

Avaliação do estado microbiológico do solo em área preservada e impactada por mineração no semiárido de Pernambuco

Microbiological status of the soil evaluation preserved and impacted by mining area in Pernambuco semiarid

Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão^{1(*)}

Maria Luiza Ribeiro Bastos da Silva²

Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra³

Resumo

A mineração remove a camada orgânica do solo, causando grave impacto ambiental nas populações microbianas (bactérias e fungos) e nos fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Análises microbiológicas constituem ferramentas importantes no monitoramento da poluição do solo. Da mesma forma que, a utilização de técnicas moleculares pode ser útil para esclarecer a identidade e variabilidade de FMA em ambientes nativos e degradados. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o estado biológico de solos e determinar a ocorrência de FMA em áreas nativa e impactada por mineração de gesso. Coletas de solo foram realizadas em 4 áreas: 1- nativa (AN); 2 – arredores da mina (AM); 3 – rejeito (AR); 4 – interface entre a área de rejeito e a área degradada (AI) em dois períodos de coleta: chuvoso e seco. No estudo molecular foram identificadas algumas espécies de FMA, que mostram capacidade para tolerar as condições de estresse da área minerada. Em geral, os valores do número mais provável de propágulos (NMP) de fungos, bactérias e actinomicetos foram maiores em área nativa quando comparada com as áreas impactadas. A atividade mineradora produziu impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o NMP de micro-organismos.

Palavras-chave: micro-organismos; bactérias; fungos; micorrizas.

Abstract

Mining removes the organic soil layer, causing severe environmental impact on microbial populations (bacteria and fungi) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Microbiological analysis are important tools for monitoring of soil pollution. In the same way, the use of molecular techniques can be useful to clarify the identity and variability in native AMF and degraded environments. The objective of this study was to evaluate and compare the biological state of soil and determine the occurrence of AMF in areas of native and impacted by mining gypsum. Soil samples were taken in four areas: 1- native (AN); 2 – surroundings of the mine (AM); 3 - reject (AR); 4 - interface between the area of tailings and degraded area (AI) in two collection periods: rainy and dry. In molecular study identified some species of AMF, which show ability to tolerate stress

1 Dra. em Ciências Biológicas, Laboratório de Genômica e Biologia do Solo; Endereço: Avenida General San Martin, 1371, Bongi, CEP: 50761000 - Recife, PE - Brasil; E-mail: adaliam43@gmail.com; (*) Autor para correspondência

2 Dra. em Ciências Biológicas, Laboratório de Biotecnologia; Endereço: Av. General San Martin, 1371, Bonji, Recife - PE, CEP: 50761000 - Recife, PE - Brasil; E-mail: maria.luiza@ipa.br maria.catanho@ipa.br

3 Dra. em Biologia Molecular e Celular, Laboratório de Genoma. Endereço: Av. General San Martin, 1371, Bonji, Recife - PE, CEP: 50761000 - Recife, PE - Brasil; E-mail:

conditions of the mined area. In general, the values of the most probable number of propagules (MNP) fungi, bacteria and actinomycetes were higher in the native area when compared with the affected areas. The mining activity produced a negative impact on soil microbiota, reducing the MNP of microorganisms.

Key words: microorganisms; bacteria; fungi; mycorrhizae.

Introdução

Os micro-organismos representam a forma de vida mais abundante no planeta em nível de diversidade de espécies e biomassas (WHITMAN et al., 1998; FELLER; GERDAY, 2003; MARGESIN; MITEVA, 2011). A organização e funcionamento dessas comunidades é que governam as transformações bioquímicas que ocorrem no solo, sendo a microbiota do solo responsável não somente pela formação de húmus e ciclagem de nutrientes, mas pela definição da estrutura física e de muitas outras funções, a vida do solo e os seus processos vitais são expressos e regulados por essa microbiota (ZHANG et al., 2011; LISBOA et al., 2013). Assim sendo, pode-se justificar a essencialidade do conhecimento sobre a organização dessas comunidades o seu funcionamento para o completo entendimento do sistema solo (LYNCH; BRAGG, 1985; CARDOSO; ANDREOTE, 2016). A regulação sobre a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, degradação de poluentes químicos e a sua forte influência sobre a estrutura do solo, faz com que os micro-organismos e os processos aos quais estão ligados sejam naturalmente escolhidos como indicadores da saúde ou qualidade do solo (KENNEDY, 1998; CAMARA et al., 2012; BARTZ et al. 2013). Análises microbiológicas constituem ferramentas importantes no monitoramento da poluição do solo, e tem sido amplamente discutida na literatura como indicadores de qualidade dado o relacionamento entre atividade e diversidade microbiana, vegetação e sustentabilidade dos ecossistemas (LISBOA et al., 2013; BUENO et al., 2018). Com esta abordagem, é possível avaliar a alteração do solo sem a necessidade de recorrer a longos e dispendiosos experimentos de campo (BROOKES, 1995; CUNHA; LEITE, 2000). A contagem de bactérias e fungos é uma destas medidas e pode ser obtida diretamente por microscopia ou estimada por métodos indiretos. Neste último caso, é necessário que os propágulos existentes na amostra sejam capazes de formar colônias. Em todos os procedimentos de isolamento, os micro-organismos são coletados em condições naturais e colocados em condições artificiais (JAHNEL et al., 1999; SAGGIN JÚNIOR et al., 2011).

O plaqueamento de diluições de solo (por exemplo, sobre agar-nutriente) pode ser usado para a enumeração de bactérias e fungos. Para este último, o uso deste método reflete o número de fragmentos fúngicos ou “unidades de propágulos”, que incluem esporos individuais e fragmentos de micélio, ou seja, é um método que estima o número total de propágulos fúngicos no solo (WARDLE, 1994; VIEIRA; FERNANDES, 2012). De maneira geral, os processos de contagem indireta proporcionam condições de crescimento para bactérias zimógenas, ou seja, bactérias que apresentam metabolismo rápido quando na presença de matéria orgânica facilmente decomponível. Entretanto, pequenas alterações nas condições físico-químicas do solo afetam imediatamente os micro-organismos zimógenos (JAHNEL et al., 1999). A contagem de unidades formadoras de colônias é feita a partir de uma suspensão de solo por meio de diluições em série, e cada diluição é transferida para o meio de cultura. No método do número mais provável (NMP), o crescimento em placas com meio de cultura mostra que pelo menos um propágulo

com condições de crescimento foi transferido (BRANDÃO et al., 2012; SUSZEK, et al., 2012). Apesar de seletivo, o método de estimativa de unidades formadoras de colônias pelo número mais provável tem sido um instrumento bastante útil no estudo de micro-organismos do solo (JAHNEL et al., 1999; BRANDÃO et al., 2012). Ainda segundo Jahnel et al. (1999), o NMP de fungos e bactérias do solo foi realizado pelo método de plaqueamento por gotas e comparado com o procedimento convencional de contagem de micro-organismos do solo em amostras de solo de diferentes texturas. Os autores observaram que o método de quantificação de bactérias e fungos em amostras de solo por plaqueamento de gotas proporcionou a obtenção de resultados semelhantes àqueles obtidos pelo procedimento tradicional, porém, com a vantagem de economia de reagentes e trabalho.

