secundária em estágio inicial de regeneração foram semelhantes à testemunha sem nitrogênio, podendo-se inferir que as populações de BNL, nestes SUTs, são ineficientes em estabelecer a simbiose e fixar N em caupi (Tabela 1).

A ocorrência de bactérias que nodulam caupi na floresta primária foi bem reduzida e os nódulos coletados nas raízes de caupi apresentaram-se pequenos e esbranquiçados quando esmagados, indicando ausência de leghemoglobina. Tal fato pode ser atribuído à falta do hospedeiro, que condiciona as células a se adaptarem às condições saprofíticas, em que coexistem com a grande diversidade de microrganismos edáficos (Borneman & Triplett, 1997) e muitas espécies ocupam mesmo nicho ecológico, havendo, provavelmente, uma baixa densidade das populações de bactérias que nodulam caupi. Moreira & Franco (1994) também atribuem a carência de nódulos coletados em solos sob vegetação clímax ao baixo requerimento por N, que não é considerado um fator limitante nestas condições. Outro fator que limita a nodulação é a utilização da planta isca, a qual seleciona os simbiontes específicos para a sua nodulação. Resultados semelhantes, em florestas clímax na Amazônia, já foram encontrados por Magalhães et al. (1982), Bonetti et al. (1984), Moreira et al. (1992) e Jesus et al. (2005); em cerrado nativo no nordeste brasileiro, por Zilli et al. (2004); e em floresta tropical úmida na África, por Fening & Danso (2002).

Nos demais SUTs, verificaram-se alguns pontos dispersos pelos eixos, sendo a maior parte mesclada junto com o pontos da floresta primária. Assim, floresta secundária em estágio inicial e avançado, agricultura e pastagem foram

muito heterogêneos, o que é comprovado pela variabilidade das variáveis analisadas (Figura 2 b) e suas respectivas médias (Tabela 1).

Em virtude da complexidade na discriminação dos SUTs, outras duas ACPs foram realizadas com o objetivo de visualizar o comportamento dos pontos amostrais. A primeira ACP englobou a floresta secundária em estágio inicial e avançado de regeneração e floresta primária e a segunda, pastagem, agrofloresta e agricultura.

Na primeira situação as principais variáveis para a distribuição dos pontos amostrais de cada SUT foram: no primeiro eixo, MST (-0,58), PNF (-0,58) e ANPA (-0,58), e no segundo, MST (-0,79) (Tabela 3 e Figura 3 a), explicando em 98% a variação total (Tabela 3).

TABELA 3 Correlação entre as variáveis independentes referentes ao crescimento e nodulação do caupi com cada componente principal para os sistemas de uso floresta primária e floresta secundária em estágio inicial e avançado de regeneração.

VARIÁVEL	PC1	PC2
MST ⁽¹⁾	-0,575	-0,794
PNF ⁽²⁾	-0,580	0,223
ANPA ⁽³⁾	-0,577	0,566
Proporção explicada	0,966	0,021

⁽¹⁾ Matéria seca total. ⁽²⁾ Peso de nódulo fresco. ⁽³⁾ Acúmulo de nitrogênio na parte aérea

Observou-se que os tratamentos inoculados com solos oriundos da floresta secundária em estágio inicial apresentaram-se mais similares aos da floresta primária (Figura 3 b).

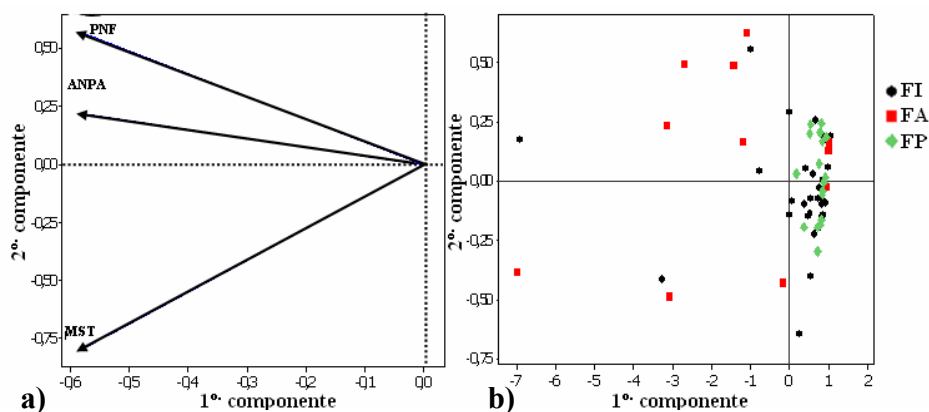


FIGURA 3 (a) Diagramas de ordenação das variáveis: matéria seca total (MST), acúmulo e nitrogênio na matéria seca da parte aérea (ANPA) e peso de nódulo fresco (PNF). (b) SUTs analisados: FI: floresta secundária em estágio inicial de regeneração; FA: floresta secundária em estágio avançado de regeneração FP: floresta primária.

No geral, a floresta secundária em estágio avançado de regeneração apresentou-se muito heterogênea e a floresta secundária em estágio inicial de regeneração um ponto destacou-se quanto ao acúmulo de N na MSPA.

Na segunda situação, englobando a pastagem, agrofloresta e agricultura, as principais variáveis determinantes do primeiro eixo foram MST (-0,58), PNF (-0,56) e ANPA (-0,60), e no segundo, PNF (-0,81) (Tabela 4 e Figura 4 b), resultados que explicam em 97% a variação entre os tratamentos (Tabela 4).

TABELA 4 Correlação entre as variáveis independentes referentes ao crescimento e nodulação do caupi com cada componente principal para os sistemas de uso agricultura, agrofloresta e pastagem.

VARIÁVEL	PC1	PC2
MST ⁽¹⁾	-0,580	0,543
PNF ⁽²⁾	-0,556	-0,809
ANPA ⁽³⁾	-0,596	0,226
Proporção explicada	0,880	0,093

⁽¹⁾Matéria seca total, ⁽²⁾ peso de nódulo fresco, ⁽³⁾ acúmulo de nitrogênio na parte aérea.

Estes SUTs apresentaram aproximadamente a metade dos pontos muito próximos (Figura 4 b), indicando menor variabilidade das populações quanto a promover o crescimento e nodulação do caupi. Contudo, existem também pontos dispersos e correlacionados com as variáveis ANPA e MST, indicando que suas populações são mais eficientes, como, por exemplo, o ponto da pastagem, em que o valor de máximo para a produção de MSPA foi similar ao produzido com a estirpe UFLA 03-11b (Tabela 1). Geralmente, o maior peso de nódulos correlaciona-se com a maior eficiência das bactérias em fixar nitrogênio e, conseqüentemente, com a maior aquisição de nitrogênio e produção de matéria seca da parte aérea.

Os pontos coletados na agricultura da comunidade de Nova Aliança foram os mais correlacionados com os da floresta primária, uma vez que apresentaram a menor média de NN e PNF (Tabela 1). A baixa eficiência das fontes de inóculo em proporcionar aumento na matéria seca da parte aérea pode estar relacionada com a baixa capacidade de fixação do N atmosférico da população de bactérias diazotróficas simbióticas presentes nas amostras, o que também foi constatado por Hara & Oliveira (2005).

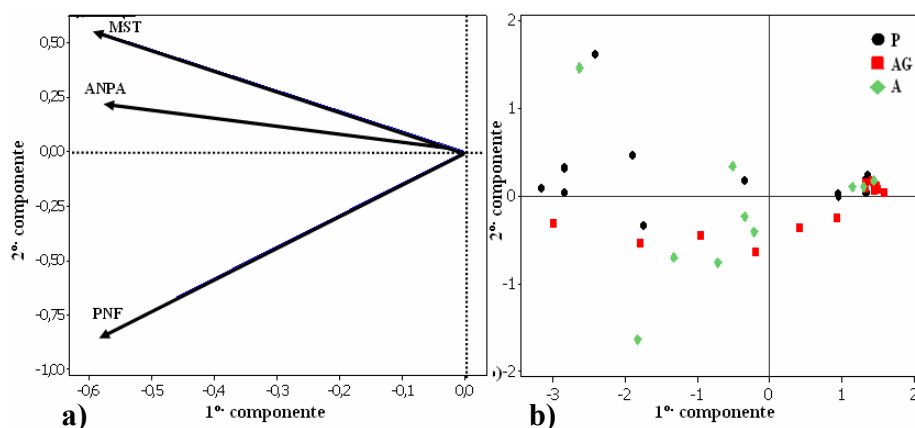


FIGURA 4 (a) Diagramas de ordenação das variáveis: matéria seca total (MST), acúmulo e nitrogênio na matéria seca da parte aérea (ANPA) e peso de nódulos fresco (PNF). (b) SUTs analisados: P: pastagem; AG: agricultura e A: agrofloresta.

Para a agricultura, considerando, para o cálculo da média, apenas os pontos amostrais que apresentaram nodulação, capturaram-se 64 nódulos, sendo esta ocorrência maior que nos demais SUTs. Contudo, cerca de 50% dos pontos não apresentaram nodulação, justificando a grande amplitude registrada (Tabela 1). Para todas as médias dos pontos em que a nodulação foi nula, o valor médio de R, que representa número de anos de cultivo * 100 sobre o tempo do ciclo de uso da terra (Fidalgo et al., 2005), foi maior do que a média dos pontos que apresentaram nodulação. Nessas áreas, que pertencem à comunidade Nova Aliança, os solos eram cultivados por ciclos de intensidade média, com pousios de dois a cinco anos. A maior parte dos pontos que apresentaram nodulação está localizada na comunidade Guanabara II, onde o cultivo foi classificado como itinerante com pousio longo (de 4 a 5 anos), que envolve o abandono de áreas cultivadas, permitindo a regeneração natural (Fidalgo et al., 2005). Isto possivelmente favoreceu o aumento das populações de bactérias que nodulam

leguminosas, uma vez que o N é de fundamental importância para a nutrição das plantas na sucessão vegetal, havendo, assim, maior estímulo para o estabelecimento das associações e simbioses entre plantas e bactérias fixadoras de N e pressão seletiva para estirpes eficientes.

Na agrofloresta, segundo Fidalgo et al. (2005), foi identificada a maior diversidade de espécies vegetais em conjunto com espécies úteis para as comunidades, como abacaxi, pupunha (*Bactris gasipaes*), cupuaçu (*Teobroma grandiflorum*), banana, café, mapati (*Pouroma cecropiifolia*), ingá (*Inga* sp.), abiu (*Pouteria* sp.) e açaí (*Euterpe precatória*). Essa diversidade vegetal pode estar estimulando a sobrevivência e multiplicação das populações de bactérias fixadoras de N no solo, uma vez que muitas plantas têm habilidade para modificar o pH rizosférico, favorecendo maior disponibilidade de nutrientes (Muofhe & Dakora, 2000) e excreção de ácidos orgânicos para solubilização de minerais, e outras podem tanto estimular quanto inibir determinados grupos de microrganismos, favorecendo ou desfavorecendo a ocorrência e/ou competição entre eles (Hartwing et al., 1991; Tsai & Phillips, 1991; Siqueira et al., 1991). Como favorecimento das populações de bactérias diazotróficas, algumas plantas induzem os genes nod (Dakora, 2003) ou estimulam a quimiotaxia entre a bactéria e a superfície radicular do hospedeiro (Caetano-Anolles et al., 1988).

Conforme verificado anteriormente, houve pontos localizados à direita do primeiro e do segundo eixos (Figuras 3 b e 4 b) que apresentaram alta correlação com MST e ANPA; dessa forma, a análise isolada destes é pertinente.

3.2 Eficiência pontual das populações de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam caupi

Cerca de 11 pontos coletados nos diferentes SUTs apresentaram as maiores médias de MSPA, MST, NN e ANPA, com eficiência relativa maior ou igual a 70% em relação à estirpe INPA 03-11b. Três desses foram coletados na

agricultura, dois na agrofloresta, um na floresta secundária em estágio inicial de regeneração e cinco na pastagem. Analisando-os em comparação com as estirpes tipo (Tabela 5), observa-se que em relação à produção de MSR, MST, PNF e NN não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

As populações dos pontos 17A, 21, 24A e 94 foram as que produziram menor MSPA em relação às plantas inoculadas com a estirpe UFLA 03-84 e foram similares àquelas inoculadas com a estirpe INPA 03-11b. Já as populações dos pontos 18, 19, 29, 87, 92, 93 e 96 apresentaram a mesma produção de MSPA que as estirpes UFLA 03-84 e INPA 03-11B.

Quanto ao ANPA das plantas, que reflete a capacidade de fixação de nitrogênio pelas populações de BNL, somente o ponto 17A diferiu da estirpe UFLA 03-84. Os demais pontos apresentaram as populações de BNL capazes de fixar nitrogênio como as estirpes recomendadas para inoculação em caupi.

Estirpes eficientes podem ser encontradas tanto em populações ineficientes como eficientes nodulando a planta hospedeira, uma vez que a competição pelos sítios de infecção (que levam à nodulação) independe da característica da eficiência. Por outro lado, pode-se esperar maior probabilidade de encontrar estirpes eficientes e competitivas nas populações que nodularam eficientemente. Em estudos posteriores, o objetivo será o de testar a eficiência de estirpes isoladas para verificar potenciais estirpes inoculantes para a cultura do caupi. A seleção de isolados em condições adversas do solo é realizada com mais sucesso entre aqueles que foram naturalmente expostos a estresses (Hara & Oliveira, 2005). Estes autores selecionaram isolados em solos álicos e ácidos em Presidente Figueiredo, AM e identificaram alguns com capacidades diferentes de solubilizar fosfato em meio de cultura, além da FBN, e de tolerar alumínio em concentrações tóxicas. Assim, isolados obtidos nos solos do presente estudo apresentam-se como potenciais para condições adversas que predominam em solos tropicais, uma vez que foram oriundos de solos ácidos com altos teores de

Al e com baixos teores de fósforo, fatores limitantes na maioria dos solos brasileiros, além de estabelecerem simbiose em temperaturas elevadas, conforme já comentado anteriormente.

TABELA 5 Matéria seca da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA), total (MST), número de nódulo (NN), peso de nódulo fresco (PNF) e acúmulo de nitrogênio (mg planta^{-1}) na parte aérea (ANPA) de plantas de caupi cultivadas com suspensões de solo oriundos dos pontos amostrados nos SUTs que apresentaram eficiência relativa igual ou acima de 70% em relação à estirpe inoculante INPA 03-11B.

PONTO	MSR	MSPA	MST	PNF	NN	ANPA	03-84	03-11b
	-----g-----				----nº--	---mg ⁻¹ --	-----%---	
17 A	0,7 a ⁽¹⁾	2,0 b	2,7 a	0,7 a	33,0 a	42,2 b	39 b	70 b
18	1,3 a	3,6 ab	4,9 a	2,7 a	100,3 a	91,6 ab	68 ab	122 ab
19	1,6 a	2,4 ab	4,0 a	2,0 a	91,3 a	94,5 ab	46 ab	84 ab
21	1,0 a	2,2 b	3,1 a	1,7 a	124,3 a	60,6 ab	41 b	75 b
24 A	3,8 a	2,3 b	6,1 a	1,0 a	75,3 a	76,3 ab	44 b	80 b
29	1,7 a	2,8 ab	4,5 a	3,0 a	142,0 a	91,3 ab	53 ab	96 ab
87	0,9 a	3,3 ab	4,3 a	1,8 a	73,3 a	107,0 ab	63 ab	114 ab
92	1,4 a	2,9 ab	4,2 a	1,2 a	57,3 a	65,9 ab	54 ab	99 ab
93	0,9 a	3,7 ab	4,5 a	1,8 a	147,0 a	84,7 ab	70 ab	126 ab
96	2,8 a	3,0 ab	5,9 a	0,7 a	33,6 a	79,0 ab	58 ab	105 ab
94	3,1 a	2,3 b	5,4 a	1,7 a	92,0 a	71,6 ab	43 b	78 b
UFLA 03-84	0,7 a	5,2 a	6,0 a	1,4 a	139,0 a	181,1 a	100 a	181 a
INPA 03-11b	0,9 a	2,9 ab	3,8 a	0,5 a	89,0 a	90,3 ab	55 ab	100 ab

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra, nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Bonferroni ($p < 0,05$).

3.3 Correlação canônica entre atributos edáficos e variáveis relacionadas ao crescimento e nodulação da planta

O primeiro par canônico foi dado pelas expressões $V_1 = -44,068\text{MSR} + \dots -0,944\text{PNF}$ e $W_1 = -0,022\text{P} + \dots +0,0$ argila produzidas através das estimativas das variáveis canônicas dos grupos de variáveis que representam o crescimento e nodulação da plantas V_1 (Tabela 6 a) e os atributos edáficos W_1 (Tabela 6 b).

Dentre as variáveis referentes ao crescimento e nodulação do caupi, o NN apresentou a maior importância, que foi medida pela sua correlação (81,4%) com a variável canônica V_1 , seguido da MSPA (72%) (Tabela 7).

TABELA 6 Estimativas das variáveis canônicas padronizadas referentes ao crescimento e nodulação de caupi (V_1) (a) e dos atributos edáficos (W_1) (b).

(a)

Variável referente ao crescimento e nodulação do caupi					
	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5
MSR ⁽¹⁾	-44,068	-36,889	-15,399	-83,468	65,653
MSPA ⁽²⁾	-58,458	-51,115	-21,520	-114,111	86,708
MST ⁽³⁾	91,272	78,527	33,679	174,026	-135,921
NN ⁽⁴⁾	1,254	1,202	-1,296	-0,305	1,097
PNF ⁽⁵⁾	-0,944	-1,732	1,029	1,566	0,312

⁽¹⁾ Matéria seca de raiz. ⁽²⁾ Matéria seca da parte aérea. ⁽³⁾ Matéria seca total. ⁽⁴⁾ Número de nódulo. ⁽⁵⁾ Peso de nódulo fresco.

(b)

Variável referente aos atributos edáficos					
	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5
Fósforo	-0,022	0,550	-0,082	-0,153	0,151
Potássio	0,338	0,900	-0,693	-0,331	-0,996
Cálcio	20,788	26,144	-10,746	-16,693	-40,242
Magnésio	7,211	9,021	-4,333	-6,070	-13,426
CTC potencial	-0,135	0,080	0,309	1,285	-0,824
Soma de bases	2,117	9,751	7,148	-4,104	33,276
CTC efetiva	-24,544	-35,854	6,078	22,188	15,168
Zinco	0,038	-0,166	-0,528	-0,151	-0,087
Ferro	0,435	0,317	-0,539	-0,577	-0,059
Manganês	0,270	-0,399	0,026	-0,481	0,235
Cobre	0,180	-0,179	-0,228	0,112	0,323
Boro	0,677	-0,086	-0,115	0,280	0,121
Enxofre	0,142	0,228	0,515	-0,379	-0,077
Alumínio	18,203	25,874	-3,888	-18,938	-11,877
Saturação por Alumínio	0,084	0,833	-0,522	2,280	2,116
Matéria orgânica	0,034	0,118	0,080	0,534	-0,296
Umidade	-0,148	-0,157	0,298	0,172	-0,574
Areia	-0,311	0,174	0,808	0,168	-0,287
Silte	0,0145	-0,130	0,110	-0,135	-0,3477
Argila	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

TABELA 7 Correlação entre as variáveis referentes ao crescimento e nodulação de caupi e sua variável canônica (V_1).

Variável ⁽¹⁾	Variável canônica				
	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5
MSR ⁽²⁾	0,197	0,334	0,838	-0,134	0,361
MSPA ⁽³⁾	0,721	-0,301	0,546	-0,282	0,081
MST ⁽⁴⁾	0,563	-0,039	0,756	-0,244	0,223
NN ⁽⁵⁾	0,814	-0,212	0,232	0,01	0,489
PNF ⁽⁶⁾	0,621	-0,468	0,478	0,102	0,396

⁽¹⁾ Variável referente ao crescimento e nodulação do caupi. ⁽²⁾ Matéria seca de raiz. ⁽³⁾ Matéria seca da parte aérea. ⁽⁴⁾ Matéria seca total. ⁽⁵⁾ Número de nódulo. ⁽⁶⁾ Peso de nódulo fresco.

Para as variáveis referentes aos atributos edáficos, o ferro, com 53%, e o boro, com 67%, apresentaram as maiores correlações com a variável canônica W_1 . Já os demais atributos edáficos analisados tiveram menor importância, ou seja, menor correlação com a variável canônica (Tabela 8).

TABELA 8 Correlação entre as variáveis referentes aos atributos edáficos e sua variável canônica (W_1).

Variável ⁽¹⁾	Variável canônica				
	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5
Fósforo	-0,100	0,538	-0,063	-0,239	0,052
Potássio	-0,325	0,316	-0,355	-0,062	-0,218
Cálcio	-0,086	0,229	0,177	-0,127	-0,327
Magnésio	-0,237	0,179	-0,079	-0,131	-0,142
Acidez potencial	0,319	0,081	-0,017	0,405	0,134
Soma e bases	-0,141	0,236	0,111	-0,138	-0,297
CTC efetiva	0,038	0,317	0,115	0,045	-0,165
Zinco	-0,207	0,007	-0,366	-0,030	-0,319
Ferro	0,531	0,268	-0,222	-0,125	0,147
Manganês	0,307	-0,239	0,188	-0,269	-0,122
Cobre	-0,024	-0,068	-0,137	-0,038	0,115
Boro	0,672	0,037	0,101	0,083	-0,198
Enxofre	0,097	0,319	0,550	-0,329	-0,052
Alumínio	0,278	0,059	-0,023	0,283	0,249
Saturação por alumínio	0,291	0,021	-0,029	0,357	0,393
Matéria orgânica	0,078	0,165	-0,064	0,181	-0,451
Umidade	0,104	0,023	-0,016	0,083	-0,346
Areia	-0,146	0,115	0,153	-0,063	0,096
Silte	-0,036	-0,318	-0,154	-0,168	-0,082
Argila	0,198	0,128	-0,050	0,211	-0,043

⁽¹⁾ Variável referente aos atributos edáficos

A correlação entre as variáveis canônicas referentes ao crescimento e nodulação do caupi (V_1) e os atributos edáficos (W_1) reproduziu a maior correlação global, de 66,5% (Tabela 9).

TABELA 9 Correlação amostral entre os pares canônicos referentes ao crescimento e nodulação de caupi (V_1) e dos atributos edáficos (W_1).

	V_1	V_2	V_3	V_4	V_5
W_1	0,6646	0,0	0,0	0,0	0,0
W_2	0,0	0,6212	0,0	0,0	0,0
W_3	0,0	0,0	0,5725	0,0	0,0
W_4	0,0	0,0	0,0	0,3812	0,0
W_5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3390

Considerando a correlação entre as variáveis referentes ao crescimento e nodulação da plantas e as que representam os atributos edáficos (V_i x atributos edáficos), verifica-se que o NN, com 54%, foi a variável com maior correlação com W_1 (Tabela 10), e que o teor de boro, entre os atributos químicos, apresentou a maior correlação com a variável canônica V_1 (44,7%) (Tabela 11).

TABELA 10 Correlação das variáveis referentes ao crescimento e nodulação de caupi e atributos edáficos (W_1).

Variável referente crescimento e nodulação	Variável referente aos atributos edáficos				
	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5
MSR ⁽¹⁾	0,131	0,207	0,480	-0,051	0,122
MSPA ⁽²⁾	0,480	-0,192	0,313	-0,107	0,027
MST ⁽³⁾	0,375	-0,024	0,433	-0,093	0,078
NN ⁽⁴⁾	0,541	-0,131	0,133	0,002	0,166
PNF ⁽⁵⁾	0,413	-0,291	0,277	0,039	0,134

⁽¹⁾ Matéria seca de raiz. ⁽²⁾ Matéria seca da parte aérea. ⁽³⁾ Matéria seca total. ⁽⁴⁾ Número de nódulo. ⁽⁵⁾ Peso de nódulo fresco.

Os demais atributos apresentaram correlações baixas, que podem ser consideradas desprezíveis.

