

**ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES DE PLANTAS E  
DIVERSIDADE DE SIMBIONTES RADICULARES EM  
CAMPOS RUPESTRES DA SERRA DO CIPÓ, MG**

**FERNANDA DE CARVALHO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE

2010

## **TESE DE DOUTORADO**

# **ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES DE PLANTAS E DIVERSIDADE DE SIMBIONTES RADICULARES EM CAMPOS RUPESTRES DA SERRA DO CIPÓ, MG**

**FERNANDA DE CARVALHO**

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Wilson Fernandes

Coorientadores: Profa. Dra. Fátima Maria de Souza Moreira

Dr. Francisco Adriano de Souza

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas  
como parte dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida  
Silvestre.

BELO HORIZONTE

2010

## TESE DE DOUTORADO

# ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES DE PLANTAS E DIVERSIDADE DE SIMBIONTES RADICULARES EM CAMPOS RUPESTRES DA SERRA DO CIPÓ, MG

FERNANDA DE CARVALHO

Apoio Institucional



Apoio Financeiro



Aos meus amados pais **Antônio Duque de Carvalho** e **Joelina de Oliveira Carvalho** e  
amadas irmãs **Jacqueline Ap. de Carvalho Silva** e **Alessandra Carvalho**

Ao meu companheiro **Edward Luis Godoy**

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Pós Graduação em Ecologia Conservação e Manejo da Vida Silvestre/UFMG, em especial ao coordenador Flávio Henrique Guimarães Rodrigues e sub-coordenador Marcos Callisto de Faria Pereira, e aos membros da secretaria, Mary das Graças Santos, Joyce Kely Dutra Rodrigues e Frederico César Linhares Teixeira por todo o auxílio prestado.

Meu eterno agradecimento aos meus preciosos orientadores Dr. Geraldo Wilson Fernandes, Dr. Francisco Adriano de Souza e Dra. Fátima Maria de Souza Moreira por todo apoio, confiança e incentivo durante todos estes anos.

Aos colaboradores deste trabalho: Rosilaine Carrenho (Identificação dos FMA), Marcos Sobral e Pedro Laje Viana (Identificação das plantas) e Ederson da Conceição Jesus (Análises Multivariadas) e sugestões no trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Aos colaboradores Sergio Miana de Faria, Ricardo Luis Louro Berbara, pelo espaço cedido.

A todos do laboratório de Ecologia Evolutiva e Biodiversidade/UFMG em especial a Yumi, Lele, Newton, Marcão, Fabrício, Camila, André, Julia, Kátia, Daniel, Marcel, Dona Lourdes, Deise e Emmanuel!

A todos do laboratório de Micologia e do laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa Agrobiologia em especial, Fer Covacevich, Glorinha, Wardsson e Adriana Santos.

A todos do laboratório de Microbiologia do Solo/UFLA em especial a Marlene Ap. de Souza, Manuel Ap. da Silva, Michele Rocha, Michele Silva, Plinio, Ana, Jessé e Ligiane.

Aos membros da banca examinadora, Sergio Miana de Faria, Yumi Oki, Claudio Roberto Fonseca Sousa Soares e Rafaela Simão Abrahão Nóbrega pela participação, colaboração e sugestões apresentadas.

A minha querida família e isso inclui pai, mãe, irmãs, gatos e cachorro por todo o carinho, paciência, dedicação e amizade! Amo vocês!

Ao Edward por todo o companheirismo!

Aos meus padrinhos Nilde e Ronaldo por todo carinho!

As minhas queridas amigas Clau, Cris, Fer, Fabi, Glorinha, Mi, Tata e Caca!

**MUITO OBRIGADA!**

**“UM PASSO À FRENTE E VOCÊ NÃO ESTÁ MAIS NO MESMO LUGAR”**

*Chico Science*

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
APRESENTAÇÃO.....	vi
PRESENTATION.....	viii
REFERÊNCIAS.....	x
CAPÍTULO 1: Influência das propriedades físico químicas do solo sobre a abundância de espécies de plantas no mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG.....	1
1 Resumo.....	1
2 Abstract.....	2
3 Introdução.....	3
4 Material e Métodos.....	5
5 Resultados.....	10
6 Discussão .....	20
7 Conclusão.....	23
8 Referências Bibliográficas.....	24
CAPÍTULO 2: Ocorrência e diversidade de fungos micorrizicos arbusculares em campos rupestres da Serra do Cipó, MG.....	28
1 Resumo.....	28
2 Abstract.....	29
3 Introdução.....	30
4 Material e Métodos.....	32
5 Resultados.....	36
6 Discussão .....	46

7 Conclusão.....	52
8 Referências Bibliográficas.....	53
CAPÍTULO 3: Caracterização morfológica e genética de bactérias que nodulam	
siratro ( <i>Macropodium atropurpureum</i> ) e jurema-preta ( <i>Mimosa tenuiflora</i> )	
cultivados em solos de campos rupestres, Serra do Cipó, MG.....	
1 Resumo.....	61
2 Abstract.....	62
3 Introdução.....	63
4 Material e Métodos.....	65
5 Resultados.....	70
6 Discussão .....	84
7 Conclusão.....	88
8 Referências Bibliográficas.....	89

## LISTA DE FIGURAS

Página

### CAPÍTULO 1

- 1 Aspecto geral dos diferentes habitats de campos rupestres da Serra do Cipó. campos rupestres (a), brejo arenoso (b), brejo turfoso (c), afloramento rochoso (d), campo pedregoso (e) e cerrado (f)..... 6
- 2 Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica (CCA) com amostras (Ro = afloramentos rochosos; Pb = brejo turfoso; Sb = brejo arenoso; Ce = cerrado e Qf = campo pedregoso), densidade das espécies de plantas (espécies) e propriedades do solo (setas)..... 20

### CAPÍTULO 2

- 2 Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares nos diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = brejo turfoso; Ro = afloramentos rochosos; Qf = campo pedregoso e Ce = cerrado) No gráfico barras com mesma letra indica que os valores não foram significativos pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ )..... 36
- 3 Densidade média de espécies de FMA (A), número médio de plantas (B), Índice de diversidade de Shannon (base ln) de FMA (C) e de plantas (D) nos diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = brejo turfoso Ro = afloramento rochoso; Qf = campo pedregoso; Ce = cerrado). No gráfico barras com mesma letra indica que os valores não foram significativos pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ )..... 41
- 4 Diagrama de ordenação (PCA) das 49 espécies de FMA encontradas nos cinco diferentes habitats de campo. As espécies de FMA estão abreviadas, e a lista completa encontra-se na Tabela 4..... 42
- 5 Diagrama de ordenação (PCA) dos cinco diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = Brejo turfoso; Ro = afloramentos rochosos; Qf = campo pedregoso; Ce = cerrado) com atributos significativos do solo plotados ..... 43

6	Relação entre a riqueza de espécies de FMA e plantas representados nos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG: ▼ = brejo arenoso; ○ = brejo turfoso; ● = afloramento rochoso; ■ = campo pedregoso; Δ = cerrado.....	45
---	--	----

### CAPÍTULO 3

1	Distribuição de todos os isolados obtidos de nódulos radiculares de e jurema preta (A) siratro (B), quanto às características morfológicas avaliadas em manifestação do crescimento (MC); alteração do pH (pH); forma da colônia (FOR); elevação da colônia (EC); borda da colônia (BC); produção de muco (PM); consistência da massa de crescimento (CMC); detalhes ópticos (DO) e tamanho da colônia (TC).....	72
2	Relação filogenética entre isolados de nódulos de siratro depois da inoculação de amostras de solo vindas dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, baseado no seqüenciamento parcial do 16S rDNA de $\alpha$ -Proteobactéria e $\beta$ -Proteobactéria. A Filogenia foi estimada pelo método de neighbour-joining. O tamanho do alinhamento foi 420 pares de bases.....	79
3	Relação filogenética entre isolados de nódulos de jurema preta depois da inoculação de amostras de solo vindas dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, baseado no seqüenciamento parcial do 16S rDNA de $\alpha$ -Proteobactéria e $\beta$ -Proteobactéria. A Filogenia foi estimada pelo método de neighbour-joining. O tamanho do alinhamento foi 420 pares de bases.....	81