Métodos para estimar a atividade microbiana em solos da região semiárida são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas (PEREIRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2012). Estudos sobre o impacto de alterações ambientais nas populações microbianas e suas atividades têm sido referidos utilizando parâmetros como: número total de micro-organismos do solo (bactérias e fungos). Segundo Silveira et al. (2004), os micro-organismos (bactérias e fungos) foram considerados bons indicadores da recuperação de solo das áreas degradadas, que está fortemente limitada por parâmetros microbiológicos e bioquímicos do solo. Bueno et al. (2018), em seu trabalho sobre indicadores microbiológicos de qualidade do solo em áreas com e sem degradação, verificaram que os micro-organismos podem indicar o estágio de recuperação em áreas degradadas e servem de parâmetro para manejo de solo. Segundo Cardoso et al. (2009), quanto mais bactérias e fungos estão presentes no solo, mais saudável e fértil é o solo.

A importância de aplicação dos micro-organismos não está relacionada unicamente ao aumento na densidade microbiológica desses micro-organismos, beneficiando somente o aumento restrito dos fungos e bactérias no solo, mas também é de extrema importância para o aumento da diversidade microbiológica, pois certos micro-organismos tem a capacidade de auxiliar na colonização de outros micro-organismos, que também contribuem para o crescimento vegetal (CUNHA et al., 2012).

Os micro-organismos estão diretamente envolvidos nos ciclos dos nutrientes no solo e aliada à quantificação de bactérias e fungos totais, a avaliação de determinados grupos microbianos dá indicação de como os processos bioquímicos estão ocorrendo. Segundo Brookes (1995), a contagem de micro-organismos no solo, apesar de ser vista com ressalvas, ajuda a entender os processos que nele ocorrem e pode servir como indicador do impacto de diferentes atividades antrópicas. As bactérias e os fungos são responsáveis por cerca de 90% da atividade da biomassa microbiana (SIQUEIRA et al., 1994; SUSZEK et al., 2012). As bactérias do solo apresentam maior abundância e diversidade entre as espécies, encontradas no solo, com cerca de 10^3 a 10^9 organismos por grama de solo. Os fungos, principais contribuintes em peso para a biomassa microbiana do solo, são encontrados com comunidades variando de 10^4 a 10^6 organismos por grama de solo e podem ser responsabilizados por aproximadamente 70% da matéria seca (BRANDÃO et al., 2012; SUSZEK et al., 2012). Silveira et al. (2006) verificaram que atividades antrópicas exercidas em área localizada em Itajubá-MG tiveram forte impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o número de bactérias, fungos, atividade e biomassa microbiana. Silva et al. (2005) verificaram que o impacto produzido pela mineração de cobre reduziu a comunidade de FMA, dependendo do nível de perturbação, a redução da diversidade vegetal, o alto pH e a quantidade de metais no solo, possivelmente foram os fatores de impacto mais importantes. Os micro-organismos (fungos,

bactérias e FMA) são essenciais para o estabelecimento, desenvolvimento e manutenção dos ecossistemas e para recuperação daqueles severamente perturbados. Eles estão presentes tanto no solo como na rizosfera, onde realizam atividades metabólicas relevantes para o crescimento das plantas. A atividade de mineração exerce impacto sobre os organismos e processos do solo, trabalhos sobre esse tema são escassos, justificando desta forma, pesquisas nessa área.

A mineração de gipsita envolve a retirada da cobertura vegetal e da camada orgânica do solo causando grave impacto ambiental, com efeitos negativos sobre os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), importantes constituintes da microbiota do solo (MELLONI et al., 2003; SIQUEIRA et al., 2007; COLODETE et al., 2014). Os FMA apresentam potencial biotecnológico na agricultura e sua utilização na recuperação de áreas degradadas é fundamental (SOUZA; SILVA, 1996; SILVA et al., 2005; CAVALCANTE et al., 2009; COLODETE et al., 2014). Esses fungos mostram uma enorme variabilidade e adaptação aos mais diferentes solos e plantas do planeta, apresentando uma biodiversidade praticamente desconhecida (SAGGIN JÚNIOR et al., 2011). Devido à importância ecológica e econômica dos FMA, é imprescindível a distinção entre as espécies para aplicabilidade do seu potencial na agricultura. A utilização de técnicas moleculares pode ser útil para esclarecer a identidade e variabilidade de FMA em ambientes nativos e degradados.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o estado biológico de solos e determinar a ocorrência de FMA em áreas de caatinga nativa preservada e impactada por mineração de gesso nos períodos de amostragem chuvoso e seco.

Material e Métodos

Áreas de estudo

Foram selecionadas áreas de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita no município de Araripina, Pernambuco (7° 29' 00" S, 40° 36' 00" W). Na região, a vegetação que predomina é a caatinga hiperxerófila, sobre solo do tipo Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (CAVALCANTI; LOPES, 1994). O município de Araripina-PE localiza-se na Mesorregião do Sertão e Microrregião Araripina. Limita-se ao norte com o Estado do Ceará, ao sul com Ouricuri, a leste com Ipubi e Trindade, e a oeste com Estado do Piauí, e compreende uma área de 1.906,3 km² e uma altitude de 622 m (BELTRÃO et al., 2005). Com um clima do tipo Tropical Semiárido Mesotérmico, segundo a classificação de Köppen do tipo BSh (semiárido e quente), e é caracterizado por altas temperaturas e chuvas de verão (SILVA et al., 2018). A precipitação média anual é de 674 mm, com período chuvoso iniciando em novembro e término em abril, e período seco de maio a outubro. A temperatura ao longo do ano varia com máximas de 30 a 34 °C e mínimas de 19 a 23 °C (ARRUDA; BARRETO, 2015).