O boro é essencial para o crescimento de microrganismos e pode ter estimulado a densidade de BNL. De fato, baixos teores de boro podem afetar negativamente a nodulação das leguminosas (Azevedo et al., 2002; Redondo-Nieto et al., 2003) e, neste estudo, as BNL oriundas de amostras de solos com maiores teores de boro tiveram maior crescimento e nodulação do caupi, uma vez que a correlação entre o boro e o grupo das variáveis referentes ao caupi foi a maior e mais positiva (Tabela 11).

TABELA 11 Correlação dos atributos edáficos variáveis referentes ao crescimento e nodulação do caupi (V₁).

Atributos edáficos	Crescimento e nodulação do caupi				
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅
Fósforo	-0,066	0,334	-0,036	-0,091	0,018
Potássio	-0,216	0,196	-0,203	-0,024	-0,074
Cálcio	-0,057	0,142	0,102	-0,049	-0,111
Magnésio	-0,157	0,111	-0,046	-0,050	-0,048
CTC potencial	0,212	0,050	-0,010	0,155	0,046
Soma de bases	-0,094	0,147	0,064	-0,053	-0,101
CTC efetiva	0,025	0,197	0,066	0,017	-0,056
Zinco	-0,138	0,004	-0,210	-0,012	-0,108
Ferro	0,353	0,167	-0,127	-0,048	0,050
Manganês	0,204	-0,148	0,108	-0,103	-0,041
Cobre	-0,016	-0,042	-0,079	-0,015	0,039
Boro	0,447	0,023	0,058	0,032	-0,067
Enxofre	0,064	0,199	0,315	-0,125	-0,018
Alumínio	0,185	0,037	-0,013	0,108	0,085
Saturação por Alumínio	0,194	0,013	-0,017	0,136	0,133
Matéria orgânica	0,052	0,102	-0,037	0,069	-0,153
Umidade	0,069	0,014	-0,009	0,032	-0,117
Areia	-0,097	0,071	0,088	-0,024	0,033
Silte	-0,024	-0,197	-0,088	-0,064	-0,028
Argila	0,132	0,080	-0,029	0,080	-0,015

A baixa correlação entre o grupo de variáveis relacionadas ao crescimento e nodulação do caupi e os atributos químicos do solo revela que a ocorrência e eficiência das populações de BNL, representada principalmente pelo número de nódulos, não está diretamente determinada pelos atributos químicos do solo. Embora aqueles solos tenham apresentado altos teores de Al^{3+} em todos os SUTs, conforme abordado no segundo capítulo, Jesus (2004) já havia identificado a falta de correlação entre densidades de células de bactérias nodulíferas de leguminosas quanto a este atributo em alguns solos próximos aos da área do presente estudo. Estes altos teores parecem não estar disponíveis para plantas e organismos do solo, uma vez que não são observados sintomas visuais de toxidez de Al^{3+} nas culturas da região. Marques et al. (2002) relataram que parte deste elemento compõe as lâminas existentes entre as camadas de esmectitas, resultado de adições de alúvios que se sedimentam e precipitam em solução, com posterior transformação em minerais primários 2:1, ficando parte indisponível no solo.

As plantas, através da exploração do solo pelas raízes e exudação de compostos orgânicos na rizosfera, podem controlar parâmetros abióticos do solo, como concentração de nutrientes e umidade, que podem modificar indiretamente a atividade e a diversidade microbiana (Paul & Clark, 1989), assim como ser fonte de carbono e energia, estimulando as populações de organismos. Neste estudo, verifica-se que as coberturas vegetais foram os fatores mais determinantes da ocorrência e eficiência das populações de BNL nos diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões-AM.

4 CONCLUSÕES

Populações de bactéria fixadoras de nitrogênio nodulíferas de caupi estão presentes em solos sob sistemas de pastagem, florestas primária, secundárias em estágio inicial e avançado de regeneração, agrofloresta e agricultura no Alto Rio Solimões, Amazônia.

As populações de bactéria fixadoras de nitrogênio nodulíferas de caupi em solos sob agricultura, floresta primária e secundária em estágio inicial de regeneração não foram eficientes em promover o crescimento do caupi.

O manejo do solo através da substituição da floresta primária por outros sistemas de uso como a agrofloresta, pastagem e floresta secundária em estágio avançado de regeneração estimulou a eficiência das populações de bactérias fixadoras de N.

As populações de bactéria fixadoras de nitrogênio nodulíferas oriundas de solos sob sistemas de pastagem, florestas secundárias em estágio inicial e avançado de regeneração, agrofloresta e agricultura foram heterogêneas com relação às suas eficiências em promover o crescimento do caupi.

Os atributos edáficos, com exceção do boro, apresentaram baixa correlação com a ocorrência e eficiência de populações de bactérias que nodulam leguminosas, sendo as diferenças nestas variáveis mais relacionadas com a vegetação.

As populações de bactéria fixadoras de nitrogênio nodulíferas de caupi oriundas dos pontos 24 A (situado na agrofloresta), 87, 92, 93, 94 e 96 (pastagem), 18, 19 e 21 (agricultura) e 29 (floresta primária em estágio inicial de regeneração) apresentam-se como potenciais para isolamento de estirpes eficientes e competitivas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, D.S.; MURPHY, P.J.; GILLER, K.E. The diversity of *Phaseolus* nodulating rhizobial populations is altered by limiting of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brasil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.4025-4034, 2002.
- AZEVEDO, W.R. et al. Efeito do boro na nodulação da ervilha cultivada em solos de várzea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.8, p. 1137-1143, 2002.
- BONETTI, R.; OLIVEIRA, L.A.; MOREIRA, F.M.S. População de *Rhizobium* spp e ocorrência de micorriza VA em cultivos de essências florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.137-142, 1984.
- BORNEMAN, J.; TRIPLETT, E.W. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: Evidence for unusual microorganisms and microbial populations shifts associated with deforestation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, n.7, p.2647-2653, 1997.
- CAETANO-ANOLLES, G.; CRIST-ESTES, D.K.; BAUER, D.W. Chemotaxis of *Rhizobium meliloti* to the plant flavone luteolin requires functional nodulation genes. **Journal of Bacteriology**, v.170, p.3164-3169, 1988.
- COUTINHO, H.L.C. et al. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology**, v.13, p.159-167, 1999.
- DAKORA, F.D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. **New Phytologist**, n.158, p.39-49, 2003.
- DEPRET, G. et al. Long-term effects of crop management on *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* populations. **FEMS Microbiology Ecology**, v.51, n.1, p.87-97, 2004.
- FENING, J.O.; DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.23-29, 2002.

FERREIRA, M.C. et al. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, v.32, p.627-637, 2000.

FIDALGO, E. C. C. et al. **Levantamento do uso e cobertura da terra de seis áreas amostrais relacionadas ao projeto “Conservation and sustainable management of below-ground biodiversity: Phase 1”, Município de Benjamin Constant (AM)**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. Apostila.

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

HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n. 7, p.667-672, 2005.

HARTWING, U.A.; JOSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. Flavonoids release naturally from alfafa seeds enhance growth of *Rhizobium meliloti*. **Plant Physiology**, v.95, p.797-803, 1991.

JESUS, E.C. **Diversidade de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de três sistemas de uso da terra na região do Alto-Solimões – AM**. 2004. 114p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

JESUS, E.C. et al. Diversidade de bactérias que nodulam siratro em três sistemas de uso da terra da Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, p.769-776, 2005.

KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.74, p.65-76, 1999.

KIRK, J.L. et al. Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods**, v.58, p.169-188, 2004.

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

LEWIN, A. et al. Multiple host-specificity loci of the broad host-range *Rhizobium* sp. NGR234 selected using the widely compatible legume *Vigna unguiculata*. **Plant Molecular Biology**, v.8, p.447-459, 1987.

LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.M.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Isoladas de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1095-1104, 2005.

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

MARQUES, J.J. et al. Mineralogy of soils with unusually high exchangeable Al from the western Amazon Region. **Clay Minerals**, 37, p.651-661, 2002.

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

MELLONI, R. et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) walp] e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.2, p.230-243, 2006.

MIETHLING, R.; AHRENDTS, K.; TEBBE, C.C. Structural differences in the rhizosphere community-level physiological profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, v.35, p.1405-1410, 2003.

MOREIRA, F. M. S.; BIGNELL, D. E. 2006. **Standard methods for assessment of soil biodiversity in the context of land-use practice**. Nairobi, Quênia, 2006. (no prelo).

MOREIRA, F.M.S.; FRANCO, A.A. Rhizobia – Host interactions in tropical ecosystems in Brazil. In: SPRENT, J.I.; D.Mc KEY. (Ed.). **Advances in legume systematics 5: The nitrogen factor**. Royal Botanic Garden, Kew, Inglaterra: 1994. p.63-74.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, MF; FARIA, S.M. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon region of Brazil. **New Phytologist**, Cambridge, v.121, p.563-570, 1992.

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

MUOFHE, M.I.; DAKORA, F.D. Modification of rhizosphere pH by the symbiotic legume *Aspalathus linearis* growing in a sandy acid soil. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.54, p.1169-1173, 2000.

ODEE, D.W. et al. Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. **Plant and Soil**, v.188, p.65-75, 1997.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego, CA: Academic, 1989. 275p.

PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia**. 2000. 93p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOFTWARE R (R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

REDONDO-NIETO, M. et al. Relationship between boron and calcium in the N₂-fixing legume-rhizobia symbiosis. **Plant, Cell Environmental**, v.26, n.1, p.1905-1915, 2003.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Esalq/USP, 1979. 27 p.

SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. **New Phytologist**, v.118, p.87-93, 1991.

TSAI, S.M. PHILLIPS, D.A. Flavonoids released naturally from alfafa promote development of symbiotic *Glomus* spores in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.1485-1488, 1991.

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

ZILLI, J.E. et al. Assessment of cowpea *Rhizobium* diversity in cerrado areas of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.281-287, 2004.

CAPÍTULO 4

DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE N₂ QUE NODULAM CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] ISOLADAS DE SOLOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE USO NA REGIÃO DO ALTO RIO SOLIMÕES - AM

RESUMO

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Diversidade de bactérias fixadoras de N₂ que nodulam [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] isoladas de solos sob diferentes sistemas de uso na Região do Alto Rio Solimões - AM. In: _____. **Efeito de sistemas de uso da terra na Amazônia sobre atributos do solo, ocorrência, eficiência e diversidade de bactérias que nodulam caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]**. 2006. Cap. 4, p.101-138. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG¹.

Como o objetivo de avaliar a diversidade fenotípica de bactérias que nodulam leguminosas (BNL), coletaram-se 98 amostras de solo na camada de 0-20 cm, distribuídas nos sistemas de uso da terra (SUTs) pastagem (P), agricultura (AG), agrofloresta (A), floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), floresta secundária em estágio avançado de regeneração (FA) e floresta primária (FP), localizados no Alto Rio Solimões, AM, sendo que em nenhuma das áreas houve introdução de estirpes exóticas através da inoculação. Para isto, instalou-se o experimento para a captura das bactérias nativas em vasos de Leonard, no Laboratório de Microbiologia do Solo/DCS/UFLA, nos meses de agosto a outubro de 2004, utilizando como planta-isca o caupi, considerada altamente promíscua. Realizaram-se o isolamento e a caracterização cultural de 217 isolados oriundos da FI, 206 na P, 188 na A, 158 na AG, 137 na FA e 104 na FP, totalizando 1010 isolados. Através do dendrograma construído com as características culturais e analisado a 87,5% de similaridade, obteve-se a riqueza das espécies observada e estimada através do índice Chao 2 e plotou-se a curva de acumulação para este índice. Dos 1010 isolados de bactérias que nodulam leguminosas obtidos, 125 foram autenticados pela capacidade de nodulação na espécie de origem e 42 foram autenticados através da avaliação da presença dos genes *nodC* e *nifH*. Posteriormente, dos isolados autenticados, 114 foram comparados através das características culturais e de proteínas totais por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). Dos 1010 isolados de BNL obtidos, 503 apresentaram crescimento rápido; 78, intermediário; 417, lento; e 12, muito lento; e quanto à modificação do pH do meio de cultura, 497 acidificaram, 205 alcalinizaram e 308 não modificaram o pH. Combinando as características de pH e tempo de aparecimento das colônias, foram encontrados 12 tipos culturais principais nos diferentes SUTs. Os SUTs alteraram a riqueza das populações de bactérias que nodulam caupi, uma vez que os sistemas submetidos ao cultivo e com maior diversidade vegetal tiveram maior riqueza, observada e estimada na seguinte ordem: A>P>FI>FA>AG>FP. Pôde-se observar uma grande diversidade baseada nas análises fenotípicas pelas características culturais e dos perfis de proteína total, inclusive entre os isolados

dos sistemas de uso manejados. Essa diversidade indica a resiliência das bactérias às modificações implementadas pelas mudanças de uso da terra após a renovação da floresta. A diversidade obtida por caracterização cultural foi similar à obtida por perfis de proteína; assim, recomenda-se que a primeira, menos cara e mais rápida, seja utilizada em estudos de grande escala sobre a diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.

¹ Orientadora: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA

ABSTRACT

NÓBREGA, Rafaela Simão Abrahão. Diversity of nitrogen fixing bacteria nodulating cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] isolated from soils under different land use systems in Upper Solimões River region - AM. In: _____. **Effects of Amazonian land use systems on soil attributes, occurrence, efficiency and diversity of bacteria nodulating cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp].** 2006. Chap. 4, p.101-138. Thesis (Doctorate in Soil and Plant Nutrition) - Federal University of Lavras, Lavras, MG¹.

Aiming to evaluate phenotypic diversity of bacteria nodulating leguminous (BNL) species, 98 composed soil samples were collected in 0-20 cm depth, distributed in the land use systems (LUSs): pasture (P), agriculture (AG), agroforestry (A), Young secondary forest (FI), old secondary forest (FA) and pristine forest (FP) located in Upper Solimões river region, AM. No one of these areas received introduction of exotic BNL, by use of inoculants. Experiments to trap BNL, were carried out in Leonard, at Laboratório de Microbiologia do Solo/DCS/UFLA, from August to October, 2004, by using the promiscuous species cowpea as trap host. A total of 1010 isolates were gotten, distributed among LUS as follows: 217 isolates from FI, 206 from P, 188 from A, 158 from AG, 137 from FA and 104 from FP. A dendrogram were constructed based on cultural characteristics and groups formed at 87,5% similarity analyzed. Observed and estimated species richnesses (Chao 2 index) and acumulation curves were calculated. From the total 1010 isolates of BNL, 125 were autenticated by their capacity to nodulate the original host species and 42 isolates were autenticated through the presence of *nodC* and *nifH* genes. Later, 114 isolates were compared trough cultural characteristics and protein profiles in polyacrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). From the 1010 isolates of LBN, 503 presented fast growth, 78 presented intermediary growth, 417 presented slow growth and 12 very slow growth. Regarding medium pH modification 497 were acidifiers, 205 were alcalinizers and 308 did not change medium pH. By the combination of pH characteristics and time of appearance of isolated colonies, 12 cultural types were found among the different LUSs. The LUSs changed the population species richness of BNL, and those with highest plant species diversity were those with highest species diversity (estimated and observed) in the following order: A>P>FI>FA>AG>FP. A great diversity based on cultural and protein profiles, were observed even among isolates, including those of managed LUSs. This diversity is due to resilience of bacteria after soil changes occurring under the LUSs after removal of pristine forest. Diversity obtained by cultural characterization was similar to that obtained by protein

profiles, thus, it is recommended that the first, less expensive and fast, can be used in large scale studies of BNL studies.

¹ Adviser: Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

As mudanças do uso do solo, como a remoção da vegetação nativa para a introdução de florestas plantadas, cultivos de subsistência, monoculturas ou formação de pastagens, entre outros, provocam alterações na composição de espécies vegetais, nos níveis de matéria orgânica e de nutrientes e, conseqüentemente, podem afetar a estrutura das comunidades microbianas. Estes efeitos têm sido pouco demonstrados para bactérias que nodulam leguminosas (BNL) (Palmer & Young, 2000; Pereira, 2000; Depret et al., 2004; Zilli et al. 2004; Jesus et al., 2005; Kaschuk, et al., 2006).

A Amazônia, reconhecida pela grande biodiversidade, tanto da parte edáfica quanto da fauna e vegetação, possui extensas regiões pouco ou ainda não pesquisadas. Considerando grupos de microrganismos específicos do solo como as BNL, as informações sobre a ecologia e estrutura destas populações em ecossistemas brasileiros evidenciam que estas são constituídas por grande diversidade de estirpes, com eficiência simbiótica variável e potenciais de uso a serem explorados. Hara & Oliveira (2005), avaliando as características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de amostras de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, AM, identificaram rizóbios capazes de induzir a nodulação e incrementar a biomassa aérea do feijão caupi em condições de acidez e teores de alumínio elevados, além de encontrarem isolados capazes de solubilizar fosfatos de cálcio e de alumínio. Lacerda et al. (2004) mostraram que as estirpes INPA 03-11B, isolada de solos de Manaus, e UFLA 03-84, de pastagem em Rondônia, foram eficientes em fixar nitrogênio em simbiose com caupi em condições de campo; além disso, a estirpe UFLA 03-84 apresentou alta tolerância a cloreto de sódio *in vitro* (Nóbrega et al., 2004), podendo ter grande potencial para estudos no semi-árido brasileiro. Lima et al. (2005), avaliando a diversidade fenotípica e a eficiência simbiótica de estirpes

de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia, identificaram 13 estirpes que induziram a produção de matéria seca e a eficiência relativa similares às da testemunha nitrogenada e cinco que induziram o acúmulo de N superior a esta. Moreira et al. (1993) verificaram, mediante análise de proteína total por SDS-PAGE, que a maior parte das estirpes isoladas de espécies florestais da Amazônia e da Mata Atlântica pertencia ao gênero *Bradyrhizobium*, e que havia grande diversidade dentro desse gênero e nas demais estirpes de outros gêneros.

Antes da década de 90, as espécies conhecidas de bactérias que nodulam leguminosas eram todas oriundas de regiões temperadas e poucos estudos existiam com estirpes isoladas de regiões tropicais. A partir de 1991, quando *Rhizobium tropici* foi descrito (Martinez-Romero et al., 1991), e com os avanços da biologia molecular, várias espécies novas isoladas de regiões tropicais foram conhecidas e trabalhos recentes utilizando diversas técnicas para caracterização genotípica e fenotípicas (Moreira, 2006) evidenciam que essa diversidade pode ser bem maior do que se esperava.

Apesar de sua exuberância, a grande floresta Amazônica está estabelecida sobre solos ácidos, pobres em nutrientes, ficando sua manutenção dependente da ciclagem dos nutrientes contidos na fitomassa. Assim, o conhecimento da modificação da estrutura das populações BNL, em relação aos sistemas de uso da terra (SUTs), pode fornecer subsídios para o manejo sustentável dos solos, pois estas são indicadoras sensíveis da alteração do manejo dos mesmos (Ballard et al., 2004; Kaschuk, et al., 2006; Melloni et al., 2006). Além disso, pode possibilitar ainda a captura de estirpes que tolerem condições edafo-climáticas adversas e fornecer informações sobre a ecologia destes organismos que indiquem estratégias de inoculação mais eficientes.

Neste contexto, esse trabalho teve como objetivo formar uma coleção de isolados de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam caupi para conservação de recursos genéticos, cuja utilidade poderá ser revelada em estudos

posteriores, e avaliar a diversidade fenotípica destes isolados em diferentes sistemas de uso da terra na região do Alto Rio Solimões, AM.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Na primeira quinzena de março de 2004 (período úmido e com maior intensidade pluviométrica), coletaram-se 98 amostras de solo na camada de 0-20 cm, utilizando-se trado de rosca, totalizando 30 pontos amostrados na floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), 10 pontos na floresta secundária em estágio avançado de regeneração (FA), 17 pontos na floresta primária (FP), 13 pontos na pastagem (P), 18 na agricultura (AG) e 10 na agrofloresta (A). O experimento para a captura das bactérias diazotróficas simbióticas foi conduzido em vasos de Leonard, no Laboratório de Microbiologia do Solo/DCS/UFLA, nos meses de setembro e outubro de 2004, utilizando como planta-isca caupi. A descrição detalhada da descrição dos tratamentos e coleta das amostras de solos, assim como a condução do experimento de casa-de-vegetação, encontram-se, respectivamente, nos capítulos 2 e 3.

2.1 Isolamento e caracterização cultural de bactérias que nodulam leguminosas

Dez nódulos escolhidos aleatoriamente no sistema radicular de cada planta-isca foram utilizados para o isolamento das bactérias diazotróficas. Para a desinfestação superficial, estes foram primeiramente imersos em álcool etílico 95%; em seguida, em H₂O₂ por 1 minuto; e depois lavados seis vezes com água destilada estéril. Posteriormente, foram macerados em placas contendo meio de cultura 79 (Fred & Waksman, 1928), sendo o material espalhado em forma de estrias compostas para a obtenção de colônias isoladas. Após a purificação dos isolados, estes foram transferidos para tubos com meio sólido 79 a 4°C, armazenados em tubos rosqueáveis de plástico e também em meio líquido, acrescidos de glicerol 20% e armazenados a -80°C.

As características culturais avaliadas para cada isolado foram taxa de crescimento medida pelo tempo de aparecimento de colônias isoladas (rápido - 2 a 3 dias; intermediário - 4 a 5 dias; lento - 6 a 10 dias; muito lento > 10 dias); diâmetro médio das colônias isoladas; modificação do pH do meio (acidificação, alcalinização e neutralização), conforme Moreira (1991); e ainda forma do bordo (circular, irregular; inteiro, ondulado); elevação do bordo (lente, convexo, plano); superfície (liso, concêntrico); produção de muco (escasso, pouco, moderado, abundante); consistência (elástico, gomoso, butírico, aquoso); absorção de indicador; transmissão de luz (opaco, brilhante, translúcido) e coloração das colônias. Com exceção da característica tempo em dias para visualização das colônias, as demais foram avaliadas após 5, 8, 12 e 15 dias de aparecimento das colônias isoladas para, respectivamente, os isolados de crescimento rápido, intermediário, lento e muito lento.

Primeiramente, foi realizada uma comparação entre os sistemas de uso da terra com base na seleção de duas características fenotípicas culturais principais para a separação dos isolados de BNL, que são a modificação do pH e o tempo de aparecimento de colônias isoladas; para esta avaliação foi utilizado o teste de qui-quadrado ($p < 0,05$).

Posteriormente, os isolados foram comparados através de todas as características culturais avaliadas, com base em sua porcentagem de similaridade estimada pelo coeficiente de Jacard, sendo o agrupamento destes realizado pelo método UPGMA (*average linkage clustering*) (Everitt, 1993) através do programa PCord, em que foram construídos três dendrogramas com os isolados que, respectivamente, alcalinizam, acidificam e neutralizam o meio. Para a análise dos dados, cada característica cultural avaliada, que foi representada em cada uma das colunas da matriz, recebeu o mesmo número quando estas eram iguais; se eram diferentes, recebiam números diferentes.

Com a composição dos grupos culturais nos três dendrogramas a 87,5 % de similaridade, foi possível contabilizar a riqueza de espécies e também estimá-la através do índice riqueza Chao 2 (Chao, 1987), dado pela expressão: $Chao\ 2 = S + L^2/2M$, em que L é o número de espécies que ocorrem somente em uma amostra (espécies únicas) e M corresponde ao número de espécies que ocorrem nas amostras, com auxílio do programa Estimates, versão 7.5 (Colwell, 1997). O programa selecionou os isolados ao acaso de modo a constituir amostras com um, até o número total de isolados, sendo que os dados foram aleatorizados mil vezes. Foram construídas curvas com a variação do índice Chao 2, em função do número de amostras (esforço de amostragem).

2.2 Autenticação de isolados de bactérias que nodulam leguminosas

Para o estudo da diversidade realizou-se uma seleção de todos os 104 isolados da floresta primária, e ainda 21 representantes dos grupos culturais obtidos na agrofloresta, 22 da floresta secundária em estágio inicial de regeneração, 23 da floresta secundária em estágio avançado de regeneração e 27 da agricultura e da pastagem, totalizando 197 isolados.