## LISTA DE TABELAS

Página

### CAPÍTULO 1

- 1 Localização de cada parcela amostrada (Ro = afloramentos rochosos; Sb = brejos arenosos; Pb = brejos turfosos; Qf = campos pedregosos; Ce = cerrados) ..... 8
- 2 Propriedades químicas do solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG..... 12
- 3 Caracterização granulométrica e textura do solo dos distintos habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG..... 12
- 4 Lista de espécies de plantas presentes nos cinco habitats constituintes do mosaico de campos rupestres (Ro = afloramentos rochosos; Pb = brejo turfoso; Sb = brejo arenoso; Ce = cerrado; Qf = campo pedregoso), suas respectivas densidades absolutas (indivíduo/m<sup>2</sup>). As espécies selecionadas para a análise de CCA (n ≥ 10 indivíduos) apresentam abreviatura\*..... 13

### CAPÍTULO 2

- 1 Principais características dos distintos habitats de campo rupestre da Serra do Cipó, MG..... 33
- 2 Propriedades químicas do solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG..... 37
- 3 Caracterização granulométrica e textura do solo dos distintos habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG..... 37
- 4 Espécies de FMA detectadas nos diferentes habitats de campos rupestres da Serra do Cipó, MG..... 39

5	Gêneros e riqueza de espécies de FMA encontradas nos cinco habitats que constitui o mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG.....	40
6	Classificação filogenética atual dos FMA segundo Ordem, Famílias e Gêneros, número de espécies descritas por gênero no mundo, no Brasil (% de espécies encontradas no Brasil em relação as descritas no mundo) e em campos rupestres (% de espécies encontradas em campos rupestres em relação as descritas no mundo; e em relação as ocorrentes no Brasil).....	47

### CAPÍTULO 3

1	Localização de cada parcela amostrada (Ro = afloramentos rochosos; Sb = brejos arenosos; Pb = brejos turfosos; Qf = campos pedregosos; Ce = cerrados) .....	67
2	Características químicas e textura dos substratos após mistura com o solo inóculo nos distintos habitats de campo rupestres. Ce = cerrado; Pb = brejo turoso; Sb = brejo arenoso; Ro = afloramentos rochoso e Qf = campos pedregosos.....	68
3	Principais características dos grupos culturais de bactérias que nodularam jurema preta em solos de campos rupestres formados pelo agrupamento método UPGMA a 60% de similaridade, e número de isolados classificados por grupo.....	74
4	Principais características dos grupos culturais de bactérias que nodularam siratro em solos de campo rupestre formados pelo agrupamento método UPGMA a 60% de similaridade, e número de isolados classificados por grupo.....	75
5	Número total de isolados de bactérias que nodulam leguminosas, obtidos de siratro e jurema preta, cultivados em amostras de solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, com seus respectivos índices de diversidade.....	76

6	Identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de siratro, baseado na similaridade das seqüências encontradas no GenBank (NCBI). São representativos de diferentes grupos culturais isolados de diferentes habitats de campo rupestres.....	78
7	Identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de jurema preta, baseado na similaridade das seqüências encontradas no GenBank (NCBI). Os isolados são representativos de diferentes grupos culturais isolados de diferentes habitats de campo rupestres.....	80
8	Classificação genotípica atribuída a cada grupo cultural e número de isolados de nódulos de jurema preta por habitat de estudo (Ce:cerrado,; Pb: brejo turfoso; Sb: brejo arenoso, Ro: afloramento rochoso; Qf campo pedregoso).....	82
9	Classificação genotípica atribuída a cada grupo cultural e número de isolados de nódulos de siratro por habitat de estudo (Ce:cerrado,; Pb: brejo turfoso; Sb: brejo arenoso, Ro: afloramento rochoso; Qf campo pedregoso).....	83
10	Número total de isolados de bactérias que nodulam leguminosas, obtidos de siratro e jurema preta, cultivados em amostras de solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, com seus respectivos índices de diversidade genotípica.....	84

# **ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES DE PLANTAS E DIVERSIDADE DE SIMBIONTES RADICULARES EM CAMPOS RUPESTRES DA SERRA DO CIPÓ, MG**

## **APRESENTAÇÃO**

A Cadeia do Espinhaço, ou Serra do Espinhaço como também é conhecida, é formada por áreas montanhosas que representam centros locais de biodiversidade (Giulietti et al. 1997) e estende-se por mais de mil quilômetros, desde a Serra de Ouro Branco, em Minas Gerais, até a região norte da Bahia, na região da Serra do Curral Feio. A largura dessa cadeia montanhosa pode variar de cerca de 20 km a 100 km de extensão na região de Diamantina em Minas Gerais (Vitta 2002).

Apesar de vários tipos vegetacionais ocorrerem nessa região, os campos rupestres podem ser considerados a fitofisionomia com maior biodiversidade e maior número de espécies endêmicas e ameaçadas de extinção. Estima-se em torno de 3000 espécies vegetais identificadas nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, podendo o número total de espécies ser o dobro deste valor (Giulietti et al. 2000). Em relação ao número de endemismos, estima-se que cerca de 30% dos táxons de campo rupestre sejam exclusivos deste tipo vegetacional (Giulietti et al. 1997).

A alta diversidade associada ao grande número de espécies endêmicas e localizada em áreas restritas faz dos campos rupestres locais prioritários à conservação. Fatores de perturbação antropogênica, entretanto, têm se intensificado nesses ambientes e nenhuma idéia se tem dos impactos dessas perturbações sobre as populações de plantas, especialmente as raras e endêmicas (Viana et al. 2005), e ainda sobre os microorganismos que possam estar associados a estas plantas. Dentre essas perturbações pode-se destacar as freqüentes queimadas realizadas por criadores de gado que visam a rebrota da vegetação e o aumento da palatabilidade (Pivello & Norton 1996); a ação do gado, tanto no pastejo quanto como fator causador de erosão por suas trilhas; a crescente especulação imobiliária, principalmente na região da Serra do Cipó, MG; o incremento do turismo predatório; a coleta extrativista e predatória de espécies raras com valor ornamental (Menezes & Giulietti 2000); a destruição parcial ou total das matas de galeria e capões de mata, tanto para extração de madeira como para fins

agrícolas; a abertura e pavimentação de estradas (Viana et al. 2005); a destruição de afloramentos rochosos por mineradores e a invasão de espécies exóticas.

O desenvolvimento de ações que visem à proteção e conservação desses ambientes é de extrema urgência e necessidade. Estudos têm sugerido que os solos, por ser pobre em nutrientes e apresentar pouca espessura é um dos fatores moduladores dos diferentes tipos de fitofisionomias da Serra do Cipó, e os aspectos das interações solo-planta têm sido revelados gradativamente (Ribeiro & Fernandes 2000, Fernandes et al. 2007, Negreiros et al. 2008, 2009). Porém pouco se conhece sobre a microbiota do solo associadas às plantas em campos rupestres, além do potencial biotecnológico que estes microrganismos podem apresentar.

Diante disto, este trabalho visou abranger o conhecimento da influência dos solos sobre a abundância de plantas e ainda investigar a diversidade de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio em leguminosas, contribuindo para o conhecimento da diversidade desta importante fitofisionomia considerada única.

# **PLANT SPECIES ABUNDANCE AND RADICULAR SYMBIONT DIVERSITY IN RUPESTRIAN FIELDS AT CIPÓ MOUNTAIN RANGE, MG**

## **PRESENTATION**

Espinhaço chain of mountains, or Espinhaço mountain range, as it is also known, is formed by mountainous areas which represent local centers for biodiversity (Giulietti et al. 1997) and it spreads for more than one thousand kilometers, from Ouro Branco mountain range, in Minas Gerais until Bahia northern region, to Curral Feio mountain range. This chain of mountains width may vary from 20 km to 100 km extension in Diamantina region, Minas Gerais (Vitta 2002).

Although several vegetation types may occur in the region, rupestrian fields may be considered the phytogeography with higher biodiversity and higher number endemic species under risk of extinction. It is estimated that from around 3000 vegetable species identified in rupestrian fields in Espinhaço mountain range, the total number of species may double this value (Giulietti et al. 2000). In relation to endemism number, it is estimated around 30% rupestrian fields taxons are exclusive to this type of vegetation (Giulietti et al. 1997).