Coletas

Foram realizadas coletas em quatro áreas da mineradora: 1 - caatinga nativa preservada (AN), considerada como controle; 2 - arredores da mina (AM); 3 - rejeito (AR); 4 - interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração (AI) - (Esta área apresentava uma quantidade razoável de vegetação, porém em alguns locais, o solo continha resquícios de pó de gesso originado da mineração) em dois períodos de amostragem: chuvoso com temperatura

mensal entre 34,0 °C (Máx.) e 17,6 °C (Min.), umidade relativa de 22,2% (Min.) e precipitação de 28,7 mm (Média); e seco com temperatura mensal entre 33,2 °C (Máx.) e 17,3 °C (Min.), umidade relativa de 22,4% e precipitação de 1,3 mm (Média) (Fonte: Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA/Araripina-PE). Para a coleta foi definida como parâmetro uma área de 1.000 m², sendo o solo coletado preferencialmente na rizosfera de plantas de forma aleatória, a cada 10 m em zig-zag, dez amostras, compostas de três subamostras de solo, tiradas com ajuda de um trado (5 - 20 cm de profundidade). Após a coleta, todo solo foi acondicionado sob refrigeração. Amostras de solos de cada área estudada, foram enviadas para os laboratórios de química e física do solo do IPA, as análises físicas, químicas e de fertilidade foram realizadas segundo a metodologia da EMBRAPA (1997). O solo das áreas apresentou as seguintes características químicas: pH das áreas AN e AI com 6.4 e 5.7 respectivamente (pH ácido), enquanto as áreas AM e AR com 7.6 e 7.5 respectivamente (pH alcalino). O Ca das áreas variou de 5.9 a 68 cmolc.dm³ de solo; o Mg com 1.15 a 11.25 cmolc.dm³ de solo; o K com 0.19 a 0.62 cmolc.dm³ de solo; o P variando de 5 a 161 mg.dm³; o C variando de 0.65 a 1.34 g.kg⁻¹ e o percentual de MO variando de 1.12 a 2.31, etc. (Tabela 1).

Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Micro-organismos do Solo

Em cada área, foram retiradas 10 amostras de solo, que foram compostas de três subamostras, utilizadas para as análises do NMP. O NMP de bactéria, actinomicetos e fungos do solo foram determinados pelo método do plaqueamento por gotas, após diluição de amostras de solo em meios de cultura mantidos a 45 °C, conforme Jahnel et al. (1999). Foram preparadas diluições para bactérias a partir de 10⁻³ a 10⁻⁷ e para actinomicetos e fungos a partir de 10⁻² a 10⁻⁶. Os meios utilizados foram: agar nutrientes para bactérias e actinomicetos e meio Martin para fungos totais. Utilizou-se 3 placas (cada com 5 gotas) por diluição, as placas com os meios inoculados foram incubadas em estufa a 28 °C e avaliadas aos três dias para bactérias e aos sete dias para os fungos. A presença de unidades formadoras de colônias (UFC) foi verificada com o auxílio de estereomicroscópio. O crescimento em uma gota indica a presença de pelo menos um propágulo viável transferido para o meio de cultura. Estimou-se o NMP de micro-organismos do solo em cada uma das diluições com o auxílio da tabela de probabilidade de ocorrência (COCHRAN, 1950).

O número mais provável (NMP) de micro-organismos do solo (3 repetições/tratamento) foi submetido à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05) usando o programa Sanest (ZONTA et al., 1984). Para análises, os valores do NMP de micro-organismos foram transformados em $\sqrt{(X+0,5)}$.

Extração de esporos e caracterização molecular dos FMA

Para extração dos fungos micorrízicos, utilizou-se três subamostras de cada área estudada. Esporos de FMA foram extraídos do solo (3 repetições/tratamento) por peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON 1963) e centrifugação em água e sacarose a 50% (JENKINS, 1964), e selecionados em microscópio estereoscópico. Para caracterização molecular, o DNA foi extraído a partir de esporos dos FMA segundo a metodologia de Lanfranco et al. (2001) com algumas modificações: referente a quantidade de esporos utilizados de 150 a 200; os ciclos e tempo de sonicação e a quantidade em µL de tampão de reação utilizado. Cerca de 150 a 200

esporos de cada espécie de FMA foram sonicados (3 a 4 ciclos por 30 segundos), quebrados com ajuda de um micropistilo em 50 µL de 1X tampão de reação (LABTRAD do Brasil LTDA) contendo 10 mM Tris-HCl pH 8,3, 50 mM KCl, 1,1 mM MgCl₂, incubados a 95 °C por 15 minutos e centrifugados a 10.000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi estocado a -20 °C. A reação de PCR consistiu em 3 µL (20 ng) de DNA de esporos adicionados ao mix para um volume final de 25 µL, contendo 10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,1 mM MgCl₂, 10 mM de cada dNTP, 25 nmoles de cada primer ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') e ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (WHITE et al., 1990), e 2 unidades de Taq DNA polimerase (Invitrogen do Brasil) e água ultrapura para completar o volume da reação. As reações de amplificação foram efetuadas em termociclador M.J. Research, Inc. (USA) PCR, modelo PTC 100, sob as seguintes condições térmicas: 95 °C por 3 min, 40 ciclos de 95 °C por 45 s, 50 °C por 45 s, 72 °C por 1 min e 72 °C por 5 min. Ao final da reação, o produto foi mantido a -4 °C. Um controle negativo sem DNA foi incluído nas amplificações via PCR. Os fragmentos amplificados e o controle foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, em tampão TBE 1X, e corado com Sybr Gold (Invitrogen do Brasil), visualizados sob luz ultravioleta e fotografados em fotodocumentador sob luz UV. A reação da PCR para o DNA de cada isolado foi realizada 10 vezes nas mesmas condições para obter a reprodutibilidade dos dados. Os produtos obtidos por PCR foram purificados e clonados em vetor T/A pCR2.1 TOPO (Invitrogen do Brasil) de acordo com as instruções do fabricante e foram transformados em células de *Escherichia coli* DH5a. As colônias transformadas foram inoculadas em placas de Petri em meio de cultura LB acrescido de 50 mg/L de Kanamicina. Para extração de DNA plasmidial foi utilizado o método de lise alcalina descrito por Sambrook et al. (1989). As sequências de nucleotídeos foram determinadas em sequenciador automático de DNA (ABI PRISM 377 Applied Biosystems, Foster City, Califórnia), utilizando o kit "Big Dye Terminator" (Applied Biosystems), pelo laboratório de sequenciamento de DNA do CENARGEN/Brasília, Brasil. As sequências obtidas foram comparadas no Banco de Dados Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e RDP (Ribossomal Data Base Project) – Seqmath (<http://rdp.cme.msu.edu/>). As sequências da região ITS foram alinhadas com outras provenientes do NCBI com auxílio do programa ClustalW (THOMPSON et al., 1999) e, em seguida, construída uma árvore filogenética pelo método Neighbor-Joining (SAITOU; NEI, 1987) com MEGA 4 (TAMURA et al., 2004). A confiabilidade da árvore foi mensurada por análise de bootstrap com 1.000 replicações. A classificação adotada segue o Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/>), sendo consultados também Oehl et al. (2011) e Redecker et al. (2013).