2.2.1 Autenticação por meio da inoculação no hospedeiro original

Os 197 isolados foram autenticados com o objetivo de verificar a capacidade de nodular no hospedeiro original, caupi, e para isso foram instalados quatro experimentos sucessivos utilizando garrafas “*long nek*” (350 mL) como vasos (Figura 1).



FIGURA 1 Vista parcial do experimento de autenticação dos isolados de bactérias que nodulam leguminosas utilizando garrafas “long neck”.

Para a montagem das garrafas foram utilizados papel de filtro, fita adesiva e papel alumínio. O papel de filtro foi cortado de forma a apresentar a mesma altura da garrafa, para servir como suporte às raízes. Posteriormente, estas foram autoclavadas por 60 minutos, a uma pressão de $1,5 \text{ kg/cm}^2$, a 127°C , com papel de filtro mais a solução nutritiva de Jensen modificada (K_2HPO_4 $0,2 \text{ g L}^{-1}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,2 \text{ g L}^{-1}$, NaCl $0,2 \text{ g L}^{-1}$, CaHPO_4 1 g L^{-1} , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0,1 \text{ g L}^{-1}$; H_3BO_3 $2,86 \text{ mg L}^{-1}$; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $2,03 \text{ mg L}^{-1}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,22 \text{ mg L}^{-1}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0,08 \text{ mg L}^{-1}$ e $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0,09 \text{ mg L}^{-1}$), diluída quatro vezes. A cultivar de caupi utilizada foi a BR14 Mulato. As sementes foram desinfestadas superficialmente com etanol puro por 5 segundos e hipoclorito de sódio 1% por 2 minutos, com lavagens sucessivas em água destilada estéril. Posteriormente, foram imersas em água estéril por 2 horas e colocadas em placas de petri com

algodão umedecido (autoclavado) por 12 horas, em câmara de crescimento a 28°C.

Deste lote, vinte sementes também foram colocadas em meio de cultura sólido 79 para a verificação de possíveis contaminações. Nos três primeiros experimentos, as sementes foram pré-germinadas e, depois, a radícula foi inserida manualmente no orifício da garrafa que estava coberto com papel alumínio. No quarto experimento, as sementes foram colocadas sobre o papel sem a pré-germinação, envoltas ao algodão umedecido.

O primeiro experimento foi constituído de 49 tratamentos, sendo 45 isolados mais dois controles positivos, constituídos pela inoculação de estirpes recomendadas como inoculante para caupi (INPA 03-11B e UFLA 03-84), e mais dois controles negativos (com nitrogênio e sem inoculação e sem nitrogênio e sem inoculação). O segundo foi constituído de 57 tratamentos, sendo 53 isolados mais os controles. O terceiro teve 28 tratamentos, sendo 24 isolados mais os controles, e o quarto contou com 79 tratamentos, com 75 isolados mais os controles. Os quatro experimentos foram instalados em casa-de-vegetação durante 30 dias, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, todos com 3 repetições por tratamento.

Para a composição dos tratamentos inoculou-se 1 mL de meio 79 semi-sólido com os isolados na fase log de seu crescimento (quatro dias de cultivo a 28°C para as de crescimento rápido e seis dias para as de crescimento lento) em cada semente. Nos controles sem inoculação e sem adição de nitrogênio foi inoculado apenas 1 mL de meio 79 sem inoculo, e nos controles com N mineral, aplicaram-se 70 mg de N (NH₄NO₃) na solução nutritiva, no dia do plantio.

2.2.2 Autenticação por meio da análise dos *nodC* e *nifH*

Para os 72 isolados que não nodularam em condições de casa-de-vegetação foi pesquisada a presença do gene *nodC*, relacionado à capacidade

genética para a nodulação, através da amplificação com oligonucleotídeos iniciadores (*nodCF* e *nodCI*), conforme descrito por Laguerre et al. (2001). Os isolados e a estirpe BR 322 utilizada como controle positivo foram crescidos em meio 79 sólido. Colônias isoladas foram retiradas e colocadas em tubos contendo 1000 µL de água ultra-pura estéril aquecida por 10 minutos a 95°C e, em seguida, resfriadas em gelo. Uma alíquota de 10 µL foi utilizada para a reação em cadeia da polimerase (PCR), para um volume final de 50 µL por reação. As concentrações finais dos reagentes por reação foram 0,8 µM de cada oligonucleotídeos iniciadores *nodCF* (5'-AYGTHGTYGAYGACGGTTC-3') e *nodCI* (5'-CGYGACAGCANTCKCTATTG-3'), 2,5 mM de cloreto de magnésio, tampão 1x para PCR, 200 µM de cada dNTP e 0,04 U Taq DNA polimerase (Platinum™ Taq DNA polimerase, Invitrogen). As temperaturas do ciclo de amplificação foram, na desnaturação inicial, 95°C por 3 min.; nos 30 ciclos de desnaturação, 94°C por 1 min.; no anelamento, 55°C por 1 min.; na extensão, 72°C por 2 min.; e na extensão final, 72°C por 3 min. A reação de amplificação foi realizada no Eppendorf Mastercycler®, Alemanha. O produto da reação foi corrido em gel de agarose 1,5% (p/v), com tampão TAE, corado em brometo de etídeo (5 µg mL⁻¹) e visualizado em transluminador e, posteriormente, fotografado.

Para os 51 isolados dos quais não foram obtidas as amplificações do gene *nodC*, foi realizada reação de PCR utilizando oligonucleotídeos iniciadores para o gene *nifH*, para verificar a presença do gene relacionado com a capacidade genética para a fixação biológica de nitrogênio. O procedimento para amplificação do gene *nifH* foi similar ao do gene *nodC*, exceto para os oligonucleotídeos iniciadores, que foram usados na concentração de 0,1 µM de *nifHF* (5'-TACGGNAAARGGSGGNATCGGCAA-3') e de *nifHI* (5'-AGCATGTCYTCSAGYTCNTCCA-3'), cloreto de magnésio 1,5 mM, dNTP: 20 µM e a temperatura de anelamento foi elevada para 57°C.

2.3 Análise de proteínas totais por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Para análise da diversidade fenotípica dos 197 isolados autenticados de bactérias diazotróficas, estas foram cultivadas em condições rigorosamente padronizadas, juntamente com as estirpes-tipo e referência de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (LMG 4285^T; BR10051); *R. galegae* bv. *orientalis* (HAMBI 540^T, BR 10055); *Mesorhizobium loti* (BR 7801, NZP 2213^T), *B. elkanii* (BR 29); INPA 03-11B, estirpe isolada de Manaus, AM; e UFLA 03-84, isolada de solos de pastagem de Rondônia, representantes do gênero *Bradyrhizobium* e recomendadas como inoculantes para caupi pela RELARE (Moreira, 2006; Lacerda et al., 2004). As estirpes e isolados armazenados foram crescidos em meio de cultura 79. Após o crescimento duas vezes sucessivas em meio TY sólido com tempo de incubação de 4 dias, inocularam-se colônias isoladas em 50 mL de meio de cultura líquido TY. O crescimento bacteriano foi obtido após 4 dias sob agitação constante de 120 rpm a 28°C. Em seguida, o meio com cada cultura foi centrifugado a 12000 rpm por 10 min., à temperatura de 4°C, o sobrenadante foi descartado e o “pelet” formado, ressuspensão em tampão NaPBS. Este procedimento foi repetido duas vezes para lavagem das células. Setenta miligramas do “pellet” foram transferidos para tubos de 1,5 mL e adicionados de 0,9 mL do tampão da amostra (TTA) e 0,1 mL de SDS 20% para solubilização das proteínas. Esta mistura foi aquecida em banho-maria a 95°C por 10 min. As amostras de proteínas solubilizadas foram centrifugadas a 12000 rpm por 10 min., à temperatura de 4°C, e 30 µL destas foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE). Para tal foi utilizado o método Laemmli (1970), com modificações descritas por Jackman (1985), utilizadas para rizóbio por Moreira et al. (1993). Para eletroforese, utilizou-se um gel de sistema descontínuo com concentração de poliacrilamida a 12% para o gel separador e a 5% para o gel de concentração.

As análises dos perfis protéicos dos isolados e das estirpes tipo e referência foram realizadas em géis normalizados com o programa Gel-Compar V.4-1 (Applied Maths, Kortrijk, Belgium). Matrizes de similaridade derivadas da comparação dos perfis foram calculadas usando o coeficiente de correlação de Pearson (pair-wise product-moment) (valor r) e a análise de cluster dos valores r foi realizada pelo método UPGMA.

Para comparação entre os resultados obtidos através da revelação dos perfis eletroforéticos e culturais construiu-se também um dendrograma das características culturais dos mesmos isolados, que tiveram seus perfis eletroforéticos revelados para estabelecimento de comparações entre ambos. Com os grupos culturais formados a 87,5% em cada dendrograma, calculou-se o índice médio e acumulado de diversidade de Shannon-Weaver (1949) com auxílio do programa Estimates, versão 7.5 (Colwell, 1997). O programa selecionou os isolados ao acaso de modo a constituir amostras com um até o número total de isolados. Os dados foram aleatorizados mil vezes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Isolamento e caracterização cultural de bactérias que nodulam leguminosas

Foram obtidos 1010 isolados em cultura pura, sendo 217 na floresta secundária em estágio inicial de regeneração, 206 na pastagem, 188 na agrofloresta, 158 na agricultura, 137 na floresta secundária em estágio avançado de regeneração e 104 na floresta primária. O menor número de isolados encontrados na floresta primária deveu-se à baixa nodulação do caupi inoculado com solo deste SUT, conforme discutido no capítulo 3. As baixas frequências de nodulação em florestas clímax na Amazônia já foram encontradas por Magalhães et al. (1982), Bonetti et al. (1984) Moreira & Franco (1994) e Jesus et al. (2005); em cerrado nativo no nordeste brasileiro, por Zilli et al. (2004); e em floresta tropical úmida na África, por Fening & Danso (2002).

A análise preliminar das características culturais referentes ao tempo de aparecimento das colônias isoladas e à modificação do pH foi realizada, pois é indicativa da presença de diferentes gêneros entre os grupos de isolados (Moreira, 1991). Dos 1010 isolados de BNL obtidos, 503 apresentaram crescimento rápido; 78, intermediário; 417, lento; e 12, muito lento; e quanto à modificação do pH do meio de cultura, 497 acidificaram, 205 alcalinizaram e 308 neutralizaram. Combinando as características de pH e tempo de aparecimento das colônias, foram encontrados 12 tipos culturais principais nos diferentes sistemas de uso da terra (Figura 2 a, b, c).

A maioria dos isolados (49,2%) acidificaram o meio e, deste total, 82,3% apresentaram crescimento rápido (Figura 2 a) e os demais, oriundos da floresta primária e da agricultura, apresentaram crescimento intermediário, lento e muito lento. A predominância de isolados de crescimento rápido e que acidificam o meio, entre as BNL, já foi descrita numa área próxima ao local

deste estudo por Jesus et al. (2005), que ao avaliarem a densidade de BNL utilizando siratro como plantas isca, encontraram 58 % de isolados de crescimento rápido em solos sob floresta primária e 53 % em monocultura da mandioca. Somente na monocultura da pupunha é que a maior parte foi constituída de isolados de crescimento lento e alcalinização do meio de cultura. Neste estudo, a pastagem foi o SUT com maior número de isolados que acidificaram o meio de cultivo em relação aos demais SUTs.

Cerca de 30,4% dos isolados não modificaram o pH do meio de cultivo e variaram quanto à taxa de crescimento. Na floresta secundária em estágio inicial de regeneração obteve-se o maior número de isolados que neutralizaram o meio. Quanto aos que alcalinizaram o meio de cultivo, somente 20,4% dos isolados corresponderam a este grupo, sendo grande parte deles oriunda da agrofloresta.

Considerando a distribuição dos isolados pelo pH e o tempo de crescimento, através do teste de qui-quadrado, cujo resultado foi 80,52, e do tabelado, 91,45 ($p < 0,05$), pode-se afirmar que esta distribuição diferenciada dos isolados nos tipos culturais não pode ser explicada pela forma diferente de utilização da terra (Figura 2 a, b, c). Resultados contrários a este foram relatados por Jesus et al. (2005) em sistemas de cultivo de mandioca, pupunheira e floresta primária de terra firme na Amazônia Ocidental.

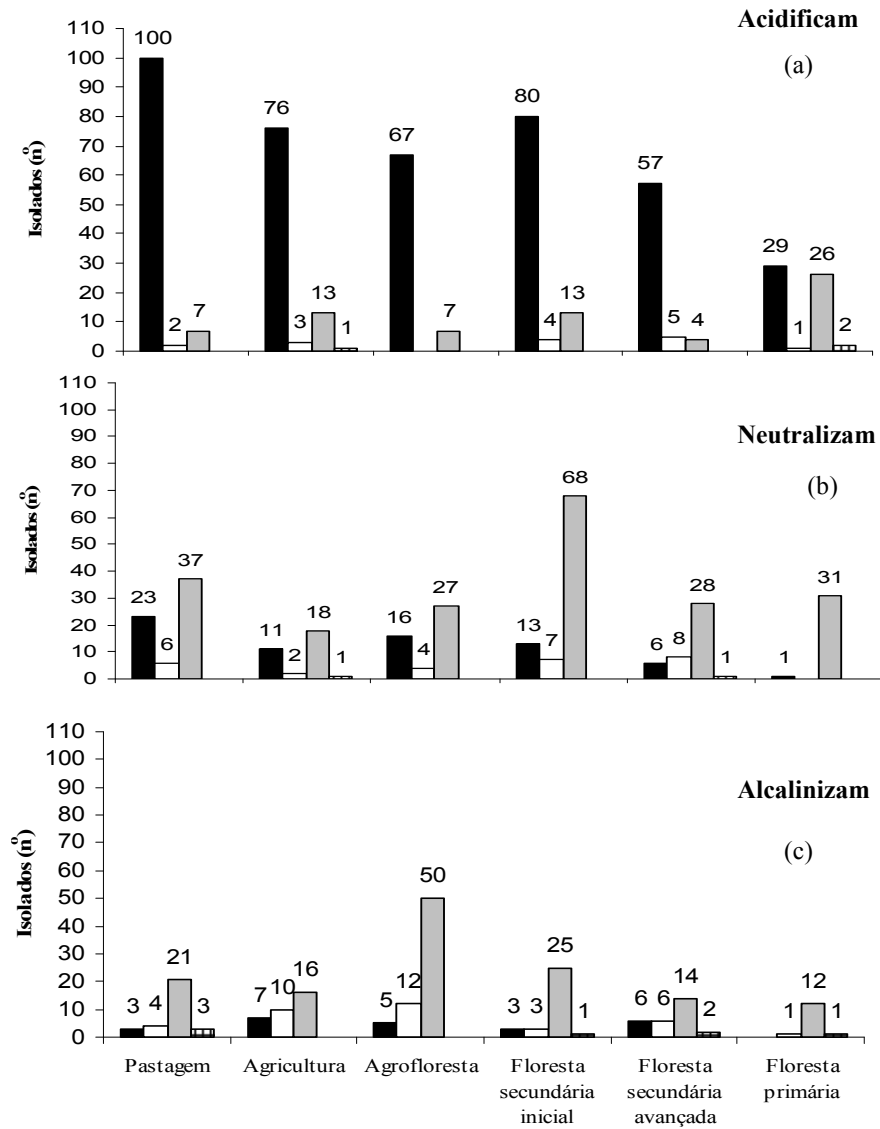


FIGURA 2 Distribuição dos isolados de bactérias que nodulam caupi, isoladas de diferentes sistemas de uso da terra, em doze tipos culturais baseados na alteração dos pH do meio de cultura e no tempo de aparecimento de colônias isoladas (■) crescimento rápido; (□) crescimento intermediário; (▒) crescimento lento; (▣) crescimento muito lento.

Para uma análise detalhada da riqueza dos isolados de BNL, todas as características culturais avaliadas dos 1010 isolados (Anexo 2A) foram consideradas para o agrupamento e formação dos grupos culturais. Assim, através do agrupamento realizado por meio dos três dendrogramas culturais analisados a 87,5% de similaridade, foi possível encontrar 130 grupos culturais (Anexo 3A), e quando estes foram distribuídos dentro dos SUTs de origem, obtiveram-se 46 grupos na FP, 57 grupos na AG, 61 grupos na FA, 76 na FI, 77 na P e 80 na A. Com o cálculo de índice Chao 2, verifica-se que a riqueza total estimada, isto é, que inclui espécies não presentes na amostra, assim como a observada, que inclui somente as espécies da amostra, obedeceram à seguinte ordem: A>P>FI>FA>AG>FP (Tabela 1).

TABELA 1 Riqueza de grupos fenotípicos culturais de bactérias que nodulam e fixam nitrogênio isoladas de caupi.

Amostras	FI⁽¹⁾	FA⁽²⁾	FP⁽³⁾	P⁽⁴⁾	AG⁽⁵⁾	A⁽⁶⁾
n ^o . de pontos coletados	30	10	17	13	18	10
n ^o . de pontos com isolados	18	9	13	12	10	10
n ^o . de isolados obtidos	217	137	104	206	158	188
Riqueza de grupos culturais*	76	61	46	77	57	80
Chão 2**	77,6	67,1	51,9	78,2	61,8	86,8

⁽¹⁾ Floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI). ⁽²⁾ Floresta secundária em estágio avançados de regeneração (FA). ⁽³⁾ Floresta primária (FP). ⁽⁴⁾ Pastagem (P). ⁽⁵⁾ Agricultura (AG). ⁽⁶⁾ Agrofloresta (A) * Riqueza observada. ** Riqueza estimada

Menor diversidade de isolados de bactérias que nodulam leguminosas em amostras de solo sob floresta primária, em relação à agricultura de pupunheira e mandioca em locais próximos ao do presente estudo, já foi verificada por Jesus et al. (2005), utilizando siratro como planta isca. Os autores atribuíram a menor diversidade neste sistema ao menor número de isolados

obtidos em relação aos demais sistemas de uso, concluindo que a diversidade foi subestimada. De fato, quando se compara o número de nódulos médio encontrado em cada SUT, verifica-se uma grande diferença no número, o que foi atribuído, conforme já discutido no capítulo 3, ao cultivo que pode favorecer ou estimular as populações de BNL, já que em florestas primárias estas populações encontram-se em baixa densidade quando a avaliação se dá por meio de plantas iscas. Já nos demais SUTs, como agrofloresta, florestas secundárias e pastagem, que se encontram em fase de sucessão (Fidalgo et al., 2005) e demandam mais nitrogênio, há maior estímulo para a ocorrência de populações mais eficientes e diversas de BNL. Provavelmente, a carência de nitrogênio gera a pressão seletiva para a fixação biológica do nitrogênio atmosférico e, desta forma, conduz a uma adaptação das populações de bactérias em que elementos genéticos móveis podem ser transferidos horizontalmente, entre gêneros de bactérias, conferindo-lhes a capacidade de fixação biológica. De fato, Moulin et al. (2001) indicaram menor distância filogenética entre os genes *nodAB* de estirpes STM678 e outros rizóbios, do que entre os genes 16S rRNA de α e β -Proteobacteria, sugerindo que a presença dos genes *nod* nas bactérias que pertencem a estas divisões provavelmente ocorre pela transferência horizontal.

Com relação à riqueza de BNL na região, a curva de variação do índice de Chao 2, construída com todos os isolados obtidos nos 98 pontos amostrados, atingiu a assíntota a partir de 7 pontos amostrados para cada SUT (Figura 3). Pôde-se verificar que mesmo nos SUTs que tiveram maior número de pontos amostrados (esforço de amostragem), como a floresta secundária em estágio inicial de regeneração, com 18 pontos, a floresta primária com 13, assim como nos demais SUTs, a riqueza cultural de espécies de BNL capturadas permaneceu constante, indicando que a amostragem realizada foi representativa para o estudo destes microrganismos, já que se atingiu assíntota.

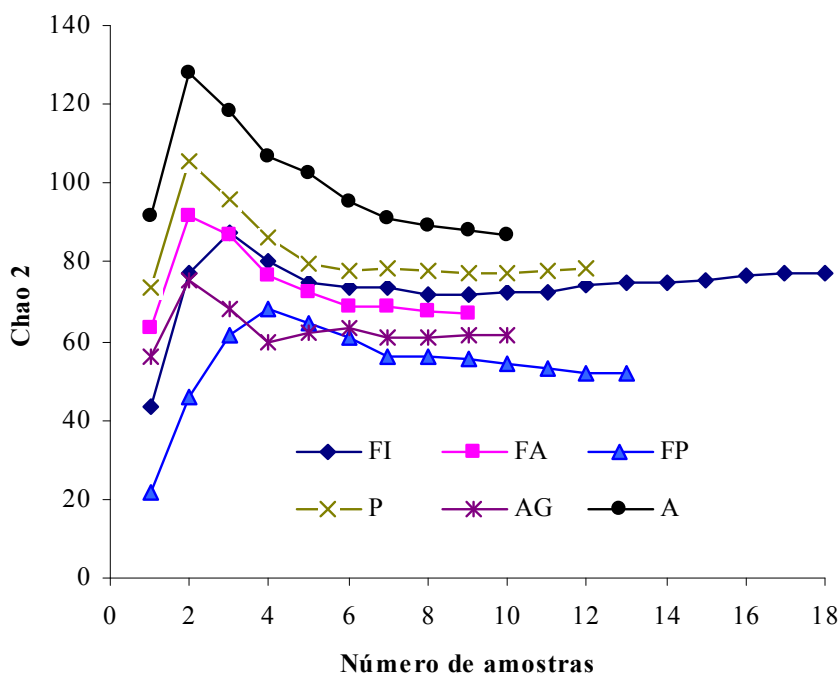


FIGURA 3 Variação do índice Chao 2 em função do número de amostras coletadas (esforço de amostragem) em solos sob floresta secundária em estágio inicial de regeneração (FI), floresta secundária em estágio avançados de regeneração (FA), floresta primária (FP), pastagem (P), agricultura (AG) e agrofloresta (A).

3.2 Autenticação de isolados de bactérias que nodulam leguminosas

3.2.1 Autenticação por meio da inoculação no hospedeiro original

No experimento de autenticação por meio da inoculação no hospedeiro original, 125 isolados nodularam e 72 não nodularam caupi. Não foi possível a comparação da eficiência entre os tratamentos, pois o recipiente utilizado limitou o crescimento da planta devido ao pequeno volume de solução nutritiva disponível para a mesma. Contudo, sua utilização pode ser recomendada com o objetivo de autenticar os isolados de BNL pela praticidade e baixo custo.

3.2.2 Autenticação por meio da análise dos *nodC* e *nifH*

O fator *nodC* foi investigado nos 72 isolados que não nodularam quando inoculados em caupi, buscando averiguar se estas bactérias eram mesmo BNL e não nodularam por algum fator não identificado. Vinte e um isolados apresentaram o gen *nodC* (N-acetylglucosaminyl transferase) (Figura 4).

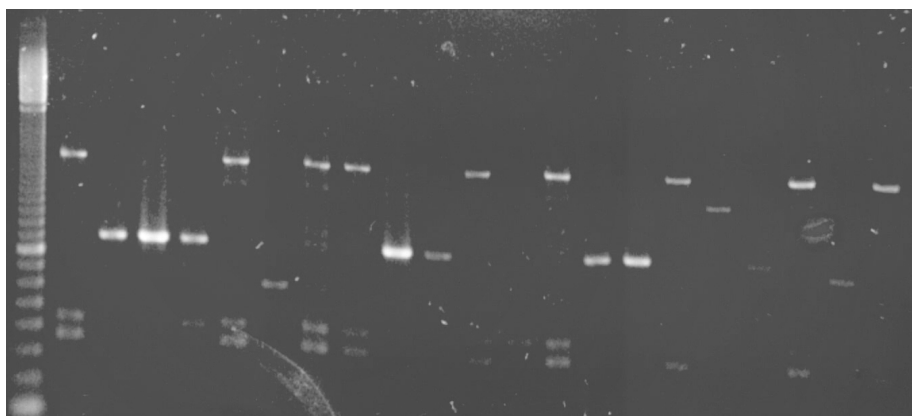


FIGURA 4 Fator *nodC* dos isolados que não nodularam em condições de casa-de-vegetação. Ordem no gel da esquerda para direita: Padrão, 31C6; 40A4; 9C10; 18B7; 3A12; 4B7; 3B7; 81AC5; 7B8; 67B5; 15C2; 7B7; 90B6; 7B2; 96A5; 30B4; 3A11; 70A9; 27C10; 83B9; 93C9.