The high diversity associated to great number of endemic species and localized in restricted area, make rupestrian fields priority places for conservation. Anthropogenic perturbation factors, however, have been intensified in these environments and there is no idea about the impact of those perturbation over plants population, specially the rare and endemic ones (Viana et al. 2005), and also in relation to microorganisms which may be associated to these plants. Among these perturbations it is possible to highlight frequent burns made by cattle growers aiming vegetation regrowth and increase of palatability (Pivello & Norton 1996); cattle action, as much during grazing as during their tracks which is an erosion causing factor; the crescent speculation of real state brokers mainly in Cipó mountain range region, MG; the increment of predatory touristic activity; extractive and predatory collection of rare species with ornamental value (Menezes & Giulietti 2000); total or partial destruction of gallery forest and capões forest, as much as for wood as for agriculture; new roads and pavementation (Viana et al. 2005); rocky outcrops destruction by mining and invasion of exotic species.

Developing actions aiming to protect and conserve these environments is of extreme urgency and need. Studies have suggested that soils, due to being poor in nutrients and present little thickness is a modulating factor for different types of phitophysiognomies from Cipó mountaqin range, and some interaction soil-plant aspects have been revealed gradually (Ribeiro & Fernandes 2000, Fernandes et al. 2007, Negreiros et al. 2008, 2009). Little is known about the soil microbiota associated to plants in rupestrian fields, besides the biotechnological potential which these microorganisms may present.

In face of these facts, this work aimed to comprehend the knowledge of soil influence over plants abundance and still investigate arbuscular mycorrhizal fungi diversity and nitrogen fixing bacteria in leguminous, contributing for knowing the diversity of this important phitophysiognomy considered unique.

## REFERÊNCIAS

- Fernandes, GW, Rodarte LHO, Negreiros D, Franco AC (2007) Aspectos nutricionais em *Baccharis concinna* (Asteraceae), espécie endêmica e ameaçada da Serra do Espinhaço, Brasil. *Lundiana* 8: 83:88.
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM (1997) Espinhaço range region, eastern Brazil. In: Davis SD, Heywood VH, Herrera-Macbryde O, Villa-Lobos J, Hamilton AC (eds) *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for their Conservation*. Cambridge: IUCN Publication Unity, pp 397-404.
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP, Wanderley MGL, Pirani JR (2000) Caracterização de endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. In: Cavalcanti TB, Walter BTM (eds) *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília: SBB/Embrapa, pp 311-318.
- Negreiros D, Moraes MLB, Fernandes GW (2008) Caracterização da fertilidade do solo de quatro leguminosas de campos rupestres, Serra do Cipó, MG, Brasil. *Journal of soil science and plant nutrition*. 8:30-39.
- Negreiros D, Fernandes GW, Silveira FAO, Chalub C (2009) Seedling growth and biomass allocation of endemic and threatened shrubs of rupestrian fields. *Acta oecologica* 35: 301-110.
- Menezes NL, Giulietti AM (2000) Campo Rupestre. In: Mendonça MP, Lins LV (eds) *Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção de Minas Gerais*. Fundação Biodiversitas e Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. pp 76-83.
- Pivello VR, Norton GA (1996) Firetool: an expert system for the use of prescribed fires in Brazilian savannas. *J App Ecol* 33: 384-356.
- Ribeiro KT, Fernandes GW (2000) Patterns of abundance of a narrow endemic species in a tropical and infertile montane habitat. *Plant Ecology* 147:205-218.
- Viana LR, Fernandes GW, Silva CA (2005) Ecological road threatens endemic Brazilian plant with extinction. *Plant Talk* 41:15.
- Vitta FA (2002) Diversidade e conservação da flora nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais. In: Araújo EL, Moura NA, Sampaio EVSB, Gestinari LMS, Carneiro JMT (eds) *Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil* Sociedade Botânica do Brasil, UFPE, Recife, Brasil, pp 90-94.

## CAPÍTULO 1

### INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES FÍSICO QUÍMICAS DO SOLO SOBRE A ABUNDÂNCIA DE ESPÉCIES DE PLANTAS NO MOSAICO DE CAMPOS RUPESTRES DA SERRA DO CIPÓ, MG

#### 1. RESUMO

A elevada diversidade em campos rupestres tem sido atribuída principalmente a existência de um conjunto de habitats distintos, porém, poucos estudos apóiam esta afirmação. O presente estudo teve como principal objetivo detectar as particularidades existentes nos distintos habitats constituintes do mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, assim como, investigar a influência das propriedades físico químicas do solo sobre a abundância das diferentes espécies de plantas. Para tal, distintos habitats foram delimitados segundo as características da superfície do solo e limites da vegetação, gerando cinco habitats distintos: afloramentos rochosos, brejos turfosos, brejos arenosos, campos pedregosos e cerrados. O levantamento florístico permitiu verificar que as três famílias a apresentar maior riqueza foram Poaceae, Asteraceae e Cyperaceae juntamente com a Leguminosae. A principal diferença na composição florística entre estes habitats esteve relacionada às espécies dominantes. *Trachypogon spicatus* (Poaceae) em afloramentos rochosos; *Axonopus siccus* (Poaceae) em brejos turfosos; *Lagenocarpus rigidus* (Cyperaceae) em brejos arenosos; *Schizachyrium tenerum* (Poaceae) em cerrado e *Vellozia* sp. 8 (Velloziaceae) em campos pedregosos. A análise de multivariada revelou que os teores de argila, areia grossa, areia fina e silte foram os principais atributos na separação dos habitats, assim como na ocorrência de espécies de plantas exclusivas. A contigüidade entre os distintos habitats constituintes do mosaico de campos rupestres gerou maior heterogeneidade de espécies de plantas em área restrita e demonstrou setorizações na ocupação do espaço e na disponibilidade de recursos.

# CHAPTER 1

## SOIL PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES INFLUENCE OVER PLANTS ABUNDANCE IN RUPESTRIAN FIELDS MOSAIC AT CIPÓ MOUNTAIN RANGE, MG

### 2. ABSTRACT

High diversity in rupestrian fields has mainly been attributed to existence of a distinct group of habitat; however, few studies support this affirmation. This study aimed to detect particularities among distinct habitats composing the mosaic of rupestrian fields from Cipó mountain range, and also to investigate influence of soil physicochemical properties over plant species diversity abundance. For doing so, distinct habitats were delimited according soil surface characteristics and vegetation boundaries, generating five habitats: rocky outcrop, quartz fields, sandy bogs, peaty bogs and cerrado. Floristic survey permitted to verifying that the three families presenting higher richness were Poaceae, Asteraceae and Cyperaceae together with Leguminosae. Main differences in floristic composition among these habitats were related to dominant species. *Trachypogon spicatus* (Poaceae) in rocky outcrop; *Axonopus siccus* (Poaceae) in peaty bogs; *Lagenocarpus rigidus* (Cyperaceae) in sandy bogs; *Schizachyrium tenerum* (Poaceae) in cerrado and *Vellozia* sp. 8 (Velloziaceae) in quartz fields. Multivariate analysis revealed the amounts of clay, silt, sand thick and sand fine were main attributes for habitats separation, as well as for occurrence of exclusive plants species. Contiguity among distinct habitats composing the mosaic of rupestrian fields has generated more plant species heterogeneity in restricted area and demonstrated setorialization in space occupation and resource availability.

### 3. INTRODUÇÃO

A Cadeia do Espinhaço é formada por um complexo de montanhas localizado no sudeste brasileiro. Estendendo-se desde o centro-sul de Minas Gerais em direção ao norte até a Chapada Diamantina na Bahia esta Cadeia é o divisor de dois importantes domínios de vegetação (Menezes & Giulettili 1986) considerados *hotspots* mundiais (Myers et al. 2000) - a mata Atlântica, na vertente leste, e o Cerrado, na vertente oeste. Acima de 900m de altitude, desta Cadeia predominam os campos rupestres, um tipo de vegetação única, considerada extremamente diversa e com inúmeras espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (Giulettili et al. 1987). Estima-se que na porção sul da Cadeia do Espinhaço, na Serra do Cipó, MG onde predominam os campos rupestres ocorra cerca de 3000 espécies vegetais identificadas, sendo um terço destas de ocorrência exclusiva (Giulettili et al. 1997, 2000). Devido às fortes pressões antrópicas exercidas neste ecossistema, muitas espécies de campo rupestre estão em vias de extinção (Menezes & Giulettili 2000), e já compreendem cerca de 70% das espécies de plantas consideradas ameaçadas no estado de Minas Gerais ([http://www.biodiversitas.org.br/rbse/serra\\_espinhaco.asp](http://www.biodiversitas.org.br/rbse/serra_espinhaco.asp)).