Resultados e Discussão

A análise de variância indicou interação entre áreas e períodos de amostragem para o NMP de fungos do solo ($P < 0,0001$). Houve efeito isolado do fator área para o NMP de bactérias ($P < 0,0002$) e de actinomicetos ($P < 0,0001$).

Maior número de propágulos foi registrado na área de caatinga nativa que apresentou um pH mais ácido, em relação às áreas impactadas (Tabelas 2 e 3). Maior ciclagem de matéria orgânica e/ou presença de resíduos orgânicos propiciando maior relação C/N está favorecendo a população e a atividade de micro-organismos nesse ambiente (EIRA, 1992; ARAUJO et al., 2016). Fungos e bactérias exercem um importante papel nas propriedades biológicas de um solo,

já que as bactérias tem alta taxa de crescimento e uma boa capacidade de ciclagem de nutrientes e os fungos predominam em solos mais ácidos com faixas de pH variando de 3,0 a 9,0, dependendo da espécie (ARAÚJO et al., 2016) . Nahas et al. (1994)e Ferreira et al. (2017) verificaram que parâmetros químicos como pH, fósforo disponível e matéria orgânica estimularam a população de bactérias. Por ser a parte mais viva e mais ativa da matéria orgânica do solo e por atuar em importantes processos bioquímicos, estudos mostram que os indicadores biológicos são mais sensíveis que os indicadores químicos e físicos para detectar com antecedência as alterações que ocorrem no solo, em função do seu uso e manejo (STÖCKER et al., 2017). A comunidade microbiana estaria com atividade metabólica reduzida por causa do forte impacto da atividade gesseira, o que contribuiu para elevar os níveis de pH nessas áreas (AM e AR) (Tabela 1). Segundo Insam et al. (1996), solos impactados por ação antrópica estariam sob estresse, havendo menor eficiência de utilização do C, o que resulta em maior liberação de CO₂ por unidade de substrato. Em geral o NMP de fungos, bactérias e de actinomicetos foram maiores no solo de caatinga nativa preservada, possivelmente em virtude do maior fornecimento de matéria orgânica para a ciclagem de nutrientes em relação à área de rejeito. Vários autores verificaram aumento da quantidade de bactérias em áreas mais preservadas e relacionam isso a maior atividade metabólica desses organismos nessas áreas (FIDELIS et al., 2016; FERREIRA et al., 2017; BUENO et al., 2018). Em solos de mata nativa, as perdas de nutrientes são menores em relação aos impactados, em consequência da maior diversidade florística e microbiológica, melhor cobertura do solo durante o ano e maior imobilização no solo (MELLONI et al., 2001). Segundo Bueno et al. (2018), os micro-organismos podem indicar o estágio de recuperação em áreas degradadas e servem de parâmetro para manejo do solo.

Em áreas preservadas e degradadas pela mineração de gesso, Mergulhão et al. (2010) verificaram que nas áreas estudadas, apenas, AN (caatinga nativa preservada, considerada como controle) e AI (interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração) apresentaram uma quantidade de espécies de FMA satisfatória. Já com relação ao número de esporos, foi baixo, quando comparado as demais áreas sob impacto ambiental. Alguns trabalhos relatam o baixo número de esporos em áreas preservadas do semiárido brasileiro (MELO et al., 2012; BORBA; AMORIM, 2007; PEREIRA et al., 2018). As áreas com maior impacto ambiental, apresentaram um número de esporos maior, provavelmente isso está relacionado ao fato que em condições adversas do solo, os fungos micorrízicos esporulam mais como um mecanismo de defesa.

O pH dessas áreas (AN e AI) provavelmente favoreceu o estabelecimento das espécies de FMA nativas da caatinga que normalmente ocorrem em pH mais baixo (AI=5,5 e AN=6,4) (Tabela 1). O nível de fósforo nessas áreas variando de 5 a 14 mg dm⁻³ pode ter contribuído para a presença de FMA, quando comparado nas demais áreas estudadas (AM e AR), dados semelhante foram observados por Teixeira-Rios et al. (2013) em áreas do semiárido impactadas pela mineração de calcário. Souza et al. (2003) verificaram, em área de caatinga, que a maioria das espécies de Glomeraceae e Acaulosporaceae foi registrada em solos com baixo pH (≈ 5,8). Segundo Correia et al. (2004), as características químicas e físicas do solo influenciam a densidade de esporos, a composição de espécies e a distribuição dos FMA.

A região ITS (Espaço Interno Transcrito) foi sequenciada para analisar os grupos de isolados de FMA com elevada afinidade filogenética para que pudessem ser identificados, permitindo assim diferenciar inter e intraespecificamente os isolados oriundos das áreas estudadas. A árvore

Tabela 1 - Características químicas e físicas do solo coletado nos períodos de amostragem (chuvoso e seco) em quatro subáreas da mineradora de gipsita, em Araripina, PE