Este gene, juntamente com *nodA* (acyl transferase) e *nodB* (deacetylase), controla a síntese de lipoquitossacarídeo, que é essencial para a nodulação, sendo presentes em rizóbios (Moulin et al., 2001). Assim, estes isolados são representantes de bactérias que certamente nodulam leguminosas e, como foram isolados de caupi, durante a autenticação algum fator adverso impediu-os de nodular, como aquecimento da solução nutritiva no recipiente de cultivo (garrafa “*long nek*”), que pode ter causado baixa taxa de sobrevivência e multiplicação

da bactéria após a inoculação, ou ainda o microsimbionte não ter especificidade com o hospedeiro, podendo ter ocupado o nódulo juntamente com um microsimbionte não isolado.

Fatores *nifH* foram estão pesquisados nos 51 isolados que não nodularam quando inoculados em caupi, e que também não apresentaram o gene *nodC*. Destes, 21 isolados apresentaram o gene *nifH*, que determina a capacidade de fixar nitrogênio, mas não necessariamente a de nodular (Figura 5). Como as bactérias foram isoladas dos nódulos, após a realização da desinfestação estes podem estar coabitando com a bactéria simbiote dentro do nódulo.

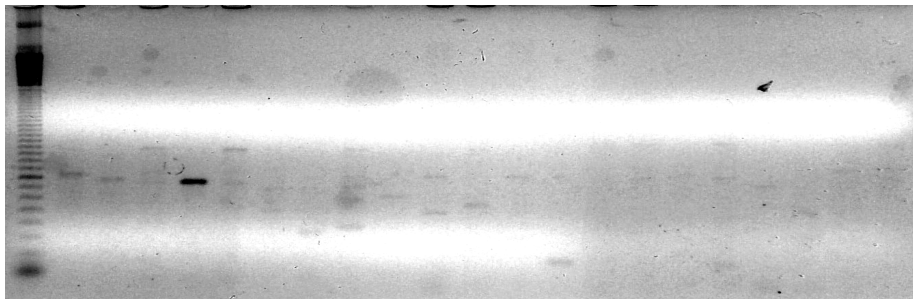


FIGURA 5 Fator *nifH* dos isolados que não nodularam em condições de casa-de-vegetação. Ordem no gel da esquerda para direita: Padrão, 17B12; 18A10; 24AA4; 62C10; 88B2; 87C10; 92C6; 89B4b; 89B4a, 95C9; 91C1; 24AC7; 17C10; 20A7; 19B5b; 18C2; 7B6; 7B5; 5A1; 4A3; 7B1.

Assim, dos 72 isolados que não nodularam quando inoculados no hospedeiro original, 42 puderam ser autenticados pela presença dos genes *nodC* e *nifH*.

O gen *nifH* é encontrados em várias espécies e gêneros de bactérias além de rizóbio, sendo que a transferência lateral de *nifH* é considerada provável entre

diazotróficos pertencentes aos vários subgrupos de β e α - Proteobacteria (Haukka et al., 1998). Nas espécies do gênero *Rhizobium*, este gene está codificado em plasmídeos, os chamados plasmídeos simbióticos, transmissíveis entre as diferentes espécies (Young & Wexler, 1988). Esta troca genética pode mascarar os dados de similaridade, que podem ser distintos ao nível de genes não envolvidos na simbiose (Laguerre et al., 1992).

3.3 Análise de proteínas totais por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Dentre os isolados autenticados, os 114 isolados seguintes tiveram o perfil revelado: UFLA 28B6; 17AA5, 17AB4, 17C3, 7B12, 17A10, 4C1, 20C5, 19B3, 62C2, 19C3, 87AB1, 15C8, 86c5, 40A4, 3B12, 95A10(B), 23B3, 14C1, 15C9, 91C1, 18C2, 21C1, 88B2, 7B6, 15C2, 7B5, 7B11, 7B2, 4B7, 27AC7(A), 4B11, 3B9, 68AC1, 32B5, 16A2, 5A9, 14C2, 38A10, 4B8, 7B3, 18A6, 5A2, 18A2, 70C5, 68AA6, 30B10, 34C12, 34C4, 95B6, 84A2, 3A3, 40A8, 4B12, 3A7, 73A2, 83B9, 40A11, 87C10(A), 17B12, 7B7, 7B8, 7B1, 3B10, 88B9, 94B8, 86C8, 86C1, 17C8, 17A1, 20A10, 88AB5, 90A3, 81AC5, 15C5, 67AC5, 18B1, 18B2, 29A3, 27C10, 30B4, 93C9, 3B7, 92C6, 4B3, 23A1, 5C1, 5C5, 20B7, 80A7, 88C6, 18B7, 3A2, 9C10, 90A6, 18A10, 20A7, 31C6, 89B4(A), 96C2(B), 90B6, 24AA4, 83C1, 17AA1, 23B5, 67B5, 95C9, 70A9, 72C1, 42C4, 69B1, 40A6, 31B1, 4B10. Foram também utilizadas as estirpes-tipo e referência de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (LMG 4285^T; BR10051), *R. galegae* bv. *orientalis* (HAMBI 540^T, BR 10055), *Mesorhizobium loti* (BR 7801, NZP 2213^T), *B. elkanii* (BR 29), INPA 03-11B, estirpe isolada de Manaus, AM, e UFLA 03-84, isolada de solos de pastagem de Rondônia, representantes do gênero *Bradyrhizobium* e recomendadas como inoculantes para caupi pela RELARE (Moreira, 2005; Lacerda et al., 2004).

O dendrograma construído a partir dos padrões eletroforéticos de proteína total de 114 isolados representantes de grupos culturais amostrados que foram autenticados e das 6 estirpes tipo e/ou referência revelou que ao nível de 87,5% de similaridade, houve a formação de 116 grupos protéicos (Figura 6). O primeiro grupo englobou três isolados semelhantes a 87,5% (UFLA 30B10, 34C12 e 34C4). O segundo foi formado por UFLA 86C8 e 86C1, que foram semelhantes a 95%. Já o terceiro grupo apresentou os isolados UFLA 27C10 e 30B4, com similaridade de 97,5%. Os demais 112 grupos foram constituídos de um isolado e/ou estirpe tipo ou referência somente. Foi observada uma grande diversidade de fenótipos, sendo que, também, nenhum destes grupos formados apresentou isolados similares às estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Mezorhizobium* e *Bradyrhizobium*.

Embora nem todas as 50 espécies de BNL tenham sido incluídas na análise de agrupamento, observa-se que o número de grupos protéicos encontrados excede este número, indicando prováveis novas espécies entre os isolados analisados. Ressalta-se que as 6 estirpes tipo e a referência utilizadas formaram grupos diferentes entre si e entre os isolados analisados (Figura 6), e que a dissimilaridade para os diferentes grupos situou-se na mesma faixa usada em outros trabalhos com BNL (Moreira et al., 1993; Dupuy et al., 1994, De Lajudie et al., 1994)

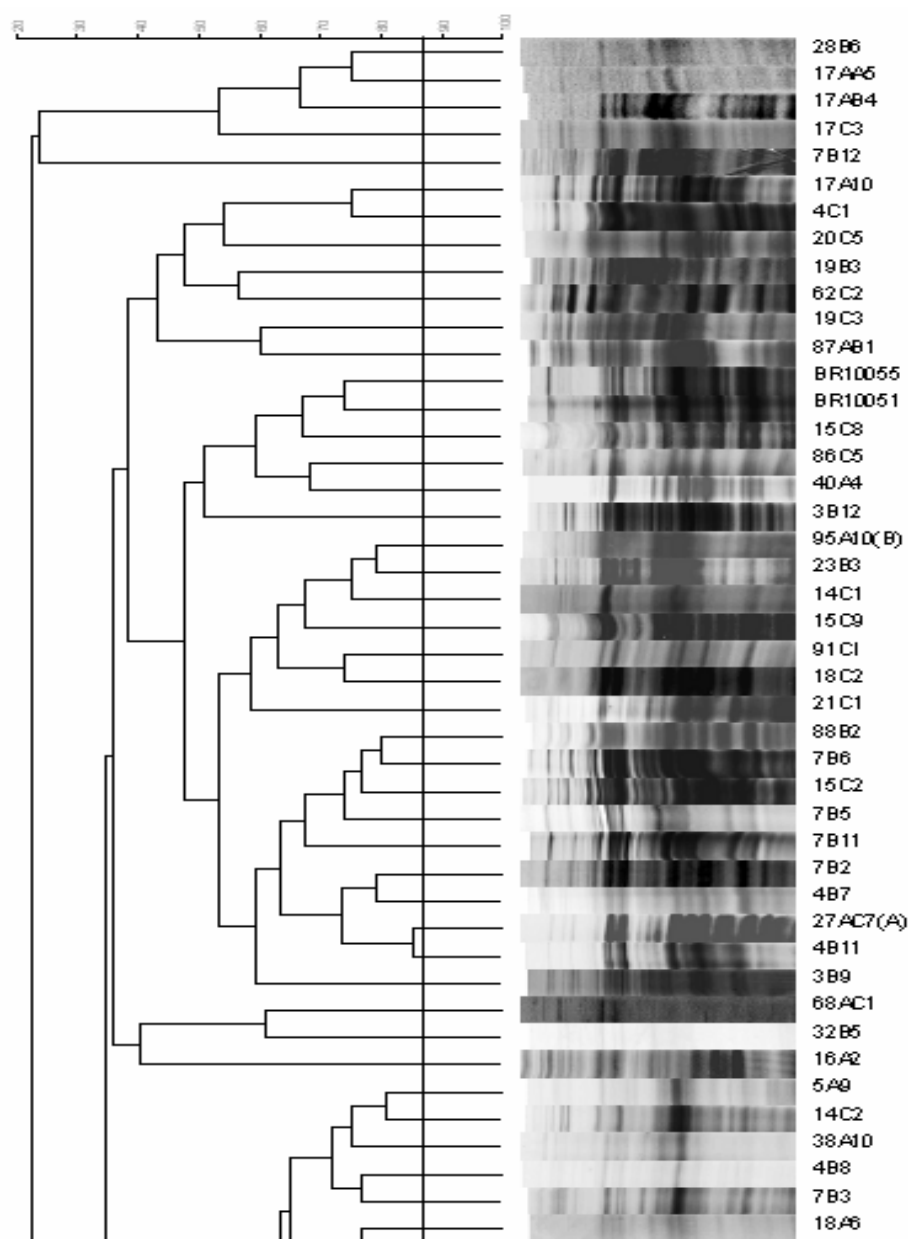


FIGURA 6 Dendrograma fenotípico dos perfis de proteína total de 114 isolados e das estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*. (Continua...)

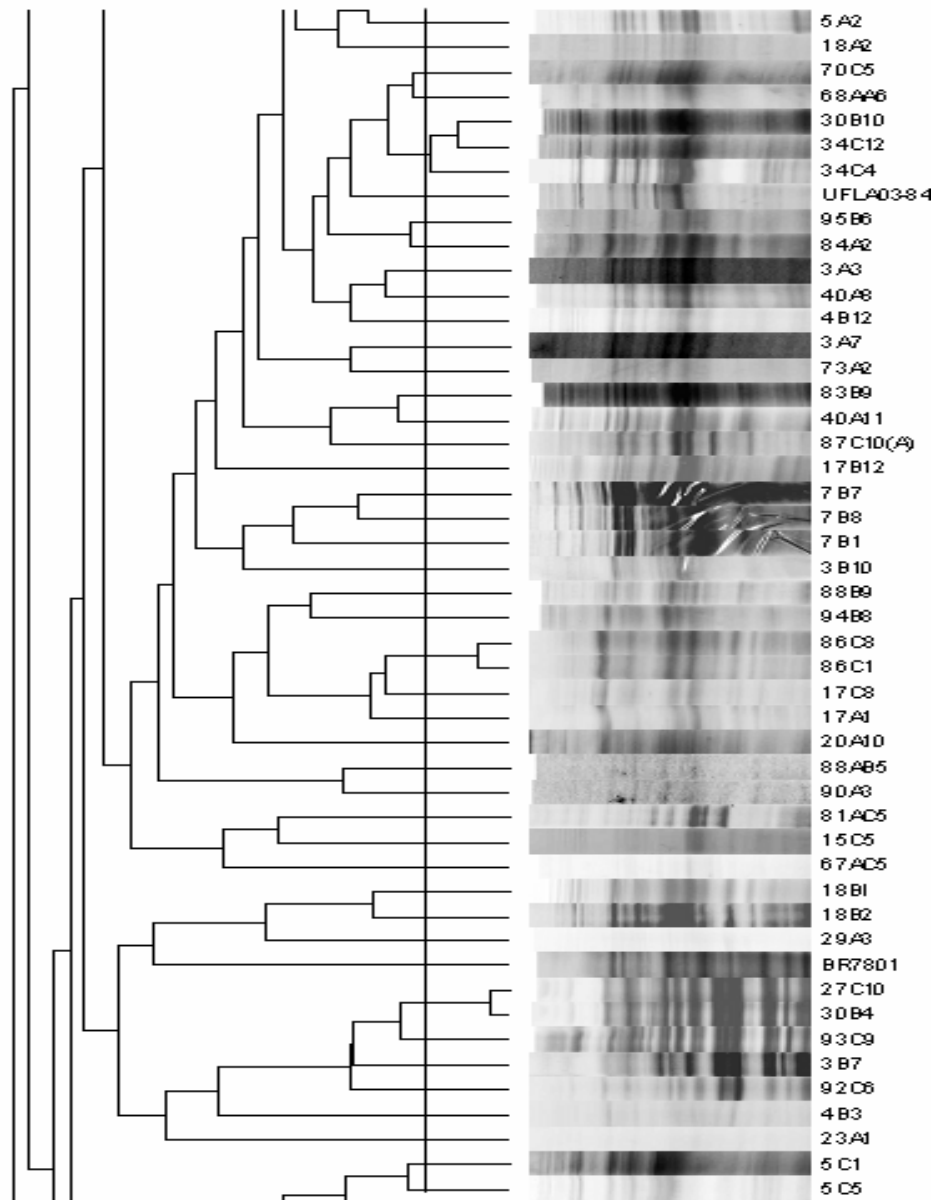


FIGURA 6 Dendrograma fenotípico dos perfis de proteína total de 114 isolados e das estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*. (Continua...)

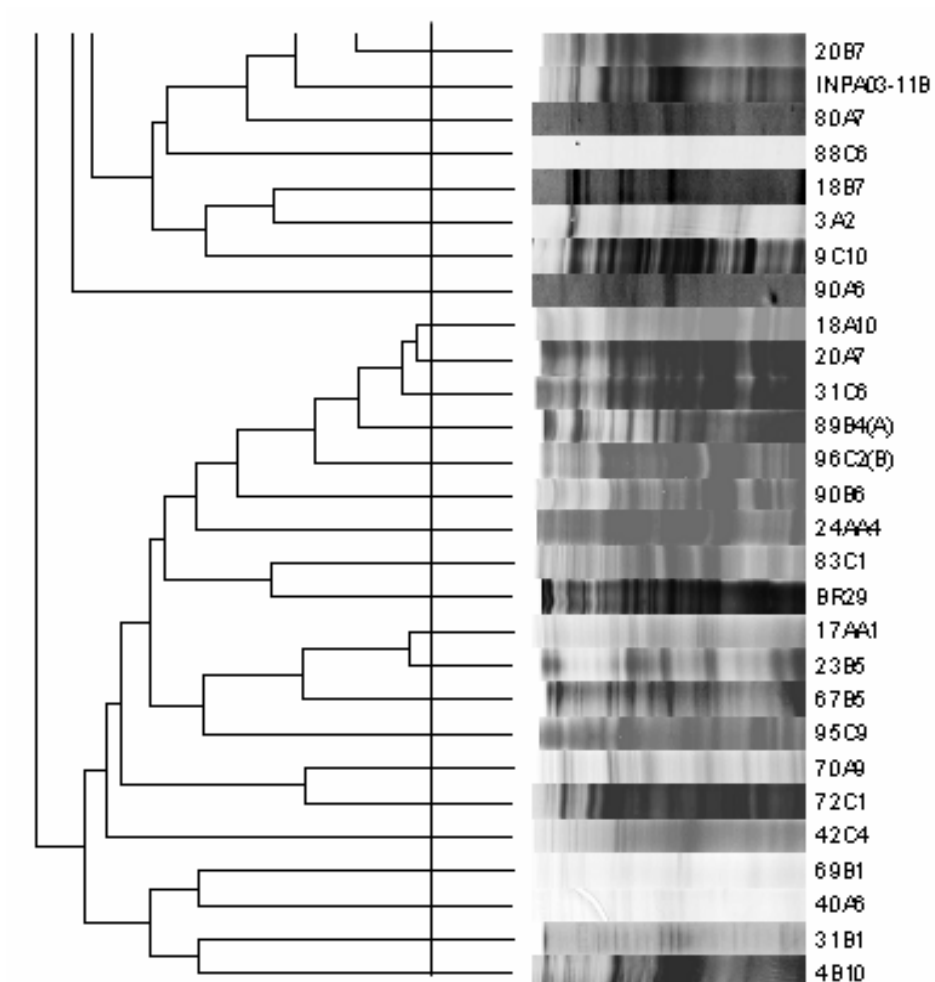


FIGURA 6 Dendrograma fenotípico dos perfis de proteína total de 114 isolados e das estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*.

Já o dendrograma de similaridade construído com as características culturais dos 114 isolados avaliados através do perfil de proteínas total e as 6 estirpes tipo e/ou referência revelou, ao nível 87,5% de similaridade, a formação de 93 grupos culturais (Figura 7).

Comparando o dendrograma de similaridade construído a partir dos perfis eletroforéticos (Figura 6) com o construído com as características culturais (Figura 7), pode-se verificar que não houve relação entre os grupos formados em ambos os dendrogramas. Um grande grupo formado por isolados com características culturais como 100% de similaridade, como, por exemplo, entre os 9 isolados de crescimento rápido e que acidificam, denominados 4C1; 7B1; 7B11; 7B12; 7B2; 7B5; 7B6; 7B7; 7B8, que se assemelham em cerca de 90% com os isolados também de crescimento rápido e que acidificam o meio 17A10; 3B12; 4B7; 72C1, não tiveram o mesmo agrupamento quando foram analisados através do perfil de proteínas total (Figura 7).

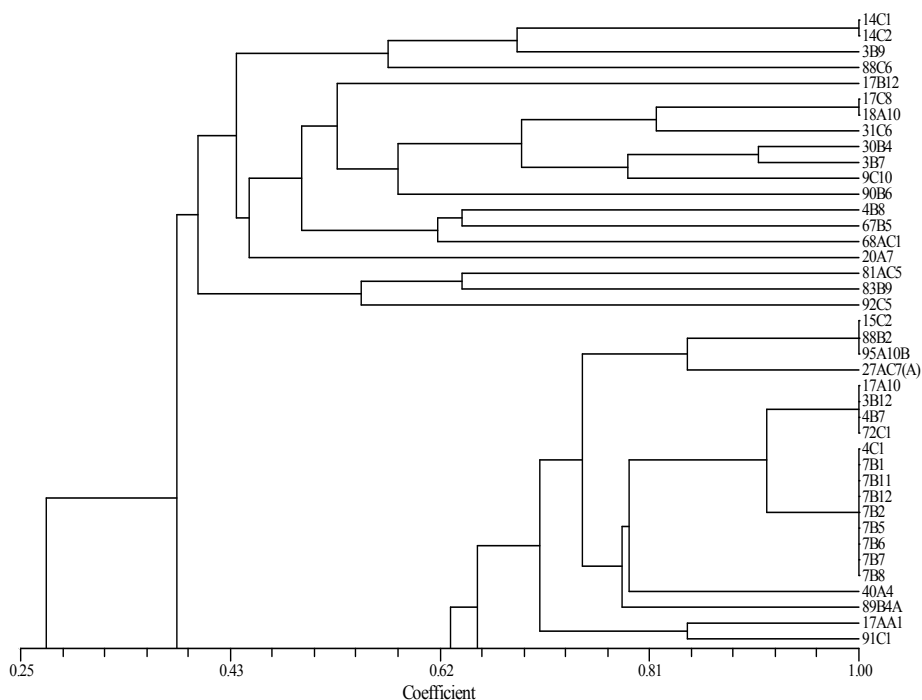


FIGURA 7 Dendrograma cultural de 114 isolados e das estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*. (Continua...)

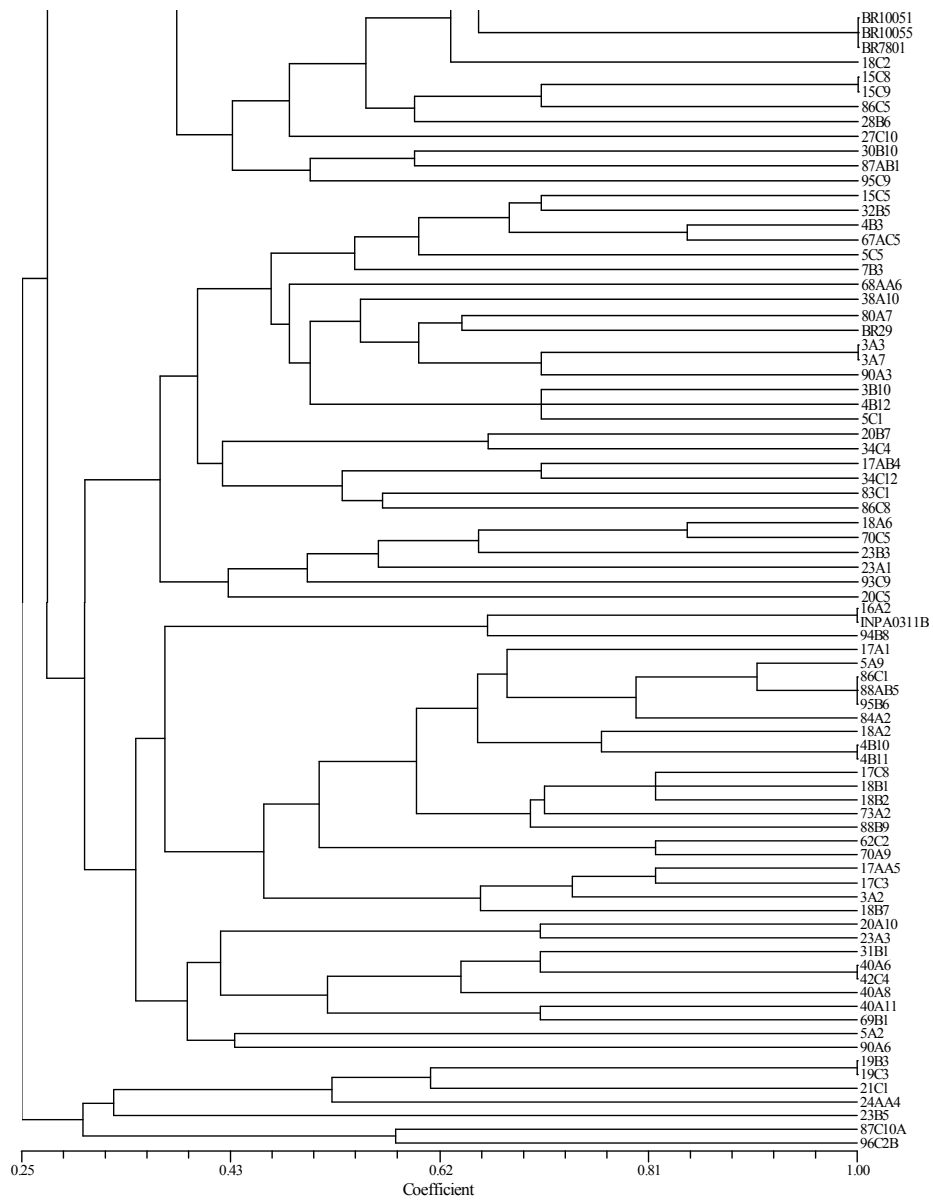


FIGURA 7 Dendrograma cultural de 114 isolados e das estirpes tipo e referência de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*.