Apesar da generalização dessa unidade florística os campos rupestres apresentam uma elevada heterogeneidade espacial incluindo um mosaico de habitats muito próximos entre si (Conceição & Giulettili 2002, Conceição & Pirani 2005, 2007). Os habitats são diferenciados pela configuração do solo, continuidade da vegetação, composição florística, proporção de rocha exposta, presença de blocos de rocha e de sedimentos arenosos. Além disso, na estação chuvosa alguns destes habitats que constitui o mosaico dos campos rupestres podem permanecer secos enquanto outros permanecem encharcados, constituindo um sistema bastante heterogêneo (Conceição 2000, Conceição & Giulettili 2002, Conceição & Pirani 2005).

A elevada diversidade e o alto grau de endemismos encontrados nos campos rupestres sempre estiveram associados a este mosaico de habitats e suas singularidades, principalmente quanto às características dos solos que suportam esta biodiversidade (Andrade et al. 1986, Giuliatti et al. 1987, 1997, Giuliatti & Pirani 1988; Alves & Kolbeck 1993, Conceição 2000, Conceição & Giuliatti 2002, Vitta 2002, Benites 2003, 2007, Conceição & Pirani 2005, 2007).

De modo geral estes habitats ocorrem em solos arenosos, fino ou cascalhentos, rasos, ácidos e pobres em nutrientes (Giuliatti et al. 1987). A baixa fertilidade natural destes solos tem sido indicada por alguns estudos recentes que oferecem dados quantitativos dos teores nutricionais destes solos (Ribeiro & Fernandes 2000, Benites 2003, Conceição & Giuliatti 2002, Medina 2004, Negreiros 2008).

Além disso, estudos vêm demonstrando que a baixa fertilidade natural destes solos é fundamental para a manutenção de espécies nativas, principalmente das consideradas endêmicas (Ribeiro & Fernandes 2000, Negreiros et al. 2008, 2009) já que as mesmas, em geral, estão associadas a tipos específicos do solo (Ribeiro & Fernandes 2000).

Todavia, pouco ainda se conhece das inter-relações existentes entre as espécies de plantas nativas e as propriedades físico químicas do solo em campos rupestres, o que constitui um obstáculo para reabilitação deste frágil ecossistema (Benites et al. 2003). Diante disto, o presente estudo teve como principal objetivo investigar a influência das propriedades físico químicas do solo sobre a abundância das diferentes espécies de plantas nos distintos habitats constituintes do mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG.

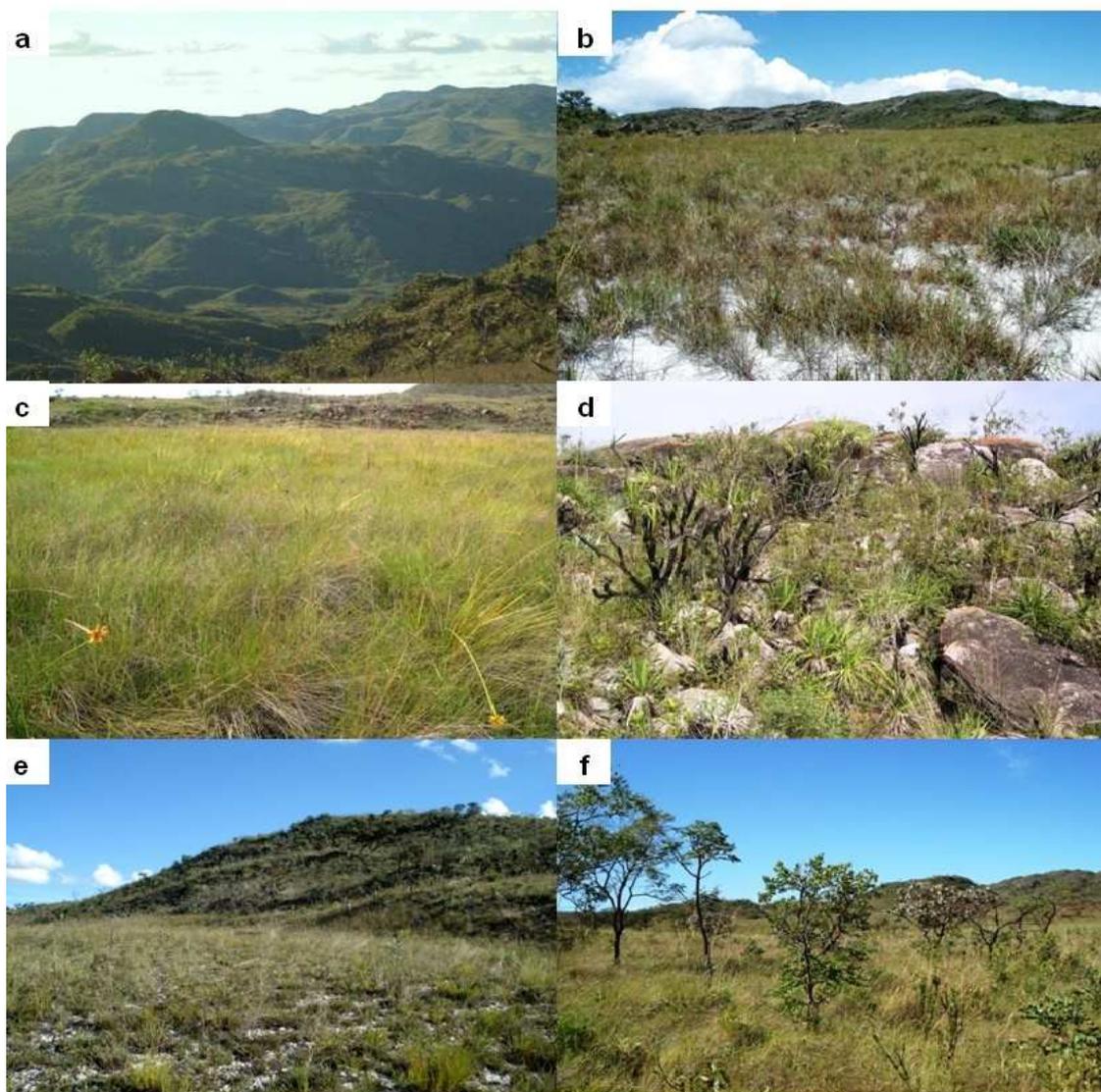
#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Reserva Particular Vellozia, localizada próximo ao Parque Nacional da Serra do Cipó, inserida na Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira em Santana do Riacho, Minas Gerais. O clima da região é mesotérmico, CWb segundo a classificação de Köppen, ocorrendo invernos secos e verões chuvosos (Giulietti et al. 1987). As temperaturas médias anuais ficam em torno de 21,2 °C e apresenta precipitação média anual de 1.622 mm (Madeira & Fernandes 1999).

Para investigar a influência das propriedades físico químicas do solo sobre a abundância das diferentes espécies de plantas nos distintos habitats constituintes do mosaico de campos rupestres (Figura 1A) foi realizado primeiramente a delimitação destes habitats. A delimitação dos habitats procedeu segundo as características visuais do solo, dos limites da vegetação, e ainda se os habitats se mantiam encharcados ou não na estação chuvosa. Foram delimitados cinco habitats distintos descritos a seguir:

- *Brejo arenoso* - ocorrem nas cotas acima de 1000 m - sofre encharcamentos periódicos na estação chuvosa. Possui vegetação herbácea ocorrendo de forma contínua sendo as principais famílias: Cyperaceae, Poaceae, Eriocaulaceae (Giulietti et al. 1987) (Figura 1B);

- *Brejo turfoso* - ocorrem nas cotas acima de 1000 m - diferencia dos brejos arenosos por permanecerem constantemente encharcado durante a estação chuvosa. Há o predomínio do estrato herbáceo ocorrendo de forma contínua sendo as principais famílias: Poaceae, Cyperaceae, Lentiburiaceae (Giulietti et al. 1987) (Figura 1C);



**Figura 1** Aspecto geral dos diferentes habitats dos campos rupestres da Serra do Cipó. Campos rupestres (a), Brejo arenoso (b), Brejo turfoso (c), Afloramento rochoso (d), Campo pedregoso (e) Cerrado (f)