Subáreas	pH	P		C	Ca	Mg	K	SO4	CO3	HCO3
	H2O	mg.dm ⁻³		g.Kg ⁻¹ cmolc.dm ⁻³ cmeq.L ⁻¹		
Período Chuvoso										
AN	6,28	5		1,16	5,90	1,30	0,43	P	0,20	1,80
AI	5,72	11		1,27	20,0	9,30	0,46	P	0,20	0,80
AM	7,64	54		1,34	40,5	6,25	0,19	FP	0,40	1,60
AR	7,65	42		0,72	68,0	9,75	0,34	FP	0,20	1,20
Período Seco										
AN	6,43	8		1,20	6,2	1,15	0,36	P	0,80	5,60
AI	5,72	14		1,30	36,2	11,25	0,62	FP	0,00	0,80
AM	7,52	161		1,33	45,4	3,10	0,40	FP	0,00	1,60
AR	7,56	32		0,65	61,7	1,65	0,46	FP	0,20	2,40
Subáreas	Análise Textural (%)			MO	Fe	Dap	Dr	UR	PMP	Classe Textural
	Ar	Arg	S	(%)	mg/dm ³ g/cm ³	(%)	15 atm		
Período Chuvoso										
AN	67	8	25	2,00	12,7	1,44	2,50	1,25	4,5	Franco arenoso
AI	26	45	29	2,19	52,5	1,21	2,55	6,90	20,5	Argiloso
AM	22	39	39	2,31	0,9	1,20	2,31	8,65	24,9	Franco argiloso
AR	27	6	67	1,24	0,4	1,28	2,58	7,00	18,1	Franco siltoso
Período Seco										
AN	74	8	18	2,07	13,7	1,34	2,59	0,40	4,7	Franco arenoso
AI	14	59	27	2,24	79,8	1,13	2,44	8,60	30,6	Argiloso
AM	22	47	31	2,29	0,7	1,10	2,36	6,80	26,9	Franco argiloso
AR	37	28	35	1,12	0,2	1,22	2,46	6,55	8,3	Franco siltoso

(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito; (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração. P = Presença. FP = Forte presença. Ar = Areia. Arg = Argila. S = Silte.

filogenética obtida pelo sequenciamento da região ITS1 e ITS4 dos isolados de FMA (Figura 1) apresentou dois agrupamentos bem definidos: clado 1 e clado 2. No clado 1 formaram-se dois subclados: 1A e 1B. O subclado 1A agrupou oito dos 13 isolados estudados, sendo classificados como *Funneliformis mosseae*; seis (AM6, AM7, AM8, AM9, AM10 e AM19) com uma distância genética de 98% e dois (AM20 e AM18) com distância de 99%. Logo após os seis primeiros

Tabela 2 - Número mais provável de propágulos de fungos em amostras de solos de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita, em dois períodos de coleta

ÁREAS ³	PERÍODO CHUVOSO ¹	PERÍODO SECO ¹
	(U.F.C g ⁻¹ solo) ²	
AN	1,2 x 10 ⁵ bA	5,9 x 10 ⁵ aA
AI	0,7 x 10 ⁵ aA	0,0 bB
AM	0,3 x 10 ⁵ aA	0,0 aB
AR	0,5 x 10 ⁵ aA	0,4 x 10 ⁵ aB
CV(%) = 19		

¹Médias seguidas da mesma letra minúscula, na linha, ou maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) (n=3). ²Médias originais, porém para a análise de variância foram transformadas em $\sqrt{(X+0,5)}$. ³(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito e (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração

Tabela 3 - Número mais provável de propágulos de bactérias e actinomicetos em amostras de solos de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita, independentemente do período de coleta

ÁREAS ³	BACTÉRIAS ¹	ACTINOMICETOS ¹
	(U.F.C g ⁻¹ solo) ²	
AN	3,1 x 10 ⁵ a	25,8 x 10 ⁵ a
AI	0,8 x 10 ⁵ b	1,4 x 10 ⁵ b
AM	0,7 x 10 ⁵ b	0,3 x 10 ⁵ b
AR	0,4 x 10 ⁵ b	0,3 x 10 ⁵ b
	CV(%) = 21	CV(%) = 35

¹Médias seguidas da mesma letra, minúscula, na coluna, não difere significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) (n=3). ²Médias originais, porém para a análise de variância foram transformadas em $\sqrt{(X+0,5)}$. ³(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito e (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração.

isolados de *F. mosseae*, intercalou-se o isolado SP304a de *Funneliformis mosseae*, oriundo do Genbank, e na base neste agrupamento ficaram os isolados Att109-28 e GM03f de *F. mosseae*. No subclado 1B, agruparam-se os isolados AM11 e AM15, ambos supostamente *Rhizophagus custos*, com distância genética de 97% e 95%, respectivamente. Neste mesmo subclado apareceram outros isolados como *Rhizophagus custos* (= *Glomus custos*) e *R. intraradices*, que mostraram alta similaridade, com distância genética de 94%. Vale ressaltar que estas sequências foram oriundas do GenBank. O clado 2, com relação ao clado 1, mostrou distância genética de 75% e dentro deste clado foi observada grande variação entre as espécies. Apenas três isolados AM26 (*Glomus hoi*), AM23 (*G. hoi*) e AM25 (*Claroideoglossum claroideum*) foram agrupados neste clado, apresentando a mesma distância genética e incluindo também *Claroideoglossum claroideum* e *Claroideoglossum etunicatum*, provenientes do NCBI. A base da árvore foi composta pelos acessos do banco de dados (NCBI) usado como referência; as espécies agrupadas foram: *Claroideoglossum claroideum*, *Claroideoglossum etunicatum* e *Glomus hoi*, todas do mesmo gênero, mostrando alta similaridade. No presente estudo, quatro espécies de FMA se destacaram por tolerar bem as condições das áreas impactadas pela mineração de gipsita foram elas: *Funneliformis mosseae*, *Glomus custos*, *Glomus hoi* e *Claroideoglossum claroideum* (Figura 1). Silva et al. (2005) também observaram a presença de *Glomus* em áreas degradadas pela mineração de cobre na Bahia. Dados semelhantes ao nosso, foram

observados por Teixeira-Rios et al. (2013), que verificaram também a presença de representantes de Glomeraceae (*Glomus* e *Funneliformis*) e Entrophosporaceae (*Claroideoglomus*) em área degradada, e confirma a tolerância desses indivíduos a distúrbios do solo e ambientes antropogênicos e solos ácidos a neutros. Representantes do gênero *Glomus* também são comumente encontrados em regiões áridas e semiáridas (TIAN et al., 2009; MELLO et al., 2012), onde sua ocorrência está relacionada a variações nas condições edáficas, bem como a sua alta adaptabilidade a condições variáveis de solo e temperatura, permitindo-lhes sobreviver em solos ácidos e alcalinos. Além disso, a grande quantidade e o pequeno tamanho de seus glomerosporos facilitam a distribuição em ambientes áridos (STUTZ et al., 2000; TEIXEIRA-RIOS et al., 2013).