Se forem analisados os mesmos 114 isolados, verificar-se-á que o número de grupos formados, em ambas as análises, foram bem próximos, embora a análise de proteínas totais seja mais discriminante e, por isto, justifica-se o maior número de grupos formados. Isto pode ser comprovado através da curva de acumulação do índice de Shannon (Figura 8), construída com os grupos culturais formados nos dendrogramas (Figura 7) e com os perfis de proteína total (Figura 6).

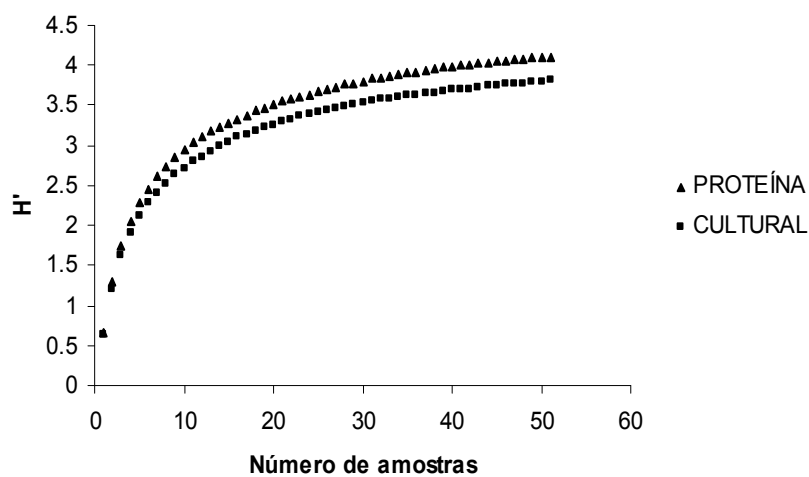


FIGURA 8 Variação do índice de Shannon (H') em função de 114 isolados autenticados analisados através do perfil de proteínas totais, e também pela análise cultural.

Assim, com a análise de características culturais bem detalhada, pode-se ter uma indicação da diversidade e riqueza dos isolados de BNL, sendo este, portanto, um bom método quando se trabalha com um número muito grande de isolados, como é o caso deste estudo.

O caupi, em outros trabalhos (Lewin et al., 1987; Pereira, 2000; Melloni et al., 2006), foi eficiente em recuperar maior diversidade de diferentes fenótipos culturais de bactérias diazotróficas simbióticas, inclusive de crescimento rápido e que acidificam o meio, assim como neste trabalho.

A sensibilidade das BNL ao manejo, e principalmente à presença de plantas que estimulam sua ocorrência e multiplicação, foi observada neste estudo, já que na floresta primária as bactérias que nodularam o caupi tiveram baixa ocorrência, assim como as que nodularam siratro e as demais espécies vegetais em outros trabalhos, conforme já mencionado. A carência de nódulos coletados em solos sob vegetação clímax pode ser devida ao baixo requerimento por N, que não é considerado um fator limitante nestas condições. Isto pode condicionar as células a se adaptarem às condições saprofíticas, em que coexistem com a grande diversidade de microrganismos edáficos, conforme determinado por Borneman & Triplett (1997), e muitas espécies ocupam o mesmo nicho ecológico, havendo, assim, provavelmente, uma baixa densidade das populações de bactérias simbióticas. Com o cultivo do solo, a ruptura de condições edáficas equilibradas ocasiona novas necessidades para plantas, organismos e animais se estabelecerem e, neste cenário, o nitrogênio se torna fundamental para os estágios de sucessão das espécies vegetais. As mudanças na qualidade e quantidade de compostos exudados, assim como na composição do tecido vegetal, provocadas por mudanças na diversidade de plantas, podem alterar a ocorrência e diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.

4 CONCLUSÕES

Os sistemas de uso da terra alteraram a diversidade cultural da população de bactérias que nodulam caupi.

Os sistemas de uso da terra submetidos ao cultivo tiveram maior riqueza cultural observada e estimada de bactérias que nodulam caupi, na seguinte ordem: agrofloresta > pastagem > floresta secundária em estágio inicial de regeneração > floresta secundária em estágio avançado de regeneração > agricultura > floresta primária.

Pôde-se observar uma grande diversidade com base nas análises fenotípicas das características culturais e dos perfis de proteína total, inclusive entre os isolados dos sistemas de uso manejados. Essa diversidade indica a resiliência das bactérias às modificações implementadas pelos diferentes sistemas de uso da terra.

A caracterização cultural pode ser utilizada para estimar a diversidade de bactérias que nodulam leguminosas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLARD, R.A. et al. Size, symbiotic effectiveness and genetic diversity of field pea rhizobia (*Rhizobium leguminosarum* bv *viciae*) populations in south Australian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.1347-1355, 2004.
- BONETTI, R.; OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, F.M.M. População de *Rhizobium* spp. e ocorrência de micorriza VA em cultivos de essências florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.139-139, 1984.
- BORNEMAN, J.; TRIPLETT, E. W. Molecular microbial diversity in soils from Eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. **Applied And Environmental Microbiology**, Whashington, v.63, n.7, p. 2647-2653, July 1997.
- CHAO, A. Estimating the poplation size for capture- recapture data with unequal catchability. **Biometrics**, v.43, p.783-791, 1987.
- COLWELL, R.K. Estimates: statistical estimation of species ichness ans shared species from samples. Version 5. User's Guide and application published at 1997. Disponível em: <<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>>. Acesso em: 10 mar. 2006.
- De LAJUDIE, P. et al. Polyphasic taxonomy of rhizobia: emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium melilot* com. nov.; *Sinorhizobium saheli* sp. nov.; and *Sinorhizobium teranga*, sp. nov. **International Journal Syst. Bacteriology**, v.44, p.715-733, 1994.
- DEPRET, G. et al. Long-term effects of crop management on *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* populations. **FEMS Microbiology Ecology**, v.51, n.1, p.87-97, 2004.
- DUPUY, N. et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Bradyrhizobia* nodulating the leguminous tree *Acacia albida*. **International Journal Syst. Bacteriology**, v.44, p.461-473, 1994.
- EVERITT, B.S. **Cluster analysis**. New York: J. Wiley, 1993. 170p.

FENING, J.O.; DANSO, S.K.A. Variation in symbiotic effectiveness of cowpea bradyrhizobia indigenous to Ghanaian soils. **Applied Soil Ecology**, v.21, p.23-29, 2002.

FIDALGO, E. C. C. et al. **Levantamento do uso e cobertura da terra de seis áreas amostrais relacionadas ao projeto “Conservation and sustainable management of below-ground biodiversity: Phase 1”, Município de Benjamin Constant (AM)**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. Apostila.

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

HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos de Iranduba, Amazonas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.7, p.667-672, 2005.

HAUKKA, K.; LINDSTRÖM, K.; YOUNG, J.P.W. Three phylogenetic groups of nodA and nifH genes *Sinorhizobium* and *Mesorhizobium* isolates from leguminous trees growing in Africa and Latin America. **Applied Environmental Microbiology**, v.64, p.419-426, 1998.

JACKMAN, P.J.H. Bacterial taxonomy based on eletrophoretic whole-cel protein patterns. In: GOODFELLOW, M.; MINNIKIN, D. (Ed.). **Chemical methods in bacterial systematics**. London: Academic, 1985. p.119-129.

JESUS, E.C. et al. Diversidade de bactérias que nodulam siratro em três sistemas de uso da terra da Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 40, p.769-776, 2005.

KASCHUK, G. et al. Differences in common bean rhizobial populations associated with soil tillage management in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v.87, n.2, p.205-217, 2006.

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

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227, n.5259, p.680-685, Aug. 1970.

LAGUERRE, G.; BARDIN, M.; AMARGER, N. Isolation from soil of symbiotic and nonsymbiotic *Rhizobium leguminosarum* by DNA hybridization. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, p.1142-1149, 2001.

LEWIN, A. et al. Multiple host-specificity loci of the broad host-range *Rhizobium* sp. NGR234 selected using the widely compatible legume *Vigna unguiculata*. **Plant Molecular Biology**, v.8, p.447-459, 1987.

LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.M.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1095-1104, nov. 2005.

MAGALHÃES, F.M.M. et al. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus, AM. **Acta Amazônica**, Manaus, v.12, n.3, p.509-514, 1982.

MARTÍNEZ-ROMERO, E. et al. *Rhizobium tropici*, a new species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. Beans and *Leucaena* trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.41, p.417-426, 1991.

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

MOREIRA, F.M.S. **Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica**. 1991. 152 p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ.

MOREIRA, F.M.S. **Estirpes de bactérias altamente eficientes que fornecem nitrogênio para caupi foram selecionadas na UFPA e já são recomendadas para produção de inoculantes comerciais**. Disponível em: <<http://www.dcs.ufpa.br/links/artigocaupi.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2006.

MOREIRA, F.M.S. Nitrogen-fixing Leguminosae nodulating bacteria. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CABI: 2006. 280p.

MOREIRA, F.M.S; FRANCO, A.A. Rhizobia – Host interactions in tropical ecosystems in Brazil. In: SPRENT, J.I.; D.Mc KEY. (Ed.). **Advances in legume systematic 5**: The nitrogen factor. Royal Botanic Garden, Kew, Inglaterra: 1994. p.63-74.

MOREIRA, F.M.S. et al. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Syst. Applied Microbiology**, v.16, p.135-146, 1993.

MOULIN, L. et al. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria. **Nature**, v.411, p.948-950, June 2001.

NÓBREGA, R.S.A. et al. Tolerância de bactérias diazotróficas à salinidade *in vitro*. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.4, p.899-905, 2004.

PALMER, K.M.; YOUNG, J.P.W. Higher diversity of *Rhizobium leguminosarum* Biovar *viciae* populations in arable soils than in grass soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.6, p.2445-2450, 2000.

PEREIRA, E.G. **Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia**. 2000. 93p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES MICROBIANOS DE INTERESSE AGRÍCOLA Disponível em: <<http://www.RELARE.org.br>>. Acesso em: 15 abr. 2004.

NTSYSpc: versão. 2.0, Software. ROHLF, F.J. - Numerical taxonomy system, 2002.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Urbana: University of Illinois, 1949.

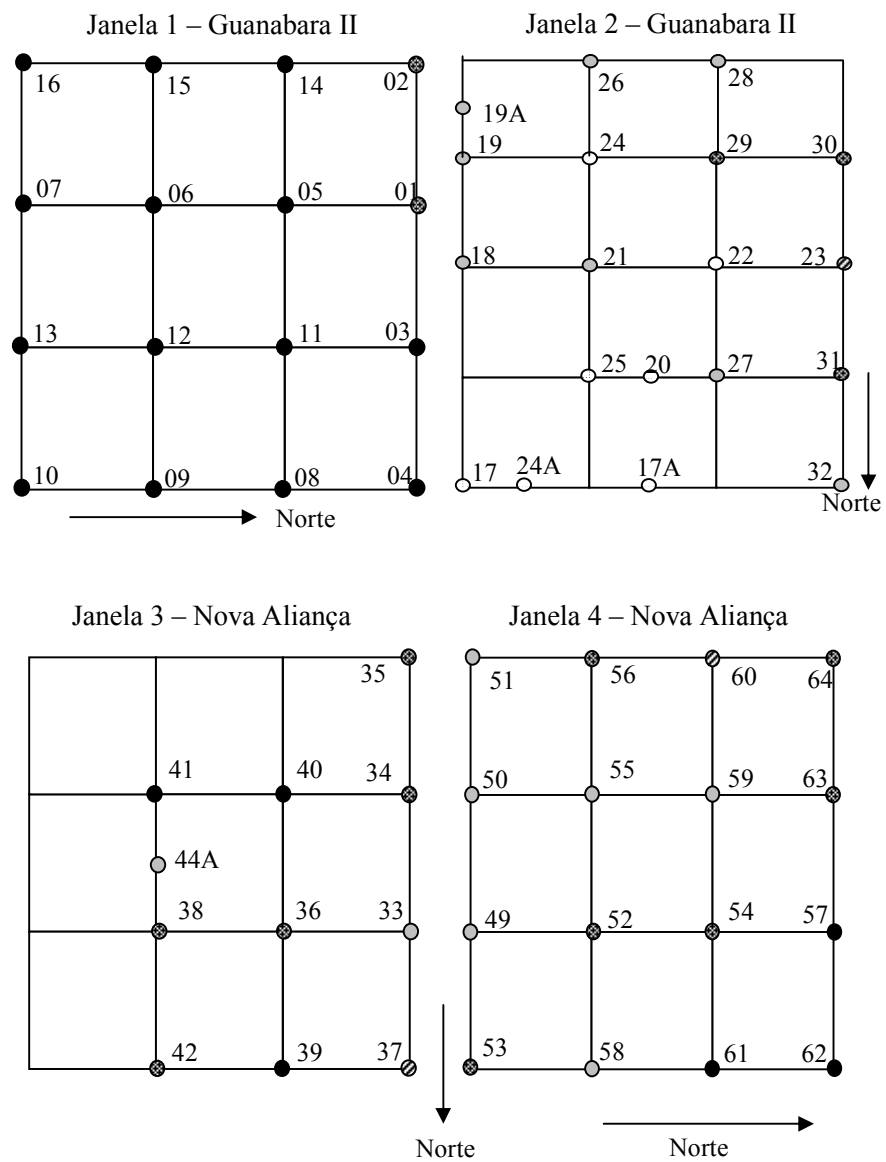
YOUNG, J. P. W.; WEXLER, M. Sym plasmid and chromosomal genotypes are correlated in field populations of *Rhizobium leguminosarum*. **Microbiology**, v.134, n.10, p.2731-2739, 1988.

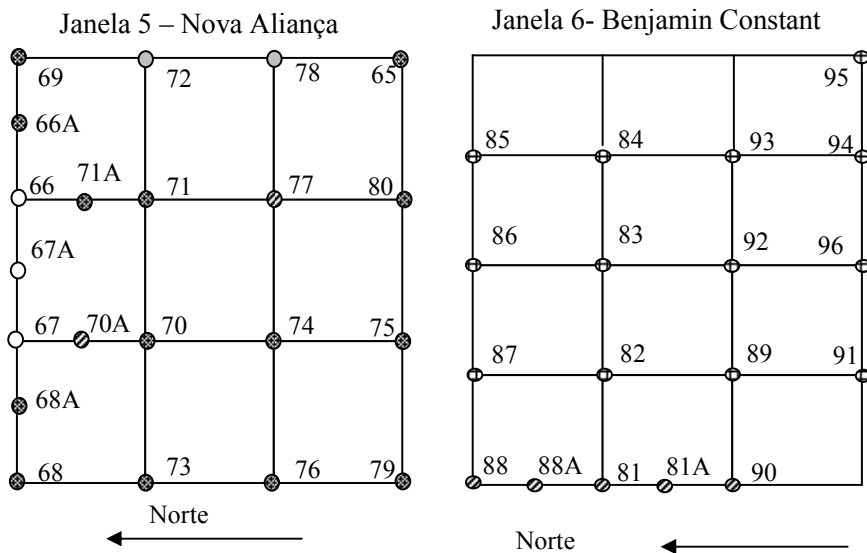
ZILLI, J.E. et al. Assessment of cowpea *Rhizobium* diversity in cerrado areas of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.281-287, 2004.

ANEXOS

ANEXO A		Página
1A	Croqui de campo das áreas amostradas-----	140
2A	Caracterização cultural -----	142
3A	Dendrograma cultural-----	184

1A Croqui de campo das áreas amostradas.





LEGENDA	
●	Floresta primária
⊗	Floresta secundária em estágio avançado de regeneração
⊘	Floresta secundária em estágio inicial de regeneração
○	Agrofloresta
⊙	Agricultura
⊕	Pastagem

Anexo 2 A (Caracterização cultural)

A) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Agrofloresta, localizados no Alto Rio Solimões, AM (significado das letras e palavras no final da tabela F).

isolado	Jan.	Tempo	Diâ.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.
17	A A 1	GII R	8	N C	C I	L	A B	B	A	N			
17	A A 2	GII L	7	N I	P I	L	M G	TL	A	N			
17	A A 3	GII L	5	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A A 4	GII L	5	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A A 5	GII L	4,5	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A A 6	GII I	1	AL C	L I	L	M B	TL	I	N			
17	A A 7	GII I	<1	AL C	L I	L	P B	TL	C	N			
17	A A 8	GII I	<1	AL C	L I	L	P B	TL	C	N			
17	A A 9	GII L	5	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A A 10	GII L	6	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A B 1	GII L	2	AL C	L I	L	P B	B	A	N			
17	A B 2	GII L	5	AL I	P O	L	M G	TL	C	N			
17	A B 3	GII L	SC	AL I	P O	L	A A	TL	C	N			
17	A B 4	GII L	<1	AL C	L I	L	P A	TL	B	N			
17	A B 5	GII L	1,2	N I	P I	L	M G	TL	A	N			
17	A B 6	GII L	5	A I	P I	L	M G	TL	C	N			
17	A B 7	GII L	<1	AL I	L I	L	M G	TL	A	N			
17	A B 8	GII L	<1	AL C	P I	L	M G	TL	B	N			
17	A B 9	GII L	1,2	AL C	P I	L	M G	TL	B	N			
17	A B 10	GII L	1,2	AL C	L I	L	P G	TL	C	N			

Continua...

Continua...																
17	A	B	10	GII	L	4	AL	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
17	A	C	1	GII	R	<1	A	C	P	I	L	E	A	B	A	N
17	A	C	2	GII	R	2,5	AL	I	P	O	R	E	B	O	C	S
17	A	C	3	GII	L	3	AL	I	P	I	L	A	G	TL	C	N
17	A	C	5	GII	L	1,5	AL	C	P	I	L	M	G	TL	C	N
17	A	C	6	GII	L	1	AL	C	P	I	L	M	G	TL	C	N
17	A	C	7	GII	L	3	AL	C	P	I	L	P	B	TL	A	N
17	A	C	8	GII	L	<1	AL	I	P	I	L	P	B	TL	B	N
17	A	C	9	GII	L	2,5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
17	A	C	10	GII	I	2,5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
17	A	1	GII	R	4	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N	
17	A	2	GII	L	4	N	I	L	O	L	A	G	TL	C	N	
17	A	3	GII	L	4	AL	I	P	I	L	A	G	TL	C	N	
17	A	4	GII	L	4	AL	I	P	I	L	A	G	TL	C	N	
17	A	5	GII	L	6	AL	I	P	I	L	A	B	TL	C	N	
17	A	6	GII	L	6	AL	I	P	I	L	A	B	TL	C	N	
17	A	7	GII	L	5	AL	I	P	I	L	M	G	TL	C	N	
17	A	8	GII	L	7	AL	I	P	I	L	A	G	TL	C	N	
17	A	9	GII	L	1,2	A	I	L	O	L	M	G	TL	I	N	
17	A	10	GII	R	8	A	C	C	I	L	A	G	B	A	S	
17	A	1a	GII	R	<1	A	C	P	I	L	E	A	O	A	N	
17	B	2	GII	R	SC	N	I	L	I	L	A	A	TL	I	N	
17	B	5	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
17	B	6	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
17	B	7	GII	R	6	A	I	C	I	L	A	G	B	A	S	

Continua...

Continua...														
17	B 8	GII	L	<1	AL	I	P	I	L	P	B	TL	B	N
17	B 9	GII	L	3,5	AL	C	P	I	L	M	A	TL	C	N
17	B 10	GII	L	<1	AL	I	P	I	L	P	B	TL	B	N
17	B 11	GII	L	2	AL	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
17	B 12	GII	R	4,5	N	I	P	O	L	M	G	TL	I	N
17	B 13	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
17	B 4a	GII	R	<1	N	C	P	I	L	E	G	TL	I	N
17	B 4b	GII	R	1	A	C	P	I	L	P	S	O	A	N
17	C 1	GII	L	2,5	AL	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
17	C 2	GII	R	3,5	A	C	C	I	L	M	G	B	A	N
17	C 3	GII	L	6	AL	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
17	C 5	GII	L	<1	AL	I	L	O	L	A	G	TL	C	N
17	C 6	GII	L	<1	AL	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
17	C 8	GII	R	1	A	C	P	I	L	P	G	O	A	N
17	C 9	GII	R	1	A	C	P	I	L	E	A	B	A	N
17	C 10	GII	R	1,2	A	C	L	I	L	P	S	O	A	N
20	A 1	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
20	A 2	GII	L	1,2	N	I	P	I	L	P	A	TL	B	N
20	A 3	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	B	B	N
20	A 4	GII	R	3	N	C	C	I	L	M	B	B	B	N
20	A 5	GII	L	<1	AL	I	P	I	L	P	B	TL	B	N
20	A 6	GII	L	<1	AL	I	P	I	L	P	A	TL	B	N
20	A 7	GII	R	1,2	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N
20	A 9	GII	L	2	AL	C	C	I	L	M	B	TL	C	N
20	A 10	GII	L	2	AL	C	C	I	L	M	B	TL	C	N
Continua...														

Continua...														
20	B 1	GII	L	1,5	AL	I	P	I	L	M	B	TL	C	N
20	B 2	GII	R	<1	N	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
20	B 3	GII	L	<1	N	C	P	I	L	P	A	B	C	N
20	B 4	GII	I	<1	AL	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
20	B 6	GII	L	<1	AL	I	P	O	L	P	A	B	B	N
20	B 7	GII	L	<1	AL	I	P	O	L	P	A	B	B	N
20	B 8	GII	L	1,2	AL	I	P	I	L	P	A	TL	B	N
20	B 9	GII	R	1,2	N	C	L	I	L	P	A	O	A	N
20	B 10	GII	L	<1	AL	C	L	I	L	P	A	B	B	N
20	C 1	GII	L	<1	AL	C	L	I	L	P	A	TL	A	N
20	c 2	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	B	B	N
20	C 3	GII	I	1	AL	C	P	I	L	M	G	TL	A	N
20	c 4	GII	L	<1	N	C		I	L	E	G	TL	A	N
20	C 5	GII	R	4	AL	C	P	I	L	E	S	TL	I	N
20	C 9	GII	I	3,5	AL	C	P	I	L	P	G	TL	B	N
20	C 10	GII	R	1,5	A	I	P	I	L	A	A	O	A	S
20	C 7A	GII	R	2,5	A	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
20	C 7B	GII	R	6	A	C	C	I	L	M	G	TL	C	N
22	A 2	GII	R	SC	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
22	A 3	GII	L	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
22	A 4	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
22	A 5	GII	I	1	N	C	P	I	L	P	A	O	B	N
22	A 6	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
22	A 6	GII	R	SC	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
22	A 7	GII	L	2	A	C	P	I	L	A	G	TL	C	N
Continua...														

Continua...																
22	A	8	GII	L	3	N	C	P	I	L	M	G	TL	C	N	
22	A	9	GII	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N	
22	A	10	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N	
22	B	1	GII	L	<1	N	C	P	I	L	E	B	TL	C	N	
22	B	2	GII	I	<1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N	
22	B	3	GII	I	<1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N	
22	B	4	GII	R	<1	A	C	P	I	L	E	B	O	A	N	
22	B	6	GII	L	SC	AL	I	P	I	L	M	G	TL	C	N	
22	B	7	GII	I	1,2	AL	C	L	I	L	A	B	TP	A	N	
22	B	8	GII	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N	
22	B	9	GII	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N	
22	B	10	GII	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N	
22	C	1	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
22	C	2	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
22	C	3	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N	
22	C	4	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N	
22	C	5	GII	L	1,5	AL	C	C	I	L	M	B	TL	C	N	
22	C	6	GII	L	1,5	AL	C	C	I	L	M	B	TL	C	N	
22	C	7	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
22	C	8	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N	
22	C	9	GII	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N	
22	C	10	GII	R	3	A	C	L	I	L	M	E	O	A	N	
24	A	A	3	GII	R	5	A	I	P	O	L	P	A	O	B	N
24	A	A	4	GII	R	5	A	I	P	O	L	P	A	O	B	N
24	A	A	5	GII	R	5	N	C	P	I	L	M	A	O	B	N
Continua...																