- *Afloramentos rochosos* - ocorrem nas cotas acima de 1000 m - áreas com altas proporções de rocha exposta e possuem vegetação herbáceo-arbustiva que se desenvolvem diretamente sobre a rocha ou em microsítios onde há condições de fixação das raízes e por vezes delgadas camadas de solo, e são notavelmente descontínuas (Conceição & Pirani 2005). A diversificação florística atinge o grau máximo neste habitat, com destaque às famílias Velloziaceae, Orchidaceae, Bromeliaceae, Asteraceae e Poaceae (Conceição & Giullietti 2002, Conceição & Pirani 2005) (Figura 1D);

- *Campos pedregosos* - ocorrem nas cotas acima de 1000 m - este habitat tem como peculiaridade a cobertura da superfície do solo por pequenos fragmentos de rochas quartzíticas. Há o predomínio de espécies herbáceas ocorrendo de forma contínua com as principais famílias: Poaceae, Xyridaceae e Eriocaulaceae (Giulietti et al. 1987) (Figura 1E);

- *Cerrado* - entre 800 a 1200 m de altitude ocorrem manchas de cerrado, cuja dominância de espécies em formas arbóreas-arbustivas declina com o aumento de altitude e estágio de menor desenvolvimento do perfil do solo, passando gradativamente ou bruscamente a campo rupestre (Giulietti et al. 1987). Neste estudo as áreas de cerrado estão acima de 1000 m e passam bruscamente para campos rupestres, portanto constituindo juntamente com os outros habitats o mosaico de campos rupestres. Destacam-se as famílias: Poaceae, Leguminosae, Malpighiaceae e Myrtaceae (Giulietti et al. 1987) (Figura 1F).

Depois de delimitados, os habitats foram demarcados em 3 parcelas de 50m x 20m, sendo cada uma delas subdividida em 5 subparcelas de 5m x 5m com o intuito de melhor adequar os locais de estudo, já que os mesmos sofrem mudanças bruscas em curto espaço (Conceição & Pirani 2007) totalizando assim 15 parcelas (375m<sup>2</sup>) por habitat (Tabela 1).

Tabela 1. Localização de cada parcela amostrada (Ro = Afloramentos Rochosos; Sb = Brejos Arenoso; Pb = Brejos Turfosos; Qf = Campo Pedregoso; Ce = Cerrado).

Habitats	Altitude (m)	Coordenadas Geográficas	
Ro <sub>1</sub>	1163	19° 17' 15,2''S	43° 35' 39,2''W
Ro <sub>2</sub>	1175	19° 17' 07,9''S	43° 35' 44,8''W
Ro <sub>3</sub>	1121	19° 17' 04,1''S	43° 35' 39,9''W
Sb <sub>1</sub>	1158	19° 16' 50,2'' S	43° 35' 27,7'' W
Sb <sub>2</sub>	1173	19° 16' 47,5'' S	43° 35' 24,2''W
Sb <sub>3</sub>	1154	19° 16' 46,1'' S	43° 35' 23,2'' W
Pb <sub>1</sub>	1138	19° 16' 53,0'' S	43° 35' 26,6''W
Pb <sub>2</sub>	1146	19° 16' 54,4'' S	43° 35' 29,0''W
Pb <sub>3</sub>	1179	19° 17' 10,4''S	43° 35' 34,0''W
Qf <sub>1</sub>	1182	19° 17' 09,0''S	43° 35' 20,0''W
Qf <sub>2</sub>	1194	19° 17' 10,0''S	43° 35' 15,1''W
Qf <sub>3</sub>	1192	19° 17' 04,1''S	43° 35' 37,7''W
Ce <sub>1</sub>	1150	19° 16' 55,0''S	43° 35' 35,8''W
Ce <sub>2</sub>	1173	19° 16' 57,7''S	43° 35' 40,0''W
Ce <sub>3</sub>	1192	19° 16' 45,0''S	43° 35' 28,9''W

Nas subparcelas (5 x 5 m) foi realizado o estudo da diversidade florística no período de Dezembro/2006 a Julho/2008. Os ramos representativos de cada espécie foram coletados, herborizados e secos em estufa a 60 °C, para posterior identificação ao nível de espécie quando possível. As identificações taxonômicas contaram com a participação dos especialistas Marcos Sobral e Pedro L. Viana, além de consultas a herbários da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB) e da Universidade Federal de Lavras (HESAL) e literatura especializada. Os nomes das famílias seguem a classificação de Cronquist (1981), exceto para a Leguminosae.

Para avaliar a diversidade dos habitats foi utilizado o índice de diversidade de Shannon na base logarítmica natural. O índice de equabilidade de Pielou (J) foi utilizado

para representar a uniformidade de distribuição dos indivíduos entre todas as espécies existentes (Magurran 1988).

O número de indivíduos de cada espécie presente dentro de cada subparcela (5m x 5m) foi contado para poder estimar a densidade absoluta das espécies (indivíduos/m<sup>2</sup>) em cada habitat com o intuito de relacioná-la com as propriedades físico químicas do solo.

Para o estudo das propriedades do solo, foi coletada em cada subparcela (5m x 5m) uma amostra de solo composta por 12 subamostras. As amostras de solo compostas foram homogeneizadas, secas ao ar e acondicionadas em sacos plásticos, mantidos em câmara fria e posteriormente encaminhados para Embrapa Solos para a realização das análises físico-químicas.

A análise granulométrica dos solos (frações areia grossa, areia fina, silte e argila) foi realizada conforme metodologia descrita pela Embrapa (1997). O pH em água foi medido utilizando-se as proporções 1:2,5 (v/v) de solo:solução. O teor de carbono orgânico foi determinado pelo método de Walkley-Black. A matéria orgânica foi estimada a partir do teor de carbono orgânico multiplicado por 1,724. Os cátions Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> trocáveis foram extraídos por solução de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e determinados por titulação com EDTA 0,01 mol/L e os teores Al<sup>3+</sup> por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup> conforme Silva et al. (1999). Os elementos P, K, Na, Zn, Fe, Mn, Cu foram extraídos por solução Mehlich 1, sendo os teores de P nos extratos determinados por colorimetria, K e Na por fotometria de chama e Zn, Fe, Mn e Cu por absorção atômica conforme Silva et al. (1999). A concentração de N no solo foi avaliada, seguindo o método Kjeldhal descrito por Tedesco et al. (1995). Os atributos físico químicos dos solos, assim como os índices de diversidade foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Para investigar a relação entre a abundância de espécies vegetais e as propriedades do solo foi utilizada a análise de correspondência canônica (CCA). Somente as espécies com  $n \geq 10$  indivíduos foram incluídas nesta análise. A seleção com maior número de indivíduos se justifica principalmente pelo fato das espécies menos abundantes contribuírem pouco para análise dos dados e aumentarem desnecessariamente o volume dos cálculos (Mello 2008). Os valores da matriz de abundância das espécies foram transformados pelo seu logarítmico natural ( $x' = \ln(x+1)$ ). A transformação logarítmica dos valores é uma forma de padronizar os dados e é conveniente em dados de abundância de espécies, nos quais são comuns poucos valores elevados e muitos valores baixos.

Depois de uma análise preliminar dez variáveis foram excluídas devido à alta colinearidade com outras variáveis ou baixa correlação com o eixo ordenado, sendo estas: pH, K, Na, Al, C, N, Fe, Mn, Zn e teor de cascalho, as demais propriedades do solo avaliadas neste estudo foram utilizadas na análise de CCA. O programa utilizado foi o Canoco for Windows version 4.5 (Cajo & Braak 2002).

## **5. RESULTADOS**

Os solos avaliados de modo geral possuem acidez elevada com baixos teores de macronutrientes e micronutrientes e valores médios para MO. Os brejos turfosos e o cerrado apresentaram teores significativamente mais elevados de N,  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$ . Os teores de Fe assim como os de Mn foram significativamente maiores nos brejo turfosos e cerrado respectivamente em relação aos demais habitats avaliados. Houve uma tendência dos solos estudados apresentarem níveis críticos de saturação de  $Al^{+3}$  e alto nos afloramentos rochosos (Tabela 2).

As texturas dos solos foram predominantemente arenosa sendo a textura média atribuída apenas para o cerrado (Tabela 3). A fração silte foi a única a não apresentar diferenças significativas entre os habitats avaliados (Tabela 3).