Vários autores tem estudado a região ITS em esporos de FMA (ANTONIOLLI et al., 2000; HILDEBRANDT et al., 2001; RENKER et al., 2003; DICKIE; FITZJOHN, 2007; MERGULHÃO et al., 2008). Estudos sobre FMA em ecossistemas degradados por atividade mineradora são escassos no Brasil. Algumas pesquisas foram realizadas em áreas de mineração de bauxita no Pará (CAPRONI et al., 2005; MELLONI et al., 2003), em Minas Gerais (SANTOS et al., 2008) e na Amazônia (MARINHO et al., 2004). Em áreas de mineração de gipsita em Pernambuco (MERGULHÃO et al., 2010), em área de mineração de cobre (SILVA et al., 2005) e calcário (TEIXEIRA-RIOS et al., 2013) na Bahia, na recuperação de áreas impactadas (COLODETE et al., 2014) e em áreas impactadas pela exploração mineral de piçarra na caatinga do Rio Grande do Norte (SILVA et al., 2019). O manejo intensivo do solo de forma inadequada pode proporcionar um estado de degradação dificultando a recuperação do mesmo e conseqüentemente a preservação da sua qualidade (CHERUBIN et al., 2015; BUENO et al., 2018). Conhecer a diversidade de espécies de FMA em áreas impactadas é importante, considerando-se que os dados podem servir para orientar os possíveis trabalhos de recuperação a serem realizados nessas áreas.

Conclusões

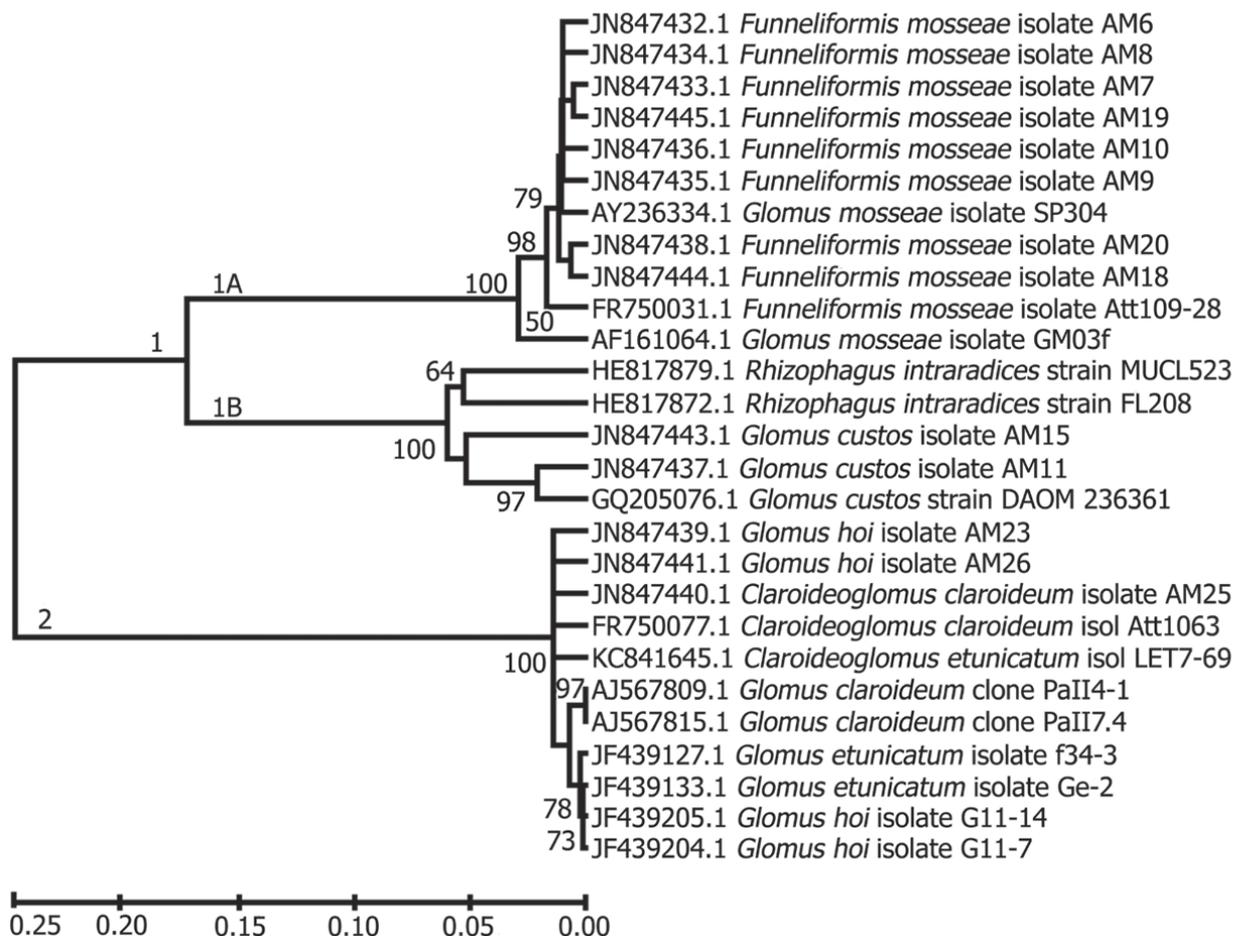
O impacto ambiental por atividade gesseira reduz o número de fungos e bactérias, em comparação com a área nativa, que apresenta maior atividade biológica. Estudo sobre a biota do solo como indicadora de bioatividade e das interferências no ambiente são importantes no cenário ecológico e precisam ser incentivados.

Foram identificadas quatro espécies de FMA *Funneliformis mosseae*, *Glomus custos*, *Glomus hoi* e *Claroideoglomus claroideum*, que mostraram grande capacidade em tolerar as condições edáficas na área impactada pela mineração de gesso.

Referências

- ANTONIOLLI, Z. I.; SCHACHTMAN, D. P.; OPHEL-KELLER, K.; SMITH S. E. Variation in rDNA ITS sequences in *Glomus mosseae* and *Gigaspora margarita* spores from a permanent pasture. **Mycological Research**, v. 104, p. 708-715, 2000.
- ARAUJO, K. D.; SOUZA, M. A.; SANTOS, G. R.; ANDRADE, A. P.; NETO, J. V. F. Atividade microbiana no solo em diferentes ambientes da região semi-árida de Alagoas. **Geografia** (Londrina), v. 25, p. 05 - 18, 2016.
- ARRUDA, K. E. C.; BARRETO, A. M. F. Índice de geodiversidade do município de Araripina – PE, Brasil. **Estudos Geológicos**, v. 25, p. 103-117, 2015.