Continua...																
24	A	A	6	GII	R	3	A	I	P	O	L	P	B	O	A	N
24	A	A	7	GII	L	<1	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
24	A	A	9	GII	R	2,5	A	I	L	O	L	M	G	B	B	N
24	A	A	10	GII	R	4	A	I	P	I	L	M	G	TL	B	N
24	A	B	1	GII	R	<1	N	C	P	O	L	E	A	B	A	N
24	A	B	2	GII	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
24	A	B	3	GII	R	7	A	C	C	I	L	A	E	B	C	N
24	A	B	4	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	A	E	B	C	N
24	A	B	7	GII	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
24	A	B	8	GII	L	1,2	A	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
24	A	C	1	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	TL	I	N
24	A	C	2	GII	R	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
24	A	C	3	GII	R	<1	N	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
24	A	C	4	GII	R	1,5	A	C	P	I	L	M	G	TL	A	N
24	A	C	5	GII	R	<1	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
24	A	C	6	GII	R	6	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
24	A	C	7	GII	R	6	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
24	A	C	9	GII	R	5	A	I	C	I	L	A	B	B	A	N
24	A	C	10	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	B	C	N
24	A	A	1	GII	R	<1	AL	C	P	I	L	M	B	TL	C	N
24	A	A	2	GII	L	3	N	C	C	I	L	M	B	B	C	N
24	A	A	4	GII	L	2	A	C	C	I	L	M	G	O	C	N
24	A	A	6	GII	R	4,5	A	I	P	O	L	A	A	O	B	N
24	A	A	6	GII	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	O	A	N
24	A	A	7	GII	I	2	N	C	L	I	L	M	G	B	C	N
Continua...																

Continua...																
24	A	8	GII	I	2	N	C	L	I	L	M	G	B	C	N	
24	B	1	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	B	N	
24	B	2	GII	R	3,5	A	C	C	I	L	P	B	O	A	S	
24	B	3	GII	R	SC	A	I	P	O	L	A	G	B	A	N	
24	B	4	GII	R	6	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N	
24	B	5	GII	R	3	AL	C	P	I	L	P	A	TL	A	N	
24	B	6	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	S	
24	B	7	GII	R	1,5	A	I	C	O	L	P	A	B	B	N	
24	B	8	GII	L	1,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N	
24	B	9	GII	R	2	AL	C	P	O	L	P	B	B	A	N	
24	B	10	GII	R	3	A	C	L	I	L	A	A	TL	A	N	
25	A	C	8	GII	R	2,5	A	C	L	I	L	M	B	TL	C	N
25	B	1	GII	L	<1	N	C	L	I	L	M	G	O	B	N	
25	B	3	GII	R	3	A	C	L	I	L	M	G	B	A	N	
25	B	4	GII	R	3	A	C	L	I	L	M	G	B	A	N	
66	C	1	NA	L	1,2	N	I	P	O	L	M	G	TL	B	N	
66	C	2	NA	L	1,2	N	I	P	O	L	M	G	TL	B	N	
67	A	C	2	NA	R	1	A	C	P	I	L	E	B	B	A	N
67	A	C	3	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
67	A	C	4	NA	L	2,5	N	C	L	I	L	M	A	TL	B	N
67	A	C	5	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
67	A	1	NA	R	3,5	A	C	L	I	L	P	B	O	A	N	
67	A	3	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N	
67	A	4	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N	
67	A	5	NA	R	9	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N	
Continua...																

Continua...

67	A	10	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	G	B	A	S
67	B	3	NA	R	SC	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
67	B	5	NA	R	6	N	I	L	I	L	M	G	B	A	N
67	B	6	NA	L	2	N	C	L	I	L	P	G	B	C	N
67	B	7	NA	R	1,2	A	C	P	I	L	P	A	B	A	S
67	B	8	NA	L	4	A	I	P	O	L	P	A	TL	I	N
67	B	10	NA	R	SC	A	C	P	I	L	P	G	O	A	N
67	C	1	NA	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
67	C	1	NA	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
67	C	2	NA	R	2,5	N	C	P	I	L	M	G	B	B	S
67	C	4	NA	R	1,5	A	I	P	O	L	M	B	B	A	N
67	C	5	NA	R	2	A	C	P	I	L	P	B	B	A	S
67	C	6	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
67	C	7	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
67	C	8	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
67	C	8	NA	L	4	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
67	C	9	NA	R	5	N	C	C	I	L	M	E	TL	A	N
67	C	10	NA	R	5,5	A	C	C	I	L	A	G	O	A	S

B) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Agricultura, localizados no Alto Rio Solimões, AM.

Isolados	Jan.	Tempo	Diâ.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.	
18	A 1	GII	L	3	AL	C	C	I	L	M	B	TL	B	N
18	A 2	GII	L	2	N	I	L	I	L	P	G	TL	C	N
18	A 3	GII	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
18	A 4	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
18	A 5	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
18	A 6	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
18	A 7	GII	L	2	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
18	A 8	GII	R	4,5	A	I	P	O	L	M	A	O	A	N
18	A 9	GII	R	3,5	N	I	P	O	L	A	A	O	B	N
18	A 10	GII	R	7	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
18	B 1	GII	L	2	AL	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
18	B 2	GII	L	3	AL	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
18	B 3	GII	R	4	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
18	B 4	GII	R	6	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
18	B 5	GII	R	9	A	C	C	I	L	M	B	B	C	N
18	B 6	GII	L	2	N	C	L	I	L	P	B	TL	A	N
18	B 7	GII	L	5	AL	I	P	I	L	A	G	TL	C	N
18	B 8	GII	R	4,5	A	I	P	O	L	M	A	O	A	N
18	B 9	GII	I	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TP	I	N
18	B 10	GII	L	2,5	N	C	L	I	L	P	G	TL	C	N
18	C 1	GII	R	3	AL	I	L	O	L	M	E	TL	I	N
18	C 2	GII	R	8	A	C	C	I	L	A	E	B	B	N
18	C 3	GII	R	2,5	A	C	C	I	L	M	G	B	A	N

Continua...

Continua...

18		C 4	GII	R	2	A	C	C	I	L	M	E	B	A	N
18		C 5	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
18		C 6	GII	L	4	AL	I	P	O	L	M	B	TL	C	N
18		C 6	GII	L	4	AL	C	P	I	L	M	G	TL	C	N
18		C 7	GII	L	4	AL	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
18		C 8	GII	R	5	A	C	C	I	L	A	G	B	C	N
18		C 9	GII	L	6	N	I	P	O	L	M	E	B	C	N
18		C 10	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	G	TP	C	N
19	A	A 1	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 2	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 4	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 5	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 6	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 7	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 8	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 9	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	A 10	GII	R	3,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	S
19	A	B 3	GII	L	<1	AL	C	L	I	L	P	G	TL	B	N
19	A	B 4	GII	R	SC	A	I	L	O	L	A	B	TL	A	N
19	A	B 5	GII	L	1,2	N	C	L	I	L	M	B	TL	C	N
19	A	B 7	GII	R	SC	A	I	C	I	L	A	B	TL	A	N
19	A	B 8	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
19	A	B 9	GII	R	2	A	C	L	I	L	M	G	TL	A	N
19	A	B 10	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
19	A	C 1	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N

Continua...

Continua...																
19	A	C	2	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	C	3	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	C	4	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
19	A	C	5	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19	A	C	6	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
19		A	2	GII	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
19		A	3	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
19		A	4	GII	R	3	A	C	C	I	L	A	E	B	C	N
19		A	5	GII	R	2	AL	I	P	I	L	M	G	TL	C	N
19		A	9	GII	R	6	A	C	C	I	L	M	B	TP	A	N
19		A	10	GII	R	6	N	C	L	I	L	M	B	B	C	N
19		A	6A	GII	R	SC	AL	I	L	I	L	E	A	TL	I	N
19		A	6B	GII	R	SC	A	I	P	I	L	A	B	TL	A	N
19		A	6b	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
19		B	1	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
19		B	3	GII	R	3	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19		B	4	GII	L	3	A	I	P	O	L	P	A	O	B	N
19		B	5	GII	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
19		B	6	GII	R	2,5	A	C	P	I	L	P	B	O	A	N
19		B	7	GII	L	2	AL	I	P	I	L	P	A	TL	C	N
19		B	8	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	A	N
19		B	9	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	A	N
19		B	10	GII	L	2,5	AL	C	P	I	L	E	G	B	C	N
19		B	5b	GII	R	3	A	C	P	I	L	P	B	B	B	S
19		C	1	GII	R	1,5	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
Continua...																

Continua...														
19	C 2	GII	R	3	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 3	GII	R	3	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 4	GII	R	3	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 5	GII	R	3	A	C	P	I	L	P	A	O	B	N
19	C 6	GII	R	1,5	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 7	GII	R	2	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 8	GII	R	2	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
19	C 9	GII	R	2	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
21	B 1	GII	I	<1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
21	B 2	GII	I	2	AL	C	P	I	L	M	G	TL	I	N
21	B 3	GII	I	2	A	C	C	I	L	M	G	B	C	N
21	B 4	GII	L	4	AL	C	P	I	L	M	G	B	C	N
21	B 5	GII	ML	2	A	C	L	I	L	M	G	B	C	N
21	B 9	GII	R	3	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
21	B 10	GII	R	5	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
21	C 1	GII	R	3	N	I	P	I	L	P	A	O	A	N
21	C 2	GII	R	4,5	A	C	C	I	R	M	B	B	A	N
21	C 3	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
21	C 4	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
21	C 5	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
21	C 6	GII	ML	<1	N	C	P	I	L	E	G	B	A	N
21	C 7	GII	L	2,5	AL	I	P	O	L	M	G	B	C	N
21	C 8	GII	I	2	AL	C	P	I	L	M	G	TL	I	N
21	C 9	GII	R	4,5	A	C	C	I	R	M	B	B	A	N
21	C 10	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
Continua...														

Continua...															
26	B	1	GII	L	1,2	A	C	L	I	L	M	E	O	B	N
26	B	3	GII	L	2	A	C	C	I	L	M	G	O	C	N
26	B	4	GII	L	2	A	C	C	I	L	M	G	O	C	N
27	A	1	GII	R	SC	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
27	A	2	GII	R	SC	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
27	A	4	GII	R	SC	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
27	A	3	GII	L	3	N	I	P	I	L	M	A	TL	C	N
27	A	5	GII	L	2	N	I	P	I	L	M	A	TL	C	N
27	A	6	GII	L	2	N	C	C	I	L	M	G	O	B	N
27	C	1	GII	R	2	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
27	C	2	GII	R	2	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
27	C	6	GII	R	5	A	C	C	I	L	M	G	TL	A	N
27	C	7	GII	R	<1	AL	C	P	O	L	E	A	TL	I	N
27	C	8	GII	R	6,2	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
27	C	9	GII	I	1	N	C	L	I	L	P	G	TL	A	N
27	C	10	GII	R	4	A	I	L	O	L	A	G	B	A	N
27	C	5a	GII	R	7	A	C	C	I	L	M	G	TL	C	N
27	C	5b	GII	R	2,5	A	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
27	C	6C	GII	R	<1	N	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
28	A	3	GII	I	4,5	N	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
28	A	5	GII	I	7	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
28	A	6	GII	I	8	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
28	A	8	GII	L	2	A	C	C	I	L	M	G	O	C	N
28	A	9	GII	L	2,5	A	C	C	I	L	M	G	O	C	N
28	A	10	GII	R	6	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
Continua...															

Continua...															
28	A	11	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	G	TL	A	S
28	A	12	GII	R	3	A	C	C	I	L	M	G	TL	A	S
28	B	1	GII	L	4	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
28	B	2	GII	L	2,5	A/N	C	C	I	L	M	B	B	A	N
28	B	3	GII	L	2,5	A/N	C	C	I	L	M	B	B	A	N
28	B	5	GII	L	3	A	C	C	I	L	A	B	B	C	N
28	B	6	GII	L	3	A	C	C	I	L	A	B	B	C	N
28	B	9	GII	R	SC	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
28	B	10	GII	L	2,5	A	C	C	I	L	M	B	B	B/C	N
32	A	1	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	B	B	A	N
32	A	2	GII	L	4	A	I	L	I	L	A	B	TL	A	N
32	A	3	GII	L	1,5	N	I	P	O	L	P	B	B	C	N
32	A	4	GII	R	3	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
32	A	5	GII	L	1,2	N	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
32	A	6	GII	L	1,2	N	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
32	A	8	GII	L	2,5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
32	A	9	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
32	A	10	GII	L	<1	N	C	P	I	L	P	G	TL	C	N
32	B	1	GII	L	3	N	I	P	I	L	M	B	TL	C	N
32	B	2	GII	R	5	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
32	B	5	GII	L	<1	N	C	P	I	L	P	B	TL	A	N
32	B	6	GII	L	<1	N	C	P	I	L	P	B	TL	A	N
32	B	7	GII	L	3	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	S
32	B	8	GII	R	3	A	C	P	I	R	M	B	TL	A	S
32	C	1	GII	L	2	A	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
Continua...															

Continua...																
32	C	2	GII	R	9	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N	
32	C	5	GII	R	7	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N	
32	C	6	GII	R	7	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N	
32	C	7	GII	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N	
32	C	8	GII	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N	
32	C	9	GII	R	SC	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N	
49	B	1A	NA	I	<1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	C	N	
49	B	1B	NA	R	2,5	N	I	P	I	L	P	A	O	A	N	
72	C	1	NA	R	7	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N	
72	C	2	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N	

C) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Floresta secundária em estágio inicial de regeneração, localizados no Alto Rio Solimões, AM.

Isolados	Jan.	Tempo	Diâ.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.		
2	A	1	GII	L	3,5	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
2	A	2	GII	L	2,5	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
2	A	3	GII	L	2,5	N	C	L	I	L	M	B	TL	C	N
2	A	5	GII	I	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
2	A	6	GII	L	3	N	C	C	I	L	M	B	B	B	N
2	A	7	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
2	A	8	GII	L	1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
2	A	9	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
2	A	10	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N

Continua...

Continua...															
2	A	11	GII	R	6	A	C	C	I	L	M	E	TL	C	N
2	A	12	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
2	B	1	GII	L	1,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
2	B	2	GII	L	1	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
2	B	3	GII	L	1	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
2	C	1	GII	L	1	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
2	C	2	GII	L	1	N	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
2	C	3	GII	L	2	N	C	P	I	L	M	A	TL	A	N
2	C	4	GII	L	2,5	N	C	P	I	L	M	A	TL	A	S
2	C	5	GII	R	2	A	C	L	I	L	M	B	B	A	N
2	C	6	GII	R	2	A	C	L	I	L	M	B	B	A	N
2	C	7	GII	I	1	N	C	P	I	L	P	B	TP	I	N
2	C	8	GII	R	1	AL	C	P	I	L	P	A	O	A	S
29	A	1	GII	R	5,5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
29	A	2	GII	R	6	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
29	A	3	GII	L	2	AL	C	C	I	L	P	B	TL	A	N
29	A	6	GII	I	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
29	A	7	GII	L	1,5	AL	C	P	I	L	M	A	TL	C	N
29	B	1	GII	L	1,5	N	I	P	O	L	P	G	TL	I	N
29	B	2	GII	L	3	N	I	P	O	L	P	G	TL	C	N
29	B	3	GII	R	SC	N	I	P	I	L	A	G	B	A	N
29	B	4	GII	L	1,2	N	I	P	I	L	P	G	TL	A	N
29	B	5	GII	R	3	N	I	P	I	L	P	G	B	C	N
29	B	6	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
29	B	7	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
Continua...															

Continua...														
29	B 8	GII	R	8	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
29	C 1	GII	R	2	N	C	P	I	L	P	A	B	A	N
29	C 2	GII	R	SC	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
29	C 3	GII	L	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
29	C 4	GII	R	5	N	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
29	C 7	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
29	C 8	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
29	C 10	GII	L	2,2	N	I	P	I	L	P	G	TL	C	N
30	A 1	GII	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	A 2	GII	R	5,5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	A 3	GII	L	1,5	N	I	P	I	L	P	A	TL	C	N
30	A 4	GII	R	9	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
30	A 5	GII	R	2	A	I	P	O	L	M	A	TL	I	N
30	A 6	GII	R	2	A	I	P	O	L	P	A	O	B	S
30	A 7	GII	R	3	A	I	P	O	L	P	A	O	B	S
30	A 8	GII	R	9	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
30	B 1	GII	R	1	N	C	P	I	L	P	B	TL	C	N
30	B 2	GII	R	2	A	C	P	I	L	P	B	TL	A	N
30	B 3	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	B 4	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	B 5	GII	L	1,5	N	C	P	I	L	P	G	TL	C	N
30	B 6	GII	L	<1	N	C	P	I	L	E	A	TL	C	N
30	B 6	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	A	N
30	B 7	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	B	N
30	B 8	GII	R	7	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
Continua...														

Continua...														
30	B 9	GII	L	6	A	C	L	I	L	M	G	TL	A	N
30	B 10	GII	R	3	A	C	P	I	L	M	G	B	B	N
30	C 3	GII	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	C 4	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	C 5	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	C 6	GII	R	7	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
30	C 7	GII	R	7	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
30	C 10	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
30	C 11	GII	R	5	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
31	A 1	GII	R	2	A	I	C	I	L	A	G	TL	A	N
31	A 2	GII	R	7,5	A	I	P	O	L	A	G	TL	A	N
31	A 3	GII	R	3	N	C	C	I	L	P	B	B	C	N
31	A 4	GII	L	1,5	A	I	P	I	L	P	A	TL	A	N
31	A 5	GII	R	7,5	A	C	P	I	L	A	G	TL	A	N
31	A 6	GII	R	7,5	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
31	A 8	GII	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
31	A 9	GII	R	4	A	C	C	I	L	M	G	B	B	N
31	B 1	GII	L	3	N	C	P	I	L	M	G	B	C	N
31	B 2	GII	R	3	A	I	P	O	L	A	G	B	C	N
31	B 3	GII	R	6	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
31	B 4	GII	R	5	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
31	B 7	GII	R	7	A	I	P	O	L	A	G	TL	A	N
31	B 8	GII	L	<1	A	I	L	I	L	A	B	TL	A	N
31	B 9	GII	L	2	AL	I	P	O	L	P	B	TL	C	N
31	B 10	GII	L	2	N	I	P	O	L	M	B	TL	A	N
Continua...														

Continua...															
31	B	11	GII	L	2	N	I	P	I	L	P	A	TL	I	N
31	C	1	GII	R	5	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
31	C	2	GII	R	SC	A	I	L	O	L	A	G	TL	A	N
31	C	3	GII	L	1	AL	I	L	O	L	P	G	TL	I	N
31	C	4	GII	L	2	AL	I	L	O	L	P	G	TL	I	N
31	C	5	GII	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
31	C	6	GII	R	4	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
31	C	7	GII	L	SC	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
31	C	8	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
31	C	9	GII	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
31	C	10	GII	R	7	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
34	C	1	NA	L	3	N	I	P	I	L	M	B	TL	B	N
34	C	2	NA	L	<1	N	I	L	I	L	P	B	B	B	N
34	C	3	NA	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
34	C	4	NA	L	<1	AL	I	P	O	L	P	G	O	B	N
34	C	5	NA	L	<1	AL	I	P	O	L	P	G	O	B	N
34	C	6	NA	L	<1	N	C	P	I	L	P	A	B	B	N
34	C	7	NA	L	<1	N	C	P	I	L	P	A	B	B	N
34	C	8	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
34	C	9	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	B	N
34	C	10	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	A	B	B	N
34	C	11	NA	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	B	B	N
34	C	12	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	A	B	B	N
35	A	2	NA	R	8	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
35	A	3	NA	R	7	A	I	C	O	L	M	G	TL	A	N
Continua...															

Continua...															
35	A	1A	NA	R	2	AL	C	P	I	L	P	G	B	A	N
35	A	1B	NA	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	B	N
35	C	2	NA	R	5	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
38	A	1	NA	L	<1	N	C	L	I	L	E	B	O	A	N
38	A	2	NA	R	1,2	N	C	P	I	L	P	A	B	C	N
38	A	3	NA	L	<1	N	C	P	I	L	E	B	O	A	N
38	A	4	NA	L	<1	N	C	P	I	L	P	A	O	A	N
38	A	5	NA	R	1,2	A	I	P	O	R	P	A	B	C	N
38	A	6	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	G	O	A	N
38	A	7	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	G	O	A	N
38	A	10	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	G	O	A	N
38	A	11	NA	L	<1	AL	C	L	I	L	E	G	O	A	N
38	A	12	NA	R	6	A	I	U	L	P	M	S	TL	A	S
38	C	1	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
42	C	1	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	2	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	3	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	4	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	5	NA	L	1,2	N	C	C	I	L	M	B	B	C	N
42	C	6	NA	L	1,2	N	C	C	I	L	M	B	B	C	N
42	C	7	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	8	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
42	C	9	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	B	O	C	N
42	C	10	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	B	O	C	N
53	A	1	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
Continua...															

Continua...																
53	B	1	NA	L	<1	N	C	P	I	L	P	G	B	B	N	
68	A	A	1	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	B	N
68	A	A	2	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	B	N
68	A	A	4	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	B	N
68	A	A	6	NA	L	<1	N	C	P	I	L	E	G	TP	C	N
68	A	A	8	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	P	A	TL	C	N
68	A	C	1	NA	R	4,5	N	C	C	I	L	M	G	TL	A	N
68	B	1	NA	R	1,2	N	C	C	I	L	E	G	O	C	S	
68	C	1	NA	R	SC	A	I	P	I	L	A	A	TP	I	N	
68	C	12	NA	I	<1	A	C	P	I	L	P	G	O	A	N	
68	C	13	NA	L	<1	N	C	P	I	L	M	A	TL	C	N	
68	C	14	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N	
69	B	1	NA	L	2,5	AL	C	L	I	L	M	B	O	C	N	
69	B	2	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	B	O	C	N	
69	B	3	NA	R	2	A	C	P	I	L	P	B	B	A	S	
69	B	4	NA	L	2	A	C	P	I	L	M	B	B	C	N	
69	B	5	NA	R	6	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N	
69	B	6	NA	R	7	A	C	C	I	L	A	G	O	A	N	
70	A	1	NA	R	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N	
70	A	2	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N	
70	A	3	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N	
70	A	4	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N	
70	A	5	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N	
70	A	7a	NA	I	2,5	A	I	P	O	R	M	E	B	C	N	
70	A	7b	NA	R	<1	N	C	P	I	L	E	G	TL	I	N	
Continua...																

Continua...														
70	A 8	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
70	A 9	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N
70	A 10	NA	I	1,2	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
70	B 1	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
70	C 1	NA	L	1,2	A	C	C	I	L	E	G	B	A	N
70	C 2	NA	L	2	AL	I	P	I	L	M	G	TL	C	N
70	C 3	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
70	C 4	NA	R	SC	A	I	P	O	L	A	A	TL	A	N
70	C 4	NA	R	6	A	I	L	O	L	M	B	TL	A	N
70	C 5	NA	I	<1	AL	C	P	I	L	P	B	TL	I	N
70	C 6	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
70	C 7	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
70	C 8	NA	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TL	C	N
70	C 9	NA	L	4	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
70	C 10	NA	I	2	N	C	P	I	L	M	G	TL	C	N
73	A 1	NA	L	3,5	AL	C	L	O	L	M	G	B	A	N
73	A 2	NA	L	3,5	AL	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
73	A 4	NA	R	5	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
73	A 5	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
73	A 6	NA	I	1,2	N	C	P	I	L	M	B	TL	C	N
73	A 7	NA	L	4	A	C	C	I	L	M	G	B	C	N
73	A 8	NA	L	3,5	A	C	C	I	L	M	G	B	C	N
73	A 9	NA	R	6	A	I	P	O	L	M	A	TL	A	N
73	A 10	NA	I	1,2	N	C	P	I	L	P	G	TL	C	N
73	B 1	NA	L	1,2	N	C	C	I	L	A	E	B	C	N
Continua...														