As espécies de plantas amostradas nos cinco habitats constituintes do mosaico de campo rupestre somaram 171, correspondendo a 0.0912 espécies/m<sup>2</sup>. Estas espécies estão distribuídas em 110 gêneros e 44 famílias. As famílias que apresentaram maior riqueza em espécies foram: Poaceae (31), Asteraceae (26), Cyperaceae (11), Leguminosae (11), Velloziaceae (9), Melastomataceae (9), Eriocaulaceae (8), Rubiaceae (7), Myrtaceae (5), Malpighiaceae (5), Lythraceae (4), Convolvulaceae (3). Estas 12 famílias detiveram 75,43% das espécies amostradas, enquanto que as outras 32 famílias dividiram os 24,57% das espécies restantes (Tabela 4).

Entre os habitats estudados, os afloramentos rochosos apresentaram o maior número de espécies (79) seguidos do cerrado (65), brejos turfosos (55), campo pedregoso (52) e brejo arenoso (25). A principal diferença com relação à composição florística entre estes habitats foram as espécies dominantes sendo: *Trachypogon spicatus* (Poaceae) em afloramentos rochosos; *Axonopus siccus* (Poaceae) em brejos turfosos; *Lagenocarpus rigidus* (Cyperaceae) em campos arenosos; *Schizachyrium tenerum* (Poaceae) em cerrado e *Vellozia* sp. 8 em campos pedregosos (Tabela 4).

O índice de diversidade de Shannon revelou uma maior diversidade nos afloramentos rochosos (2.74 nat/indivíduo) seguidos do cerrado (2.51 nat/indivíduo), brejo turfoso (2.02 nat/indivíduo), campo pedregoso (1.89 nat/indivíduo) e brejo arenoso (1.59 nat/indivíduo). Para a equabilidade de Pielou (J) os valores foram de 0.79 para o cerrado, 0.71 no afloramento rochoso, 0.64 em brejo turfoso e para o campo pedregoso e brejo arenoso 0.58.

**Tabela 2** Propriedades químicas do solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG

Habitats	pH	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>	P	C	MO	N	Cu	Fe	Mn	Zn
	H <sub>2</sub> O	cmol <sub>c</sub> /kg					mg/kg	g/kg				mg/kg		
Brejo arenoso	4.2b	0.2b	0.2b	0.04a	0.01a	1.93a	2.0a	8.3a	13.5a	0.7b	1.05a	79.73b	0.35b	1.85a
Brejo turfoso	4.9a	0.4a	0.4a	0.08a	0.02a	0.93b	3.0a	19.9a	34.6a	1.5a	0.52a	152.33a	1.27b	0.32a
Afloramento rochoso	4.1b	0.2b	0.2b	0.07a	0.01a	0.97b	2.0a	11.8a	20.3a	0.9b	0.21a	66.33b	0.47b	0.32a
Campo pedregoso	4.4b	0.2b	0.2b	0.05a	0.01a	0.90b	3.0a	13.7a	23.2a	0.8b	0.26a	59.30b	0.82b	0.88a
Cerrado	5.0a	0.3a	0.3a	0.11a	0.02a	0.66b	2.0a	19.7a	26.1a	1.7a	1.26a	44.70b	5.92a	0.37a
Coefficiente de variação	5.9	34.0	34.0	31.2	48,6	42.5	48.3	44.7	44.7	37.2	91.2	38.3	50.0	196.4
F	7.4**	4.1*	4.1*	3.6*	1.2 <sup>ns</sup>	3.4*	1.4 <sup>ns</sup>	2.2 <sup>ns</sup>	2.2 <sup>ns</sup>	3.3*	1.8 <sup>ns</sup>	5.6*	21.7**	0.7 <sup>ns</sup>

Os dados são apresentados como média de três repetições por tipo de habitat estudado. Diferenças não significativa (ns) entre os habitats estudados são representadas por letras idênticas. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 1% (\*\*) e 5% (\*).

**Tabela 3** Caracterização granulométrica e textura do solo dos distintos habitats que constituem o mosaico de campo rupestre da Serra do Cipó, MG

Habitats	Cascalho	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Textura do solo
	g/kg					
Brejo arenoso	122c	293a	487a	198a	20b	franco-arenoso
Brejo turfoso	70d	172b	529a	271a	27b	franco-arenoso
Afloramento rochoso	226b	107b	507a	352a	33b	franco-arenoso
Campo pedregoso	470a	266a	470a	243a	20b	franco-arenoso
Cerrado	7e	183b	270b	293a	299a	franco-argilosa
Coefficiente de variação	13.7	14.9	13.0	24.9	95.4	
F	162.9**	23.2**	9.5**	2.1 <sup>ns</sup>	7.3**	

Os dados são apresentados como média de três repetições por tipo de habitat estudado. Diferenças não significativa (ns) entre os habitats estudados são representadas por letras idênticas. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 1% (\*\*) e 5% (\*).

**Tabela 4** Lista de espécies de plantas presentes nos cinco habitats constituintes do mosaico de campos rupestres (Ro = afloramentos rochosos; Pb = brejo turfoso; Sb = brejo arenoso; Ce = cerrado; Qf = campo pedregoso), suas respectivas densidades absolutas (indivíduo/m<sup>2</sup>). As espécies selecionadas para a análise de CCA (n ≥ 10 indivíduos) apresentam abreviatura\*.

Familia	Espécies	Abbrev.*	Densidade absoluta (ind m <sup>-2</sup> )				
			Ro	Pb	Sb	Ce	Qf
Acanthaceae	<i>Ruellia</i> sp.		-	-	-	0.005	-
Amaranthaceae	<i>Gomphrena</i> sp.	Gom	0.072	-	-	-	0.059
Anemiaceae	<i>Anemia</i> cf. <i>imbricata</i> Sturm		-	-	-	0.029	-
Apocynaceae	<i>Macrosiphonia velame</i> (St. Hil.) Muell. Arg.		-	-	-	0.011	-
Araceae	<i>Philodendron cipoense</i> Sakuragui & Mayo		-	0.016	-	-	-
Arecaceae	<i>Syagrus pleiocada</i> Burret	Spl	0.077	-	-	0.003	-
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia smilacina</i> Duch.		-	-	-	0.003	-
Asteraceae	<i>Achyrocline</i> sp.		-	0.005	-	-	-
	<i>Aspilia jolyana</i> G. M. Barroso	Asp	0.403	0.011	0.019	-	0.003
	<i>Baccharis aphylla</i> (Vell.) DC.		-	-	-	0.005	-
	<i>Baccharis concinna</i> G. M. Barroso	Bco	0.165	-	-	-	-
	<i>Baccharis punctulata</i> DC.		-	0.003	-	0.005	-
	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	Btr	-	0.032	-	-	-
	<i>Baccharis</i> sp.1	Bac	-	0.059	0.325	-	-
	<i>Baccharis</i> sp.2		-	0.013	-	-	-
	<i>Chromolaena horminoides</i> Baker	Cho	-	-	-	0.141	-
	<i>Chromolaena</i> sp. 1	Chr	-	-	-	-	0.032
	<i>Chromolaena</i> sp. 2		-	-	-	0.008	-
	<i>Dasyphyllum reticulatum</i> DC.	Das	0.072	-	-	-	-
	<i>Lepidaploa</i> sp		-	-	-	0.003	-
	<i>Lessingianthus linearifolius</i> (Less.) H. Rob.	Lli	0.045	-	-	-	0.021
	<i>Lessingianthus</i> sp		-	-	-	0.005	-
	<i>Lychnophora pinaster</i> Mart.	Lpi	0.109	0.019	-	-	-
	<i>Lychnophora rupestris</i> Semir & Leitão-Filho		0.019	-	-	-	-
	<i>Mikania</i> sp	Mik	0.085	-	-	-	-
	<i>Richterago amplexifolia</i> (Gardner) Kuntze	Ria	0.029	-	-	-	-
	<i>Richterago caulescens</i> Roque	Ric	0.061	-	-	-	0.112
	<i>Richterago polymorpha</i> (Less.) Roque	Rip	-	0.379	0.360	-	-
	<i>Richterago</i> sp	Rit	0.003	-	-	-	0.051
	<i>Stevia</i> sp		-	-	-	0.003	-
	<i>Symphypappus brasiliensis</i> (Gardner) R. M. King & H. Rob.	Sbr	0.304	-	-	-	-
	<i>Trichogonia villosa</i> (Spreng.) Sch. Bip. ex Baker		-	-	-	-	0.021
	<i>Vernonanthura</i> sp.	Ver	-	0.040	-	-	-
Bignoniaceae	<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC.	Jca	-	-	0.331	0.019	0.003
	<i>Memora pedunculata</i> (Vell.) Miers	Mem	-	-	-	0.069	-
Bromeliaceae	<i>Encholirium heloisae</i> (LBSm.) Forzza & Wand.	Dyc	0.072	-	-	-	-
Campanulaceae	<i>Lobelia camporum</i> Pohl	Lca	-	0.059	-	-	-