Figura 1 - Árvore filogenética baseada em sequências da região ITS alinhadas pelo programa ClustalW e modelo de nucleotídeo Tamura- Nei no programa MEGA v.4 dos isolados de FMA (AM6 a AM10 e AM18 a AM20: *Funneliformis mosseae*, AM11 e AM15: *Glomus custos*, AM23 e AM26: *Glomus hoi*, AM25: *Claroideoglomus claroideum*) obtidos de áreas nativa e impactada por mineração de gesso, Araripina, PE, Brasil



BARTZ, M. L. C.; PASINI, A.; BROWN, G. G. Earthworms as soil quality indicators in Brazilian no-tillage systems. **Applied Soil Ecology**, v. 69, p. 39-48, 2013.

BELTRÃO, B. A.; MASCARENHAS, J. C.; MIRANDA, J. L. F.; SOUZA JUNIOR, L. C.; GALVÃO, M. J. T. G.; PEREIRA, S. N. (Orgs). **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado de Pernambuco: diagnóstico do município de Araripina**. Recife: CPRM, 2005. 11 p.

BORBA, M. F.; AMORIM, S. M. C. Fungos micorrízicos arbusculares em sempre-vivas: subsídio para cultivo e replantio em áreas degradadas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, p. 20-27, 2007.

BRANDÃO, M. L. L.; ROSAS, C. O.; MEDEIROS, V. M.; WARNKEN, M. B.; BRICIO, S. M. L.; SILVA, A. M. L.; AZEREDO, D. R. P. Comparação das técnicas do número mais

provável (NMP) e de filtração em membrana na avaliação da qualidade microbiológica de água mineral natural. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p.32-39, 2012.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology Fertility of Soils**, v. 19, p. 269-279, 1995.

BUENO, P. A. A.; OLIVEIRA, V. M. T.; GUALDI, B. L.; SILVEIRA, P. H. N.; PEREIRA, R. G.; FREITAS, C. E. S.; BUENO, R. O.; SEKINE, E. S.; SCHWARCZ, K. D. Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em recuperação de um sistema agroflorestal. **Acta Brasiliensis**, v.2, p. 40-44, 2018.

CAMARA, R.; CORREIA, M. E. F.; VILLELA, D. M. Effects of eucalyptus plantations on soil arthropod communities in a Brazilian Atlantic forest conservation unit. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 445-455, 2012.

CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, R. L. L.; GRANHA, J. R. D. O.; MARINHO, N. F. Fungos micorrízicos arbusculares em estéril revegetado com *Acacia mangium*, após mineração de bauxita. **Revista Árvore**, v.29, p. 373-381, 2005.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221p.

CARDOSO, E. L.; SILVA, M. L. N.; MOREIRA, F. M. S.; CURI, N. Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em pastagem cultivada e nativa no Pantanal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 631-637, 2009.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. In: MOURA, R. M.; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R. (Eds.). **Anais da academia pernambucana de ciência agrônômica**. UFPE - Imprensa Universitária, Recife, 2009, p. 180-208.

CAVALCANTI, A. C.; LOPES, O. F. **Condições edafoclimáticas da Chapada do Araripe e viabilidade de produção sustentável de culturas**. Brasília: EMBRAPA - SPI, 1994. 42 p.

CHERUBIN, M. R.; EITELWEIN, M. T.; FABBRIS, C.; WEIRICH, S. W.; SILVA, R. F.; SILVA, V. R.; BASSO, C. J. Qualidade física, química e biológica de um Latossolo com diferentes manejos e fertilizantes. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 39, p. 615-625, 2015.

COCHRAN, W. G. **Biometrics**, v. 6, p.105-116, 1950.

COLODETE, C. M.; DOBBSS, L. B.; RAMOS, A. C. Aplicação das micorrizas arbusculares na recuperação de áreas impactadas. **Natureza on line**, v. 12, p. 31-37, 2014.

CORREIA, C. R. M. A.; REATTO, A.; MARTINS, E. S.; SILVA, E. M.; CALDAS, L. S.; FAGG, J. F. **Micorriza arbuscular: um bioindicador da fertilidade dos solos e da distribuição de árvores no Bioma Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004. 38p.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; MOREIRA, J. A. A. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo sob produção orgânica impactados por sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p. 56-63, 2012.

CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F. Gasoline biodegradation in different soil microcosms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p. 45-49, 2000.

DICKIE, L.A.; FITZJOHN, R.G. Using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to identify mycorrhizal fungi: a methods review. **Mycorrhiza**, v. 17, p. 259-270, 2007.

EIRA, A. F. Solubilização microbiana de fosfatos. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds). **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992, p.243-255.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise do solo** - Centro Nacional de Pesquisa de Solos – 2. ed. Rio de Janeiro. 1997. 212p. (EMPRABA – CNPS. Documentos; 1).

FELLER, G.; GERDAY, C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. **Nature Reviews Microbiology**, v.1, p. 200-208, 2003.

FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, p. 22-31, 2017.

FIDELIS, R. R.; ALEXANDRINO, C. M. S.; SILVA, D. B. SUGAI, M. A. A.; SILVA, R. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo em culturas intercalares ao pinhão manso. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 9, p. 87-95, 2016.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spore of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, p. 235-244, 1963.

HILDEBRANDT, U.; JANETTA K.; OUZIAD F.; RENNE B.; NAWRATH K.; BOTHE H. Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes. **Mycorrhiza**, v.10, p. 175-183, 2001.

INSAM, H.; HUTCHINSON, T. C.; REBER, H. H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p.691-694, 1996.

JAHNEL, M. C.; CARDOSO, J. B. N.; DIAS, C. T. S. Determinação do número mais provável de micro-organismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 553-559, 1999.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p.692, 1964.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 65-76, 1998.

LANFRANCO, L.; BIANCIOTTO, V.; LUMINI, E.; SOUZA, M.; MORTON, J. B.; BONFANTE, P. A. Combined morphological and molecular approach to characterize isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in *Gigaspora* (Glomales). **New Phytologist**, v. 152, p. 169-179, 2001.

LISBOA, F. J. G.; CHAER, G. M.; JESUS, E. C.; FARIA, S. M.; GONÇALVES, F. S.; SANTOS, F. M.; CASTILHO, A. F.; BERBARA, R. L. L. The influence of litter quality on the relationship between vegetation and below-ground compartments: a Procrustean approach. **Plant and Soil**, v. 367, p. 551-562, 2013.

LYNCH, J. M.; BRAGG, E. Microorganism and soil aggregate stability. **Advances in Soil Science**, v. 2, p.133-171, 1985.