Continua...														
73	B 2	NA	R	7	A	C	C	I	L	M	G	TP	A	N
73	B 3	NA	L	2	N	C	C	I	L	M	G	O	B	N
73	B 4	NA	L	2	N	C	C	I	L	M	G	O	B	N
73	B 5	NA	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
74	C 1	NA	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
74	C 2	NA	L	4	A	C	L	I	L	M	E	O	C	N
74	C 3	NA	L	4	A	C	L	I	L	M	E	O	C	N
76	B 1	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	B	B	B	N
76	B 2	NA	R	6,5	A	I	L	I	L	M	G	B	A/I	N
80	A 7	NA	L	1,2	AL	C	P	O	L	M	B	B	B	N
80	A 10	NA	R	2	N	C	L	I	L	M	G	TL	I	N
80	A 5a	NA	R	1,2	A	I	P	I	L	M	A	O	A	N
80	A 5B	NA	R	4	N	C	L	I	L	M	B	TL	C	N

D) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Floresta secundária em estágio avançado de regeneração, localizados no Alto Rio Solimões, AM.

Isolados	Jan.	Tempo	Diâ.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.	
23	A 1	GII	I	1,2	AL	C	L	I	L	M	B	TP	I	N
23	A 2	GII	R	4	A	C	C	I	L	M	G	TL	A	N
23	A 3	GII	R	4,5	AL	I	P	O	L	M	G	TP	A	N
23	A 4	GII	R	5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
23	A 5	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
23	A 6	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N

Continua...

Continua...

23	A	7	GII	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
23	A	8	GII	R	4	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
23	A	9	GII	R	5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
23	A	10	GII	R	4,5	AL	I	P	O	L	M	G	TP	A	N
23	B	1	GII	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N
23	B	2	GII	I	1	AL	C	L	I	L	P	B	TP	I	N
23	B	3	GII	I	1	AL	C	P	I	L	P	B	TP	I	N
23	B	4	GII	R	<1	MAL	C	P	I	L	P	B	TP	I	N
23	B	5	GII	I	2,5	N	I	P	O	L	P	B	TP	A	N
23	B	6	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
23	B	7	GII	I	<1	AL	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
23	B	8	GII	I	1	AL	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
23	B	9	GII	R	4	A	I	P	O	R	P	G	TL	R	N
23	B	10	GII	L	5	AL	C	L	I	L	M	A	TL	I	N
23	C	1	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	C	N
23	C	2	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	C	N
23	C	4	GII	R	4	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
23	C	7	GII	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
23	C	8	GII	R	2	A	C	P	O	L	P	G	O	A	N
37	B	1	NA	L	2	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
37	B	2	NA	L	2,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
37	B	3	NA	L	2	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
37	B	4	NA	L	2,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N
37	B	5	NA	L	3	N	C	P	I	L	P	B	TL	A	N
37	B	6	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	P	B	TL	A	N

Continua...

Continua...																
37	B	7	NA	L	2,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N	
37	B	8	NA	I	1	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N	
37	B	9	NA	L	2,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N	
37	B	10	NA	I	1	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N	
37	B	11	NA	I	1	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N	
37	B	12	NA	L	5	N	C	C	I	L	M	G	TL	A	N	
37	C	1	NA	L	3,5	N	C	C	I	L	M	G	TL	A	N	
37	C	2	NA	R	7	A	C	P	I	L	A	G	TL	A	N	
37	C	4	NA	L	2	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N	
37	C	5	NA	L	2	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N	
37	C	6	NA	L	2,5	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N	
60	B	1	NA	R	<1	N	C	L	I	L	P	G	B	C	N	
60	B	2	NA	L	<1	N	C	P	I	L	M	B	B	B	N	
71	A	B	1	NA	L	3,5	A	C	P	I	L	M	G	TL	A	N
71	A	B	2	NA	I	3,5	N	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
71	A	B	3	NA	I	4	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
71	A	B	4	NA	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
71	A	B	5	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
71	A	B	6	NA	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
71	A	B	7	NA	I	1,2	N	C	P	I	L	M	B	TL	C	N
71	A	B	8	NA	R	7	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
71	A	B	9	NA	L	5	N	I	P	O	L	M	B	B	C	N
71	A	B	10	NA	L	2,5	N	C	P	O	L	M	B	B	C	N
71	A	C	1	NA	R	3	A	C	L	I	R	M	G	B	A	N
71	A	C	2	NA	R	3	A	C	L	I	R	M	G	B	A	N
Continua...																

Continua...																
71	A	C	3	NA	L	5	AL	I	P	O	L	M	B	B	C	N
71	A	C	4	NA	L	5	AL	I	P	O	L	M	B	B	C	N
71	A	C	5	NA	L	2,5	N	I	C	I	L	A	G	B	C	N
71	A	C	6	NA	L	1,2	N	C	P	I	L	M	G	B	C	N
71	A	C	7	NA	R	7	A	C	C	I	L	A	G	O	B	N
71	A	C	8	NA	R	7	A	C	C	I	L	A	G	O	B	N
71	A	C	9	NA	R	10	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
71	A	C	10	NA	R	5	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
81	A	A	2	BC	R	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
81	A	A	3	BC	R	2	A	C	P	I	L	P	B	O	A	N
81	A	A	4	BC	R	<1	N	C	P	I	L	E	B	O	B	N
81	A	A	5	BC	R	3	A	I	P	I	L	P	B	O	A	S
81	A	A	6	BC	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	A	B	C	N
81	A	A	7	BC	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
81	A	A	8	BC	ML	<1	N	C	P	I	L	E	B	O	B	N
81	A	A	9	BC	R	2,5	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
81	A	A	10	BC	R	SC	A	I	P	O	L	P	B	TL	I	N
81	A	B	1	BC	R	2	A	C	P	O	R	P	E	B	B	N
81	A	B	2	BC	R	8	A	I	L	O	L	M	G	TP	A	N
81	A	B	3	BC	R	4,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
81	A	B	4	BC	R	3,5	A	C	C	I	L	M	B	B	A	N
81	A	B	5	BC	R	1,5	N	C	L	I	L	M	G	B	C	N
81	A	B	6	BC	R	1,2	A	C	P	I	L	A	B	B	A	N
81	A	B	8	BC	R	4	A	C	L	I	L	M	A	O	C	N
81	A	B	10	BC	R	4	A	C	L	I	L	M	A	O	C	N
Continua...																

Continua...																
81	A	C	1	BC	R	<1	N	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
81	A	C	2	BC	L	1,5	N	I	P	I	L	M	A	TL	I	N
81	A	C	3	BC	R	SC	A	I	P	I	L	M	G	TP	I	N
81	A	C	4	BC	R	SC	A	I	P	I	L	M	G	TP	I	N
81	A	C	5	BC	R	1,2	AL	C	P	I	L	P	G	O	A	N
81	A	C	6	BC	R	3	A	I	P	O	L	P	A	B	B	N
81	A	C	7	BC	I	1,2	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
81	A	C	8	BC	L	2	AL	C	L	I	L	M	B	B	B	N
81	A	C	9a	BC	L	2	N	I	P	O	L	P	A	TL	C	N
81	A	C	9b	BC	I	3	A	C	L	I	L	P	E	O	B	N
81	A	C	10	BC	R	3	A	C	C	I	L	A	G	B	A	S
81		B	1	BC	R	<1	N	C	P	I	L	P	B	TL	I	N
81		B	3	BC	I	<1	N	C	L	I	L	P	G	TP	C	N
81		B	5	BC	R	3	A	C	C	I	L	A	B	TL	I	S
81		B	9	BC	R	SC	A	I	L	O	L	A	A	TL	I	N
81		B	10	BC	R	SC	A	I	L	O	L	A	A	TL	I	N
81		B	6	BC	R	3	A	C	C	I	L	A	B	TL	I	S
88	A	A	1	BC	L	2	AL	I	P	O	L	M	G	B	B	N
88	A	A	2	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
88	A	A	4	BC	R	4	A	C	C	I	L	M	B	TL	A	S
88	A	B	2	BC	L	3,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
88	A	B	3	BC	L	4,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
88	A	B	4	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
88	A	B	5	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
88	A	B	6	BC	L	5	AL	I	L	O	L	M	B	B	C	N
Continua...																

Continua...

88	A	B	7	BC	I	6	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
88	A	B	8	BC	L	1,2	N	I	L	I	L	M	G	TL	B	N
88	A	B	10a	BC	I	3	A	C	P	I	L	P	G	O	A	N
88	A	B	10b	BC	I	<1	N	C	P	I	L	E	A	TL	C	N
88	A	C	1	BC	L	3	N	I	P	I	L	P	A	TL	C	N
88	A	C	2	BC	L	1,2	A	I	P	I	L	P	A	TL	B	N
88	A	C	3	BC	L	1,5	AL	I	P	I	L	M	A	TL	B	N
88	A	C	4	BC	L	1,5	AL	I	P	I	L	M	A	TL	B	N
88	A	C	5	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
88	A	C	6	BC	R	8	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
88	A	C	7	BC	R	7	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
88	A	C	8	BC	R	7	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
88	A	C	9	BC	R	5	A	I	C	I	L	A	G	TL	A	N
88	A	C	10	BC	R	SC	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
88		A	3	BC	L	4,5	N	I	L	I	L	M	G	TL	C	N
88		A	4	BC	L	4,5	N	I	L	I	L	M	G	TL	C	N
88		A	6	BC	I	2	A	C	L	O	L	P	S	O	A	N
88		A	7	BC	L	7	N	I	P	O	L	M	A	TL	B	N
88		A	8	BC	R	5	A	I	L	O	L	M	G	B	A	S
88		A	10	BC	L	4,5	N	I	P	I	L	M	B	TL	C	N
88		B	2	BC	R	5	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
88		B	3	BC	R	3	A	C	P	I	L	M	A	TL	I	S
88		B	4	BC	I	SC	A	I	P	O	L	M	G	TL	I	N
88		B	6	BC	L	5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
88		B	9	BC	R	3	AL	I	L	O	L	M	G	TL		N

Continua...

Continua...														
88	C 1	BC	R	6	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
88	C 2	BC	R	6	A	I	L	O	R	M	G	TL	A	N
88	C 3	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
88	C 5	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
88	C 6	BC	L	4	A	I	P	O	L	M	G	B	A	N
88	C 7	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
88	C 9	BC	R	4,5	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
88	C 10	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	B	TL	A	N
90	A 3	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
90	A 3	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
90	A 4	BC	L	3,5	AL	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
90	A 5	BC	L	3,5	AL	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
90	A 6	BC	I	3	N	C	C	I	L	P	S	O	A	N
90	A 7	BC	L	4	N	I	P	I	L	A	A	TL	C	N
90	A 8	BC	L	4,5	A	C	P	I	L	M	A	TL	C	N
90	A 9	BC	R	SC	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
90	A 10	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
90	B 4	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
90	B 6	BC	R	1	A	I	P	O	L	A	G	TL	A	N
90	C 1	BC	L	<1	AL	I	P	I	L	M	G	TL	C	N
90	C 2	BC	L	1,2	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
90	C 5	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
90	C 6	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
90	C 7	BC	R	SC	A	I	P	I	L	M	A	TL	A	N
90	C 8	BC	R	SC	A	I	L	I	L	M	A	TL	A	N
90	C 9	BC	R	4,5	A	I	C	I	L	M	G	B	A	S

E) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Floresta primária, localizados no Alto Rio Solimões, AM.

Isolados	Jan.	Tempo	Diá.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.	
3	A 1	GII	L	2	A	C	C	I	L	M	G	B	A	N
3	A 2	GII	L	5	AL	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
3	A 3	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
3	A 4	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
3	A 5	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
3	A 6	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
3	A 7	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
3	A 8	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
3	A 11	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
3	A 12	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
3	B 1	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
3	B 2	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
3	B 2	GII	L	3	A	C	L	I	L	M	B	TL	B	N
3	B 3	GII	I	<1	A	C	L	I	L	M	E	O	A	N
3	B 4	GII	L	<1	AL	C	L	I	L	P	E	O	B	N
3	B 5	GII	L	2	A	C	P	I	L	P	E	O	C	N
3	B 6	GII	L	<1	N	C	P	I	L	E	B	O	A	S
3	B 7	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
3	B 9	GII	L	2,5	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
3	B 10	GII	L	1,5	A	C	P	I	L	A	B	B	A	N
3	B 11	GII	L	1,5	A	C	P	I	L	A	B	B	A	N
3	B 12	GII	R	5	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
4	A 1	GII	L	7	A	I	P	I	L	A	G	TL	C	N

Continua...

Continua...

4	A	3	GII	R	5	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
4	A	4	GII	R	6	A	C	P	I	L	A	G	O	A	N
4	A	5	GII	L	1,5	N	C	P	I	L	M	G	TL	B	N
4	A	6	GII	L	5	A	C	L	I	L	M	G	TL	A	N
4	B	2	GII	L	<1	N	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
4	B	3	GII	L	<1	AL	C	P	I	L	P	A	TL	I	N
4	B	4	GII	L	2	N	C	L	I	L	M	A	TL	C	N
4	B	5	GII	L	3	N	C	L	I	L	M	E	TL	C	N
4	B	7	GII	R	5	A/N	C	C	I	L	A	G	B	A	N
4	B	8	GII	R	1	N	C	P	I	L	M	G	B	A	N
4	B	10	GII	L	2	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
4	B	11	GII	L	2	N	C	L	I	L	M	G	TL	C	N
4	B	12	GII	L	1,2	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
4	C	1	GII	R	5	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
5	A	1	GII	L	<1	AL	C	C	I	L	E	B	TL	B	N
5	A	2	GII	I	2,5	AL	C	C	I	L	P	A	B	C	N
5	A	3	GII	L	<1	A	C	P	I	L	E	A	TL	B	N
5	A	4	GII	L	1	N	C	P	I	L	P	G	O	B	N
5	A	5	GII	R	4	A	C	P	I	L	M	G	TP	A	N
5	A	6	GII	I	<1	N	C	P	I	L	E	G	TL	B	N
5	A	7	GII	L	4	AL	C	C	I	L	M	G	TL	C	N
5	A	8	GII	L	4	AL	C	C	I	L	M	G	TL	C	N
5	A	9	GII	L	3,5	N	I	L	I	L	M	G	TL	C	N
5	A	10	GII	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
5	C	1	GII	L	<1	A	C	P	I	L	E	G	B	A	N

Continua...

Continua...															
5	C	2	GII	L	2,5	A	C	P	I	L	M	G	B	A	N
5	c	5	GII	L	<1	A	C	P	I	L	E	A	TL	B	N
6	A	1	GII	L	<1	A	C	P	I	L	P	B	TL	B	N
7	B	1	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	2	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	3	GII	L	1	N	C	L	I	L	P	B	TL	C	N
7	B	4	GII	L	1	N	C	L	I	L	P	B	TL	C	N
7	B	5	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	6	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	7	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	8	GII	R	6	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	9	GII	R	7	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	10	GII	L	1	A	C	C	I	L	M	B	TL	A	N
7	B	11	GII	R	7	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
7	B	12	GII	R	7	A	C	C	I	R	A	G	B	A	N
9	A	1	GII	L	3,5	A	C	C	I	L	M	E	O	B	N
9	A	2	GII	L	2,5	A	C	C	I	L	P	E	O	B	N
9	A	3	GII	ML	3	AL	I	P	I	L	M	G	B	B	N
9	C	10	GII	R	10	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
10	A	4A	GII	R	10	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
14	C	1	GII	L	3	A	I	L	I	L	M	G	O	A	N
14	C	2	GII	L	3	A	I	L	I	L	M	G	O	A	N
15	A	1	GII	ML	<1	A	C	P	I	L	M	G	B	C	N
15	A	2	GII	ML	<1	A	C	P	I	L	M	G	B	C	N
15	A	3	GII	L	<1	A	C	L	I	L	P	B	TL	B	N
Continua...															

Continua...															
15	A	4	GII	L	<1	A	C	L	I	L	P	B	TL	B	N
15	A	5	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
15	B	1	GII	L	<1	A	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
15	C	2	GII	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	S
15	C	4	GII	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	S
15	C	5	GII	L	<1	A	C	P	I	L	P	A	TL	A	N
15	C	6	GII	L	<1	A	C	P	I	L	P	A	O	B	N
15	C	8	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
15	C	9	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
15	C	11	GII	L	1	A	C	C	I	L	M	E	O	B	N
15	C	12	GII	R	4	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
16	A	2	GII	L	1,5	N	I	L	O	L	A	G	B	B	N
40	A	1	NA	L	2	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
40	A	2	NA	L	2	N	C	C	I	L	M	G	TL	A	N
40	A	3	NA	L	<1	A	C	P	I	L	M	E	TL	C	N
40	A	4	NA	R	4,5	A	C	C	I	L	A	G	B	C	N
40	A	6	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
40	A	7	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	A	G	B	A	N
40	A	8	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	A	G	B	A	N
40	A	9	NA	L	1,2	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
40	A	10	NA	L	1,5	N	C	C	I	L	M	G	B	C	N
40	A	11	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	B	O	C	N
40	A	12	NA	L	2,5	N	C	C	I	L	M	B	O	C	N
61	C	1	NA	L	3	N	C	P	I	L	M	B	B	B	N
62	C	1	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
Continua...															

Continua...															
62	C 2	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N	
62	C 3	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N	
62	C 4	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N	
62	C 5	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N	
62	C 6	NA	L	2,5	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N	
62	C 9	NA	L	2	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N	
62	C 10	NA	L	2,5	N	I	P	O	L	M	G	B	C	N	

F) Caracterização cultural de isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas de caupi cultivado com solução de solos, sob Pastagem, localizados no Alto Rio Solimões, AM.

isolado	Jan.	Tempo	Diâ.	pH	Forma	Ele.	Bordo	Superfície	Muco	Consistência	D.Opt.	Cor	Abs.	
83	A 2	BC	L	1,2	A/N	C	C	I	L	M	E	O	B	N
83	A 3	BC	L	1,2	A	C	C	I	L	M	E	O	B	N
83	A 4	BC	L	2,2	A	C	C	I	L	M	E	O	B	N
83	B 1	BC	R	1,3	A	C	P	I	L	P	A	O	B	S
83	B 3	BC	L	4	N	C	L	I	L	M	G	B	C	N
83	B 4	BC	R	6	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
83	B 5	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	C	N
83	B 8	BC	R	6	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
83	B 9	BC	R	1,2	A	I	P	I	L	P	B	O	A	N
83	B 10	BC	R	5	N	I	P	I	L	P	G	O	B	N
83	C 1	BC	L	3	AL	C	L	I	L	M	E	B	B	N
83	C 2	BC	L	2	N	C	L	I	L	M	B	B	B	N

Continua...

Continua...															
83	C	3	BC	L	2	N	C	C	I	L	M	B	B	B	N
83	C	4	BC	L	2	N	C	C	I	L	M	B	B	C	N
84	A	1	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	B	N
84	A	2	BC	L	4	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
84	A	3	BC	R	6	A	I	L	O	L	A	G	TP	A	N
84	A	4	BC	L	3	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
84	A	5	BC	L	3,5	N	I	L	O	L	M	G	B	C	N
84	A	6	BC	R	5	A	I	P	O	L	M	A	TL	A	N
84	A	8	BC	L	2,5	A	C	P	I	L	M	G	TP	C	N
84	A	9	BC	R	4	A	I	P	I	L	M	B	B	A	N
84	A	10	BC	R	4	A	I	P	I	L	M	B	B	A	N
84	B	1	BC	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
84	B	2	BC	R	3	AL	C	L	I	L	P	S	B	C	N
84	B	11	BC	R	3	A	I	P	O	L	P	A	B	A	S
84	B	12	BC	R	8	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
84	C	1	BC	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
84	C	2	BC	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	A	O	B	N
84	C	3	BC	L	<1	A	C	P	I	L	P	B	B	A	N
84	C	6	BC	ML	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
85	B	1	BC	R	2,5	N	I	P	I	L	P	A	O	B	S
86	A	2	BC	L	4	N	I	P	I	L	M	G	TP	C	N
86	A	4	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
86	A	5	BC	R	9	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
86	A	6	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	N
86	C	1	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
Continua...															

Continua...

86	C	2	BC	L	SC	A	I	P	O	L	M	A	TL	I	N
86	C	3	BC	R	SC	A	I	L	O	L	A	G	TP	A	N
86	C	4	BC	R	2	A	I	P	O	R	M	A	TL	A	N
86	C	5	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	B	A	S
86	C	6	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	B	A	S
86	C	7	BC	R	3	N	C	L	I	L	P	G	O	A	N
86	C	8	BC	L	3,5	AL	I	L	O	L	M	A	TL	B	N
86	C	9	BC	R	2	N	C	P	I	R	P	S	O	A	N
86	C	10	BC	L	3,5	AL	I	L	O	L	M	A	TL	B	N
87	A	B	1	BC	R	3	A	C	L	I	L	P	A	B	N
87	A	B	2	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	N
87	A	1	BC	L	5	N	I	P	I	L	M	G	TL	C	N
87	A	2	BC	L	SC	N	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
87	A	3	BC	L	5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
87	A	6	BC	L	5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
87	A	10	BC	L	5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
87	B	1	BC	L	5	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
87	B	2	BC	L	<1	AL	C	P	L	R	E	G	B	A	N
87	B	3	BC	L	5	N	I	L	I	L	M	G	B	C	N
87	B	5	BC	L	4,5	N	I	P	O	L	M	A	TP	C	N
87	B	6	BC	R	<1	A	C	P	I	L	E	S	O	A	N
87	B	7	BC	I	SC	N	I	L	O	L	A	G	TL	C	N
87	B	8	BC	L	2,5	N	C	L	I	L	M	E	B	C	N
87	B	9	BC	L	5	N	I	P	I	L	M	G	TL	C	N
87	B	10	BC	L	5	N	I	P	I	L	M	G	TL	C	N

Continua...

Continua...

87	C	1	BC	R	1,2	A	I	L	I	L	P	A	O	B	N
87	C	2	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
87	c	4	BC	R	3	A	I	P	O	L	A	A	TL	I	N
87	C	6	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	A	TL	I	N
87	C	7	BC	R	1,5	A	I	P	O	L	P	A	O	B	N
87	C	8	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	B	TL	I	N
87	C	9	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	B	TL	I	N
87	C	10	BC	R	SC	A	I	P	O	L	A	B	TL	I	N
87	C	5A	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
87	C	5B	BC	R	1,2	A	I	L	I	L	P	A	O	B	N
89	A	1	BC	R	SC	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
89	A	2	BC	R	SC	A	I	L	O	L	M	G	TL	A	N
89	A	3	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	B	N
89	A	4	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	B	N
89	A	5	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	O	B	N
89	A	6	BC	R	1,2	A	C	P	I	L	M	B	B	A	N
89	A	7	BC	R	8	A	I	L	I	L	M	B	TL	A	N
89	A	8	BC	R	1,2	A	I	P	I	L	M	B	TL	C	N
89	A	9	BC	R	1,2	A	I	P	I	L	M	B	TL	C	N
89	A	10	BC	R	<1	A	C	P	I	L	E	B	O	A	N
89	B	1	BC	R	SC	A	I	L	I	L	P	A	B	C	N
89	B	2	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	B	N
89	B	3	BC	R	4	N	C	L	I	L	M	A	TL	I	N
89	B	4A	BC	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
89	B	4B	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	O	B	N

Continua...

Continua...