*continua*

Familia	Espécies	Abbrev.*	Densidade absoluta (ind m <sup>-2</sup> )				
			Ro	Pb	Sb	Ce	Qf
Celastraceae	<i>Plenckia polpunea</i> Reiss.		-	-	-	0.011	-
Convolvulaceae	<i>Convolvulus</i> sp.	Com	-	0.072	-	-	-
	<i>Evolvulus</i> sp.		0.003	-	-	-	-
	<i>Ipomoea</i> sp.	Ipo	-	-	0.072	-	-
Cyperaceae	<i>Bulbostylis paradoxa</i> (Spreng.) Lindm.	Bpa	0.213	-	-	0.141	1.328
	<i>Bulbostylis</i> sp.		-	-	-	0.013	-
	<i>Fimbristylis</i> sp.	Fim	-	0.080	-	-	-
	<i>Lagenocarpus rigidus</i> (Kunth.) Ness	Lri	0.485	3.739	19.659	-	3.339
	<i>Lagenocarpus</i> sp.	Lag	0.011	0.109	-	-	0.392
	<i>Rhynchospora consanguinea</i> (Kunth.) Boeck.	Rco	0.109	0.099	0.499	0.013	0.008
	<i>Rhynchospora globosa</i> (Kunth) Roem. & Schult.	Rgl	-	-	-	-	0.667
	<i>Rhynchospora terminalis</i> (Nees). Steud.	Rte	0.328	0.259	14.840	-	0.416
	<i>Rhynchospora</i> sp.1	Rh1	1.304	-	-	-	-
	<i>Rhynchospora</i> sp.2	Rh2	-	0.123	-	-	-
	<i>Rhynchospora</i> sp. 3	Rh3	-	0.101	-	0.008	-
Dilleniaceae	<i>Davilla rugosa</i> Poir. et St. Hill	Dav	0.024	-	-	-	-
	<i>Davilla</i> sp.		0.045	-	-	-	-
Droseraceae	<i>Drosera</i> sp.		-	-	-	-	0.011
Eriocaulaceae	<i>Actinocephalus bongardii</i> (A. St.-Hil.) Sano		-	0.003	-	-	-
	<i>Paepalanthus nigrescens</i> Silveira	Pa1	0.005	-	0.445	-	0.013
	<i>Paepalanthus</i> sp.2	Pa2	0.011	-	0.304	-	0.109
	<i>Leiothrix crassifolia</i> (Bong.) Ruhland	Pa3	-	0.187	0.384	-	-
	<i>Paepalanthus</i> sp.4	Pa4	-	-	-	-	0.117
	<i>Paepalanthus</i> sp.5	Pa5	-	0.099	-	-	0.019
	<i>Paepalanthus geniculatus</i> (Bong.) Kunth.	Pa6	0.027	-	1.453	-	0.573
	<i>Leiothrix cf. curvifolia</i> (Bong.) Ruhland	Sy1	-	-	-	-	0.064
	<i>Syngonanthus anthemidiflorus</i> (Bong.) Ruhland	Sy2	-	-	-	-	0.029
Erytroxylaceae	<i>Erythroxyllum campestre</i> St. Hil.	Eca	0.011	-	-	0.016	-
Euphorbiaceae	<i>Microstachys</i> sp.	Mir	-	-	-	-	0.032
	<i>Sebastiania myrtilloides</i> (Mart.) Pax	Smy	0.208	-	-	-	-
Leguminosae/ Caesalpinoideae	<i>Chamaecrista</i> sp.	Cra	-	-	-	0.035	-
	<i>Chamaecrista ramosa</i> (Vog.) var. <i>parvifoliola</i> Irwin & Barneby		-	-	-	-	0.011
	<i>Chamaecrista mucronata</i> (Spreng.) Irwin & Barneby.	Cta	0.072	-	-	-	-
	<i>Senna cf. rugosa</i> (G. Don) Irwin & Barneby	Sem	0.019	-	-	-	0.019
Leguminosae/ Papilionoideae	<i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.		-	-	-	0.005	-
	<i>Eriosema crinitum</i> E. Mey	Ecr	-	-	-	0.035	-
	<i>Stylosanthes guianensis</i> (Aubl.) Sw.		-	-	-	0.011	-
	<i>Camptosema</i> sp.		-	-	-	0.032	-

continua

Familia	Espécies	Abbrev.*	Densidade absoluta (ind m <sup>-2</sup> )				
			Ro	Pb	Sb	Ce	Qf
Leguminosae/ Mimosoideae	<i>Calliandra fasciculata</i> Benth.		-	-	-	0.019	-
	<i>Mimosa foliolosa</i> Benth.	Mim	0.072	-	-	0.160	0.160
	<i>Stryphnodendron gracile</i> Her. & Rizz.	Sgr	-	-	-	0.029	-
Iridaceae	<i>Pseudotrimezia cipoana</i> Rav.	Pci	0.005	0.069	-	0.005	-
	<i>Trimezia juncifolia</i> (Klatt) Benth. et Hook.f.	Tju	0.048	-	-	-	-
Lamiaceae	<i>Hyptis rugosa</i> Benth.	Hru	-	-	-	0.099	0.003
Lamiaceae	<i>Hyptis cf. proteoides</i> (Benth) A. St.- Hil.		0.024	-	-	-	-
Lentibulariaceae	<i>Utricularia</i> sp.		-	0.008	-	-	-
Loranthaceae	<i>Struthanthus flexicaulis</i> Mart..		-	-	-	0.003	-
Lythraceae	<i>Cuphea</i> sp. 1	Cu1	-	0.120	0.432	-	-
	<i>Cuphea</i> sp. 2	Cu2	0.008	-	-	0.016	0.013
	<i>Diplusodon orbiculares</i> Koehne	Dor	0.091	-	0.013	0.003	0.363
	<i>Diplusodon</i> sp.	Dip	0.021	-	-	-	0.077
Malpighiaceae	<i>Banisteriopsis</i> sp.	Ban	0.059	-	-	0.152	-
	<i>Byrsonima guilleminiana</i> Adr. Juss.		0.019	-	-	0.003	0.003
	<i>Byrsonima</i> sp.		0.008	-	-	-	0.008
	<i>Byrsonima variabilis</i> Adr. Juss.	Bva	0.189	-	-	-	-
	<i>Peixotoa tomentosa</i> Adr. Juss.	Pto	-	-	-	0.096	-
Malvaceae	<i>Pelteia polymorpha</i> (St. Hil.) Krap. & Crist.		-	-	-	0.003	-
Melastomataceae	<i>Chaetostoma pungens</i> DC	Cha	-	0.141	0.856	-	0.109
	<i>Lavoisiera confertiflora</i> Naudin.	La1	-	0.253	0.165	-	0.176
	<i>Lavoisiera cf. cordata</i> Cogn.	La2	0.037	0.016	0.021	-	0.011
	<i>Leandra aurea</i> Cogn.		-	-	-	0.003	-
	<i>Marcetia taxifolia</i> (A. St.-Hil.) DC.	Mar	0.197	-	-	-	0.003
	<i>Miconia</i> sp.		-	0.016	-	-	-
	<i>Microlicia cf. martiana</i> O. Berg	Mic	-	0.003	-	0.003	0.101
	<i>Tibouchina</i> sp.		-	0.008	-	-	-
	<i>Trembleya parviflora</i> (Don.) Cogn.		-	0.008	-	-	-
Menispermaceae	<i>Cissampelos ovalifolia</i> DC.		-	-	-	0.013	-
Myrsinaceae	<i>Myrsine coriacea</i> (Sw.) R. Br.	Mco	0.091	-	-	0.064	-
	<i>Myrsine</i> sp.		0.016	-	-	-	-
Myrtaceae	<i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O.Berg	Cad	-	-	-	0.088	-
	<i>Myrcia cf. guianensis</i> (Aubl.) O. Kuntze	Mgu	0.107	-	-	-	-
	<i>Myrcia eriopus</i> DC.		-	-	-	0.021	-
	<i>Myrcia lasiantha</i> DC.	Mla	-	-	-	0.032	-
	<i>Psidium firmum</i> Berg		-	-	-	0.008	-
Orchidaceae	<i>Habenaria</i> sp.		-	0.003	0.011	-	-
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus klotzchianus</i> Muell. Arg.	Pkl	0.115	-	-	-	-
Poaceae	<i>Andropogon villosus</i> Thunb.	Avi	1.899	-	-	-	-
	<i>Andropogon virgatus</i> Desv.	Anv	-	0.304	-	-	-
	<i>Aristida</i> sp.	Ars	-	4.747	-	-	-