MARGESIN, R.; MITEVA, V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. **Research in Microbiology**, v. 162, p. 346-61, 2011.

MARINHO, N. F.; CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, R. L. L. Respostas de *Acacia mangium* Willd e *Sclerolobium paniculatum* Vogel a fungos micorrízicos arbusculares nativos provenientes de áreas degradadas pela mineração de bauxita na Amazônia. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, p. 141-149, 2004.

MELLO, C. M. A.; SILVA, I. R.; PONTES, J. S.; GOTO, B. T.; SILVA, G. A.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of Caatinga, PE, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 938-943, 2012.

MELLONI, R.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 267-276, 2003.

MELLONI, R.; PEREIRA, E. G.; TRANNIN, I. C. B.; SANTOS, D. R.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no Sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p. 7-13, 2001.

MERGULHÃO, A. C. E. S.; BURITY, H. A.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a gypsum mining impacted semiarid area. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, p. 1052-1061, 2010.

MERGULHÃO, A. C. E. S.; SILVA, M. V.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; MAIA, L. C. Characterisation and identification of arbuscular mycorrhizal fungi species by PCR/RFLP analysis of the rDNA internal transcribed spacer (ITS). **Annals of Microbiology**, v.58, p. 341-344, 2008.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Efeito das características químicas dos solos sobre os micro-organismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p. 49-53, 1994.

OEHL, F.; SIEVERDING, E.; PALENZUELA, J.; INEICHEN, K.; SILVA, G. A. Advances in *Glomeromycota* taxonomy and classification. **IMA Fungus**, v. 2, p.191-199, 2011.

PEREIRA, J. E. S.; BARRETO-GARCIA, P. A. B.; SCORIZA, R. N.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; GOMES, V. S. Arbuscular mycorrhizal fungi in soils of arboreal Caatinga submitted to forest management. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, p. 1-6, 2018.

PEREIRA, R.B.; FREITAS, D.A.F. Uso de microorganismos para a biorremediação de ambientes impactados. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 6, p. 975 - 1006, 2012.

PEREIRA, S. V.; MARTINEZ, C. R.; PORTO, E. R.; OLIVEIRA, B. R. B.; MAIA, L. C. Atividade microbiana em solo do semi-árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 757-762, 2004.

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

RENKER, C.; HEINRICHS, J.; KALDORF, M.; BUSCOT, F. Combining nested PCR and restriction digest of the internal transcribed spacer region to characterize arbuscular mycorrhizal fungi on roots from the field. **Mycorrhiza**, v. 13, p. 191-198, 2003.

SAGGIN JÚNIOR, O. J.; BORGES, W. L.; NOVAIS, C. B.; SILVA, E. M. R. **Manual de curadores de germoplasma – Micro-organismos: Fungos micorrízicos arbusculares**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 23p.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 4, p. 406-425, 1987.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nova York, 1989.

SANTOS, J. G. D.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento inicial de espécies nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.141-150, 2008.

SILVA, F.F.; SANTOS, T. A.; JESUS, E. C.; CHAER, G.M. Characterization of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi in areas impacted by gravel mining in Brazil. **Revista**

Caatinga, v. 32, p. 995-1004, 2019.

SILVA, E. R. A. C.; GALVÍNCIO, J. D.; NASCIMENTO, K. R. P.; SANTANA, S. H. C.; SOUZA, W. M.; COSTA, V. S. O. Análise da tendência temporal da precipitação pluviométrica inter-anual e intra-anual no semiárido pernambucano. **Revista Brasileira de Climatologia**, v.22, p. 76-98, 2018.

SILVA, G. A.; TRUFEM, S. F. B.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. **Mycorrhiza**, v.15, p.47-53, 2005.

SILVEIRA, R. B., MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas em Itajubá/MG. **Cerne**, v. 12, p. 48-55, 2006.

SILVEIRA, R. B., MELLONI, R.; PEREIRA, E. G. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas, no sul de Minas Gerais. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 2, p. 21-29, 2004.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SANTOS, J. G. D.; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas e a degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 5, p. 219-306, 2007.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Micro-organismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 142 p.

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

SOUZA, F. A.; SILVA, E. M. R. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. UFLA/DCS e DCF, Lavras, 1996. p. 255-290.

STÖCKER, C. M., MONTEIRO, A. B., BAMBERG, A. L., CARDOSO, J. H., MORSELLI, T. B. G. A.; LIMA, A. C. R. Bioindicadores da qualidade do solo em sistemas agroflorestais. In: **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa – CONGREGA-Urcamp**, 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa. 2017. 12 p.

STUTZ, J. C.; COPEMAN, R.; MARTIN, C. A. MORTON, J. B. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia Africa. **Canadian Journal of Botany**, v. 78, p. 237-245, 2000.

SUSZEK, E. B.; NETO, P. F.; FORTES, N. L. P.; SILVA, E. M. A. M.; BRAMBATTI, F.; SILVA, C. R.; PATROCINIO, D. D. Atributos microbianos do solo fertilizado com composto de lodo de esgoto. **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 7, p. 49-61, 2012.

TAMURA, K.; NEI, M.; KUMAR, S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the Neighbor-Joining method. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 101, p. 11030-11035, 2004.

TEIXEIRA-RIOS, R. G. S.; MAIA, L. C.; OEHL, F.; LIMA, C. E. P. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid limestone mining-impacted area of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 688-693, 2013.

THOMPSON, J. D.; PLEWNIAK, F.; POCH, O. A comprehensive comparison of multiple sequence alignment programs. **Nucleic Acids Research**, v. 27, p. 2682-2690, 1999.

TIAN, H.; GAI, J. P.; ZHANG, J. L.; CHRISTIE, P.; LI, X. L. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with wild forage plants in typical steppe of eastern Inner Mongolia. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p. 321-327, 2009.

VIEIRA, D. A. P.; FERNANDES, N. C. A. Q. **Microbiologia Aplicada**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 90 p.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Eds.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 419-436.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. Academic, San Diego, 1990. p. 315-322.

WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C.; WIEBE, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A**, v. 95, p. 6578-6583, 1998.

ZHANG, L.; ZHAO, H.; GAN, M.; JIN, Y.; GAO, X.; CHEN, Q.; GUAN, J.; WANG, Z. Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4573-4579, 2011.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A.; SILVEIRA JÚNIOR, P. **Sistema de análise estatística para microcomputadores (SANEST)**. Pelotas: Departamento de Matemática e Estatística, 1984. 151 p.