89	B	7	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	O	B	N
89	B	8	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	A	O	B	N
89	B	10	BC	L	1,2	AL	C	P	I	L	P	G	TL	C	N
89	C	1	BC	R	3	A	C	L	I	R	M	G	B	A	S
89	C	2	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	B	N
89	C	3	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	G	B	B	N
89	C	5	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	I	N
89	C	6	BC	R	4	A	I	C	I	L	A	G	TL	I	N
89	C	7	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	I	N
89	c	8	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
89	c	9	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
91	C	1	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
92	A	4	BC	R	10	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
92	A	5	BC	R	2	N	I	P	O	L	P	A	O	B	N
92	A	6	BC	R	2	N	I	P	O	L	P	A	O	B	N
92	A	7	BC	R	1,2	A	I	L	I	L	M	A	TL	A	N
92	A	1A	BC	R	2,5	N	I	L	O	L	P	A	O	B	N
92	A	1B	BC	R	1,2	N	C	P	O	L	E	S	O	B	S
92	A	3a	BC	R	SC	A	I	L	O	L	P	A	O	A	N
92	A	3b	BC	R	2	N	I	L	O	L	P	A	O	B	N
92	A	8A	BC	R	2,5	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
92	A	8B	BC	R	1,2	N	I	P	O	L	P	A	O	B	N
92	B	1	BC	R	3	N	I	P	O	L	M	A	O	B	N
92	B	2	BC	I	4	A	C	P	I	L	M	A	O	B	S
92	B	2	BC	R	4	A	I	P	O	L	P	A	B	A	N

Continua...

Continua...

92	B	3	BC	R	4	A	I	P	O	L	P	A	O	B	N
92	B	4	BC	R	4	N	I	P	O	L	M	A	TL	B	N
92	B	5	BC	R	1,5	N	I	P	O	L	P	A	TL	B	N
92	B	6	BC	R	1,5	N	I	P	O	L	P	A	TL	B	N
92	B	7	BC	R	4	AL	I	P	O	L	M	A	TL	B	N
92	B	8	BC	R	1,5	N	I	P	O	L	P	A	B	B	N
92	b	9	BC	R	1,2	A	I	P	I	L	P	B	O	A	N
92	B	10	BC	R	1,5	N	I	P	O	L	P	A	O	B	N
92	C	1	BC	R	SC	A	I	P	O	L	M	A	TL	I	N
92	C	3	BC	L	SC	N	I	P	O	L	A	E	TL	I	N
92	C	4	BC	I	SC	N	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
92	C	6	BC	R	5	A	I	L	I	L	P	G	O	A	N
92	C	8	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	B	B	A	N
92	C	9	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
93	A	4	BC	R	5	A	I	L	I	L	M	G	B	A	N
93	A	5	BC	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
93	A	6	BC	R	7	A	I	P	O	L	M	G	TL	A	N
93	A	9	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
93	B	1	BC	R	3	N	I	L	I	L	P	B	O	B	N
93	C	1	BC	L	<1	AL	C	L	I	L	P	B	TL	C	N
93	C	2	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
93	C	4	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
93	C	5	BC	R	1,3	A	C	P	I	L	P	B	O	B	S
93	C	6	BC	I	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TP	I	N
93	C	9	BC	I	<2	AL	C	P	I	L	E	A	TP	I	N

Continua...

Continua...															
93	C	9	BC	I	<2	AL	C	P	I	L	E	A	TP	I	N
94	A	3	BC	R	7	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
94	A	4	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
94	A	5	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
94	A	6	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
94	A	7	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	B	TL	A	N
94	A	8	BC	R	6	A	C	L	I	L	A	A	B	A	N
94	A	10	BC	R	2	A	I	P	O	L	M	A	TL	I	N
94	B	1	BC	R	4	A	C	C	I	L	M	B	B	A	S
94	B	2	BC	R	<1	N	C	P	I	L	E	B	TL	A	N
94	B	3	BC	R	6	A	C	C	I	L	M	G	TP	I	N
94	B	4	BC	R	6	A	C	C	I	L	M	G	TP	A	S
94	B	5	BC	R	1,2	N	C	L	I	L	P	G	B	C	N
94	B	6	BC	L	3,5	N	I	L	O	L	A	G	B	C	N
94	B	7	BC	L	3,5	N	I	L	O	L	A	G	B	C	N
94	B	8	BC	L	3,5	N	I	L	O	L	A	G	B	C	N
94	B	9	BC	I	1,5	N	C	L	I	L	P	G	B	B	N
94	B	10	BC	L	3	N	I	P	O	L	M	A	TP	C	N
94	B	11	BC	I	3	A	C	C	I	L	M	G	B	A	N
94	C	1	BC	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
94	C	3	BC	R	4	A	C	C	I	L	A	G	B	A	N
94	C	4	BC	I	1,2	N	C	C	I	L	M	B	B	A	N
94	C	5	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
94	C	6	BC	L	<1	A	C	P	I	L	E	G	TL	A	N
94	C	7	BC	R	3,5	A	C	L	I	L	M	B	B	A	N
Continua...															

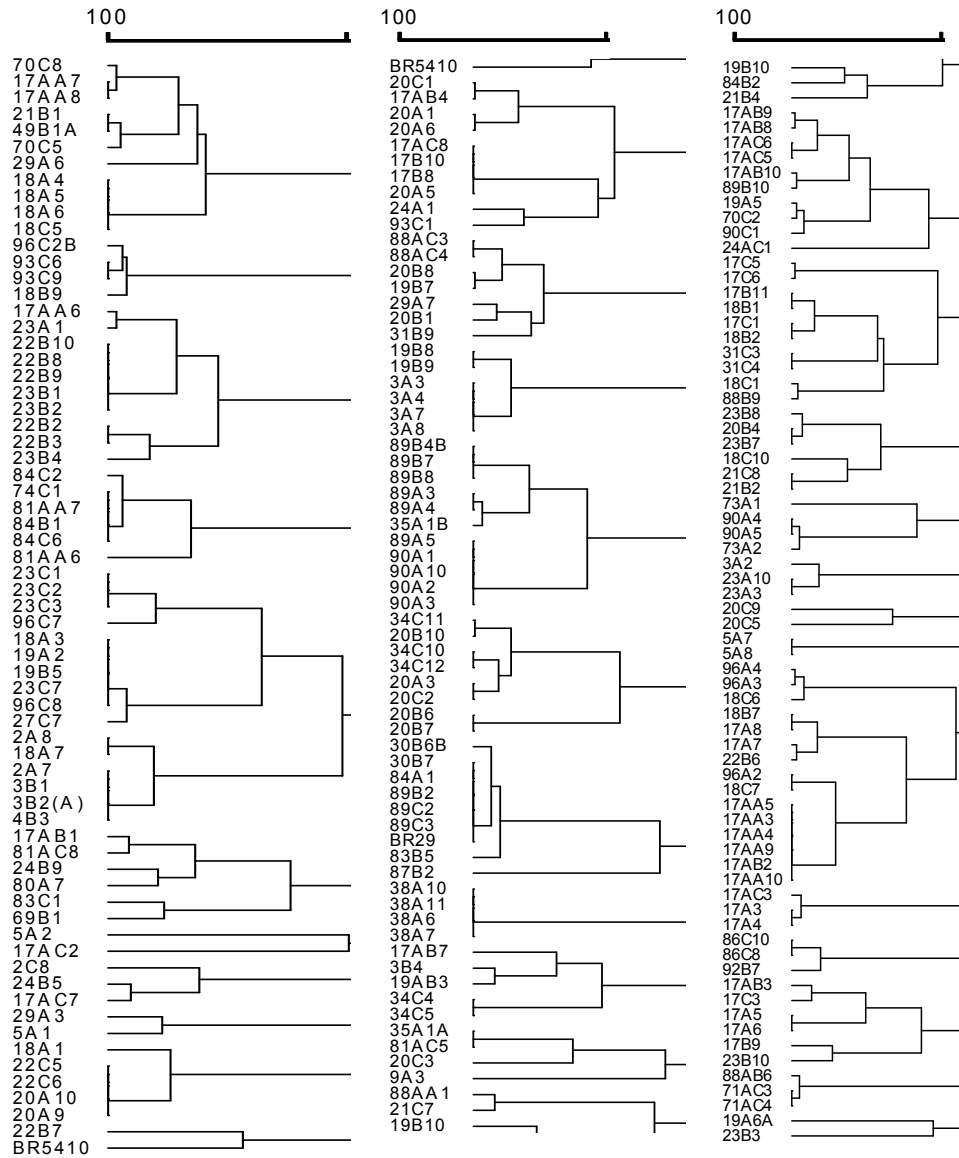
Continua...															
94	C	8	BC	L	1,5	N	C	C	I	L	M	B	B	C	N
95	A	1	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
95	A	2	BC	R	1,2	A	I	L	I	L	P	A	O	A	N
95	A	3	BC	R	4,5	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	S
95	A	4	BC	R	4,5	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	S
95	A	5	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	S
95	A	6	BC	R	5	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
95	A	7	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	B	TL	A	S
95	A	8	BC	R	5	A	C	L	I	L	M	B	B	A	N
95	A	9	BC	R	2	N	I	P	O	L	M	A	O	B	S
95	A	10A	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
95	A	10B	BC	R	7	A	C	C	I	L	A	G	TL	A	N
95	B	1	BC	I	3	N	I	L	O	L	P	G	TL	I	N
95	B	2	BC	R	3	A	I	P	O	L	P	A	B	C	N
95	B	3	BC	L	3	N	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
95	B	4	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	TP	A	S
95	B	5	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
95	B	6	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
95	B	8	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	TP	A	S
95	B	9	BC	L	2,5	N	I	P	O	L	M	A	TL	C	N
95	B	10	BC	L	3,5	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
95	C	2 b	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	TP	C	N
95	C	1	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	B	TP	A	S
95	C	2a	BC	R	4	N	I	P	I	L	P	A	O	B	N
95	C	3	BC	R	2,5	A	I	P	O	L	P	A	O	B	S
Continua...															

Continua...

95	C	4	BC	R	5	A	I	P	I	L	M	G	TL	A	N
95	C	5	BC	L	2	N	I	L	I	L	M	G	TL	C	N
95	C	6	BC	R	<1	A	I	L	I	L	M	G	TL	A	N
95	C	8	BC	R	4	A	C	C	I	L	M	G	TP	I	S
95	C	9	BC	R	3	A	C	C	I	L	M	G	TP	I	S
95	C	10	BC	R	2	A	I	L	I	L	A	A	TL	B	N
96	A	2	BC	L	3,5	AL	I	P	O	L	M	G	TL	C	N
96	A	3	BC	L	3,5	AL	I	P	O	L	M	E	TL	C	N
96	A	4	BC	L	6	AL	I	P	O	L	M	E	TL	B	N
96	A	5	BC	R	8	N	I	P	O	L	A	A	TL	I	N
96	C	1	BC	R	6	A	C	C	I	L	A	B	B	A	N
96	C	2a	BC	I	2	N	C	P	I	L	E	A	O	B	S
96	C	2b	BC	I	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
96	C	3	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	A	TL	C	N
96	C	4	BC	R	4	A	C	C	I	L	M	G	B	B	N
96	C	7	BC	L	<1	AL	C	P	I	L	E	B	TL	I	N
96	C	8	BC	R	<1	AL	C	P	I	L	E	A	TL	I	N
96	C	9	BC	L	4	N	I	L	O	L	M	G	TL	C	N
96	C	10	BC	L	1,2	N	C	P	I	L	P	A	TL	C	N

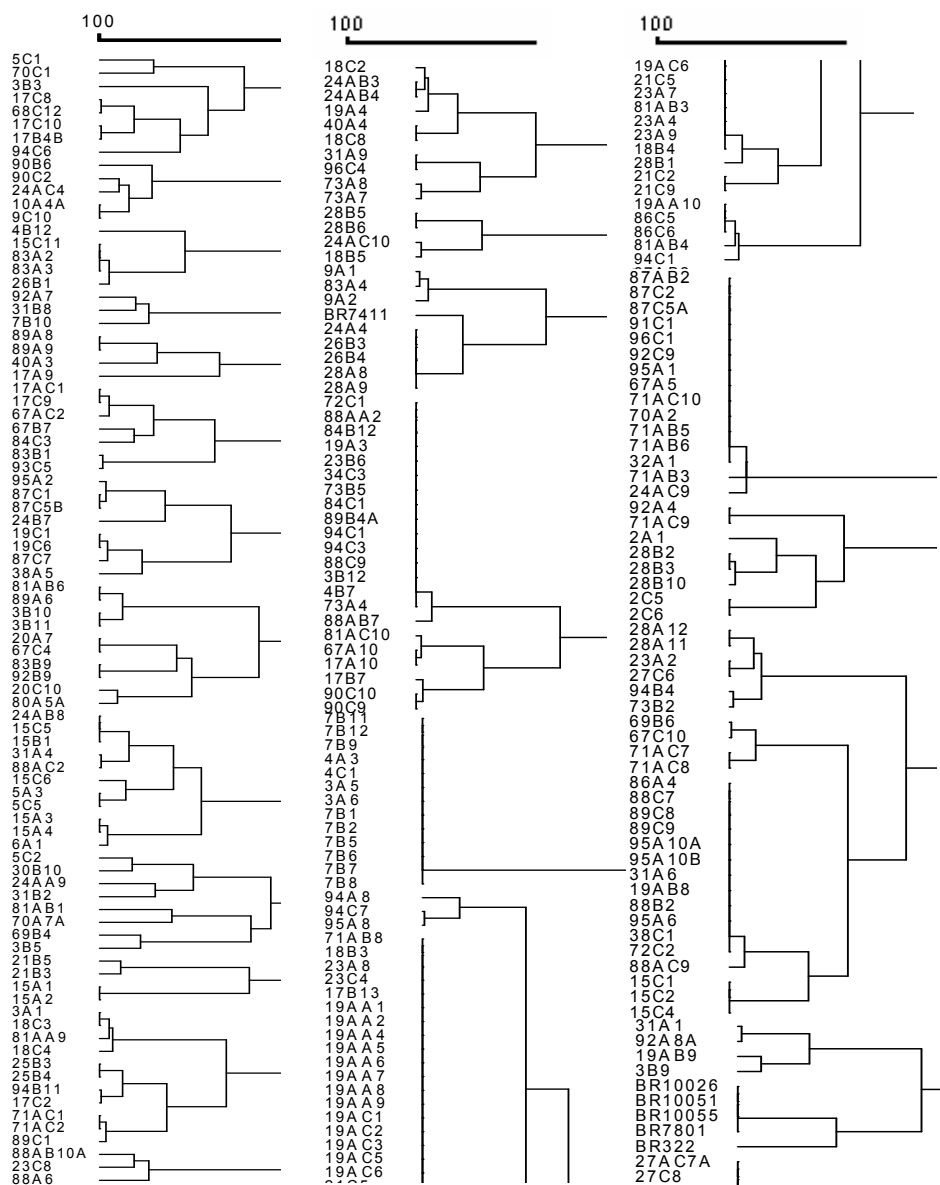
Significado das letras e palavras utilizadas nas tabelas A, B, C, D, E e F: Jan.: Janela (GII, Guanabara II; NA, Nova Aliança; BC, Benjamim Constant). Tempo: dias para o aparecimento de colônias isoladas: R: rápido, L: lento, I: intermediário, ML muito lento. Dia., diâmetro médio das colônias isoladas: SC: sem colônias isoladas. pH: modificação do pH do meio de cultivo: N: neutro, AL: alcalino, A: ácido, MAL: muito alcalino. Forma das colônias isoladas: C: circular, I: irregular. Ele.: elevação das colônias: C: convexo, L: lente, P: plano, U: umbonada. Bordo: I: inteiro, O: ondulado, L: lobado. Superfície: L: liso, R: rugosa, P: papilado. Muco: A: abundante, M: moderado, P: pouco, E: escasso. Consistência: B: butírica, G: gomosa, A: aquosa, E: elástica, S: seca, D.opt.: detalhes ópticos: B: brilhante, TP: transparente, TL: translúcido, O: opaco. Cor: A: amarelo, C: creme, B: branco, I: incolor, R: rosa.

ANEXO 3A (Dendrograma cultural)



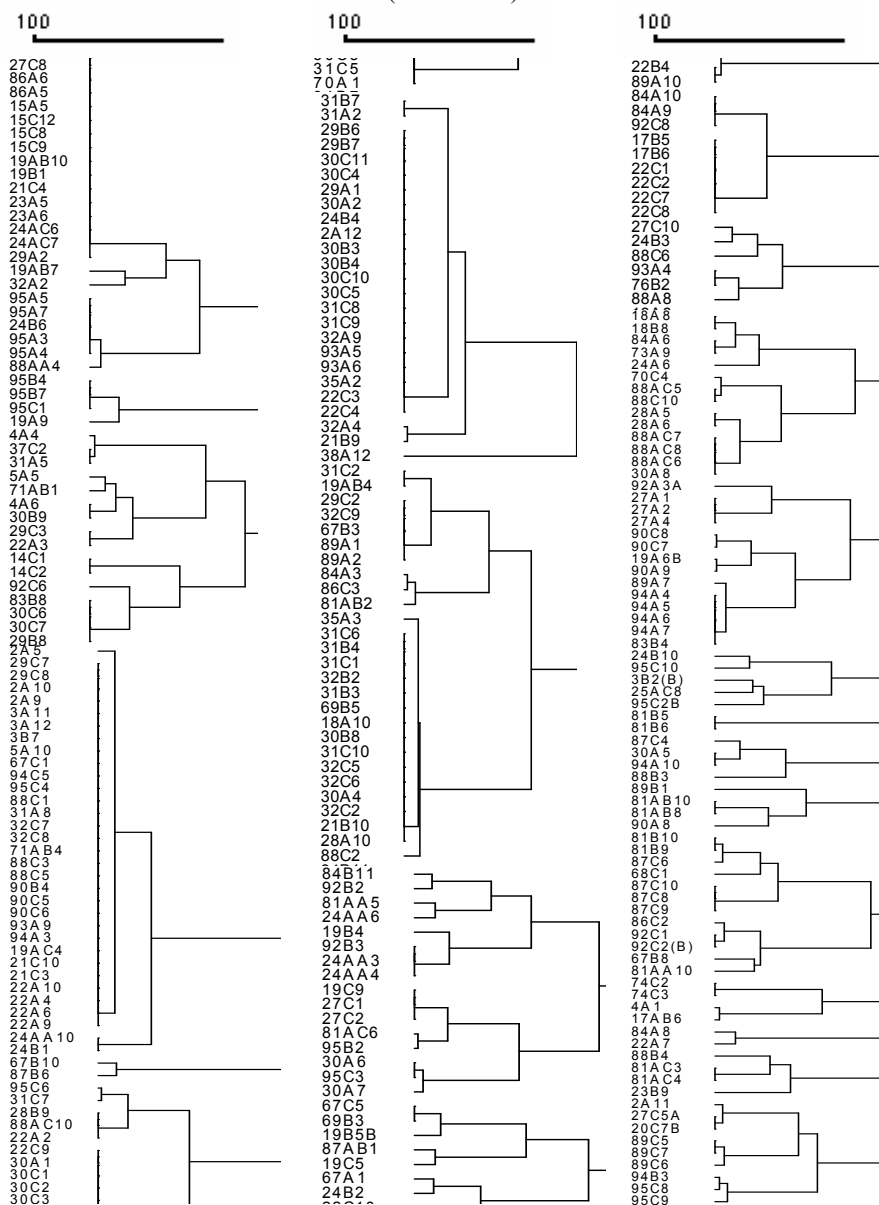
A) Dendrograma com grupos culturais a 87,5% de similaridade, construído com todos os isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas dos

diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões que apresentaram a modificação do pH do meio de cultivo caracterizada como alcalina.



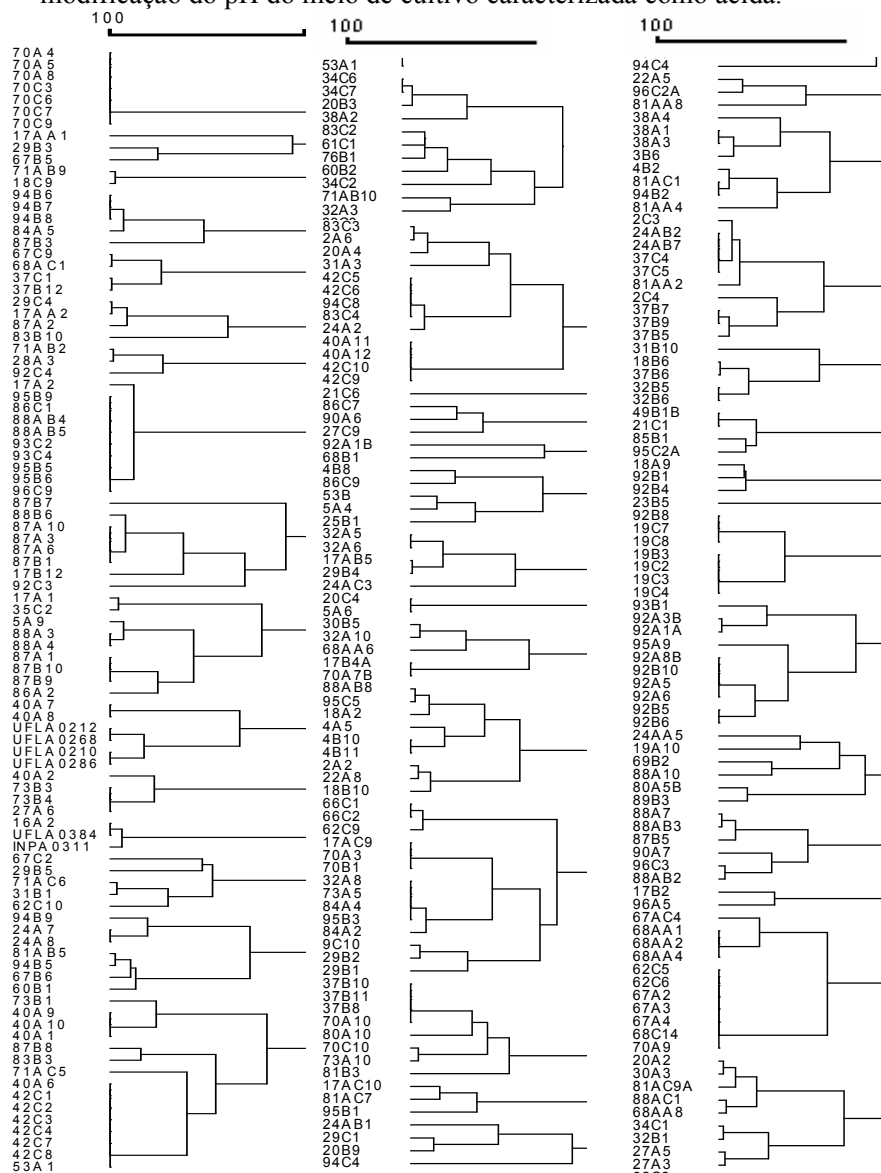
B) Dendrograma com grupos culturais a 87,5% de similaridade, construído com todos os isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas dos diferentes sistemas de

uso da terra no Alto Rio Solimões que apresentaram a modificação do pH do meio de cultivo caracterizada como ácida. (Continua...)



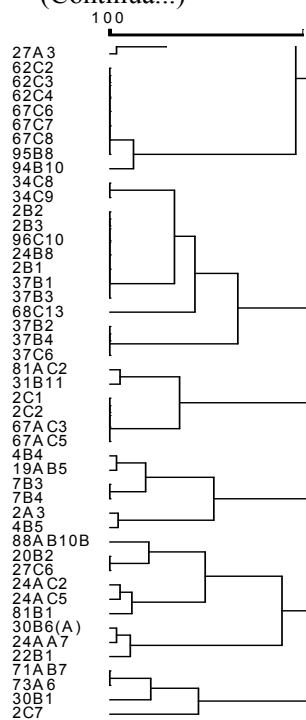
C) Dendrograma com grupos culturais a 87,5% de similaridade, construído com todos os isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas dos

diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões que apresentaram a modificação do pH do meio de cultivo caracterizada como ácida.



D) Dendrograma com grupos culturais a 87,5% de similaridade, construído com todos os isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas dos diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões que apresentaram a

modificação do pH do meio de cultivo caracterizada como alcalina.
(Continua...)



D) Dendrograma com grupos culturais a 87,5% de similaridade, construído com todos os isolados de bactérias que nodulam leguminosas isoladas dos diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões que apresentaram a modificação do pH do meio de cultivo caracterizada como alcalina.