*continua*

Familia	Espécies	Abbrev.*	Densidade absoluta (ind m <sup>-2</sup> )				
			Ro	Pb	Sb	Ce	Qf
Poaceae	<i>Arthropogon villosus</i> Ness.	Art	-	-	-	0.469	-
	<i>Aulomenia effusa</i> Hack	Aef	0.101	-	-	-	0.008
	<i>Axonopus brasiliensis</i> (Spreng.) Kuhl.	Abr	0.027	0.541	0.544	0.488	-
	<i>Axonopus siccus</i> (Ness.) Kuhl.	Asi	-	5.272	-	0.107	0.099
	<i>Briza calotheca</i> Hook.	Bca	-	0.144	-	-	-
	<i>Echinolaena inflexa</i> (Poir.) Chase	Ein	0.011	0.779	-	0.272	-
	<i>Elionurus muticus</i> (Spreng.) Kuntze	Elm	-	0.187	-	-	-
	<i>Eragrostis</i> sp.	Era	-	-	-	0.245	-
	<i>Mesosetum loliforme</i> (Hochst.) Chase	Mlo	0.392	-	-	0.149	-
	<i>Otachyrium pterygodium</i> (Trin.)	Ove	-	0.725	-	-	-
	<i>Panicum cyanescens</i> Ness.	Pcy	-	0.285	-	0.160	-
	<i>Panicum polyphyllum</i> Nees in Trin.	Ppo	0.184	0.160	-	0.003	0.016
	<i>Panicum pseudisachne</i> Mez.	Pps	-	0.416	0.675	0.072	-
	<i>Panicum rupestre</i> Trin.	Pru	0.179	-	-	-	0.192
	<i>Panicum wettsteinii</i> Hack.	Pwe	-	0.101	-	-	-
	<i>Panicum</i> sp.	Pan	0.075	-	-	-	-
	<i>Paspalum carinatum</i> Humb & Bonpl.	Pco	-	0.011	-	-	0.040
	<i>Paspalum erianthum</i> Nees.	Per	0.107	0.251	-	0.013	-
	<i>Paspalum falcatum</i> Ness ex Steud.	Pfa	-	0.251	-	-	-
	<i>Paspalum guttatum</i> Trin.	Pgu	0.125	-	4.819	-	0.008
	<i>Paspalum maculatum</i> Nash	Pma	-	0.165	-	-	-
	<i>Paspalum pectinatum</i> Ness in Trin.		-	-	-	-	0.005
	<i>Paspalum pilosum</i> Lam.	Ppi	-	0.381	-	-	-
	<i>Setaria parviflora</i> Poir.	Spa	-	0.040	-	-	-
	<i>Schizachyrium tenerum</i> Ness	Ste	-	-	-	1.144	0.091
	<i>Sporobolus aeneus</i> (Trin.) Kunth		-	-	-	0.016	-
	<i>Steinchisma hians</i> (Ell.) Nash.	Shi	-	0.096	-	-	-
	<i>Trachypogon spicatus</i> (L. F.) Kuntze	Tsp	3.363	-	-	0.197	0.179
Polygalaceae	<i>Polygala cf. paniculata</i> L.	Ppa	-	0.480	-	0.027	-
	<i>Polygala</i> sp.		0.013	-	-	-	-
Polygonaceae	<i>Coccoloba cereifera</i> Schw.	Cce	0.072	-	0.160	-	0.027
Rapateaceae	<i>Cephalostemon riedelianus</i> Körn.	Cep	0.139	0.096	0.336	-	-
Rubiaceae	<i>Cordia rigida</i> (K.Schum.) Kuntze		-	-	-	0.008	-
	<i>Declieuxia</i> sp.		0.003	-	-	-	-
	<i>Diodia apiculata</i> (Willd.) Schum.	Dap	0.024	-	-	-	-
	<i>Palicourea rigida</i> H. B. K.	Pri	0.029	-	-	0.003	-
	<i>Remijia ferruginea</i> (St. Hil.) DC.		0.005	-	-	-	-
	<i>Sabicea brasiliensis</i> Wernhm	Sbr	-	-	-	0.029	-
	<i>Spermacoce</i> sp.	Spe	0.056	-	-	-	0.243
Trigoniaceae	<i>Trigonia nivea</i> Camb.		0.024	-	-	-	-
Turneraceae	<i>Turnera</i> sp.		-	-	-	0.003	-
Velloziaceae	<i>Vellozia epidendroides</i> (Schult. & Schult) Mart.	Ve1	0.147	-	-	-	0.720
	<i>Barbacenia macrantha</i> Lem.	Ve2	0.272	-	-	-	-

*continua*

Familia	Espécies	Abbrev.*	Densidade absoluta (ind m <sup>-2</sup> )				
			Ro	Pb	Sb	Ce	Qf
	<i>Vellozia</i> sp. 3	Ve3	0.077	-	-	-	-
	<i>Vellozia</i> sp. 4	Ve4	0.240	-	-	-	-
	<i>Barbacenia</i> sp.	Ve5	0.432	-	-	-	0.208
	<i>Vellozia</i> sp. 6	Ve6	0.085	-	-	-	-
	<i>Vellozia</i> sp. 7	Ve7	0.011	-	-	-	-
	<i>Vellozia</i> sp. 8	Ve8	0.496	-	1.043	-	8.907
Verbenaceae	<i>Lippia florida</i> Cham.	Lfl	0.085	-	-	-	-
	<i>Lippia</i> sp.	Lip	0.045	-	-	0.003	-
Vochysiaceae	<i>Vochysia elliptica</i> Mart.		0.013	-	-	-	-
	<i>Vochysia pygmaea</i> Bong.	Voc	-	-	-	-	0.251
Xyridaceae	<i>Xyris longiscapa</i> A. Nilsson	Xyi	-	-	0.037	-	0.064

Cento e vinte espécies de plantas foram selecionadas ( $n \geq 10$  indivíduos) para análise de correspondência canônica (CCA) e estas foram principalmente pertencentes à Poaceae (24.2%), Asteraceae (13.3%), Cyperaceae (8.3%), Velloziaceae (6,7%) e Leguminosae (5%) (Tabela 4). As subparcelas (5m x 5m) provenientes de cada parcela (50m x 20m) de todos os habitats estudados mostraram-se fortemente agrupadas no diagrama de ordenação da CCA. Os habitats de afloramentos rochosos assim como os brejos arenosos e cerrado foram claramente segregados na CCA (Figura 2). Os autovalores dos dois primeiros eixos do diagrama da CCA foram altos (Eixo 1 = 0.581; Eixo2 = 0.485) explicando 21% e 17.6% respectivamente da variância total. O teste de Monte Carlo mostrou que a densidade das espécies de plantas foi significativamente correlacionada com as propriedades do solo ( $r = 0.991$ ,  $P < 0.01$  no primeiro eixo;  $r = 0.996$ ,  $P < 0.01$  no segundo eixo). Os resultados obtidos através dos coeficientes canônicos mostraram que os componentes, silte (0.692), areia fina (0.639) e argila (0.516) foram os mais importantes no eixo 1. Este eixo foi positivamente correlacionado com os teores de argila, silte e areia fina e negativamente correlacionado com os teores de areia grossa e com os teores de Ca, Mg, P, MO e Cu. O eixo 1 separou claramente os habitats de afloramentos rochosos e brejos arenosos com os de cerrado (Figura 2)

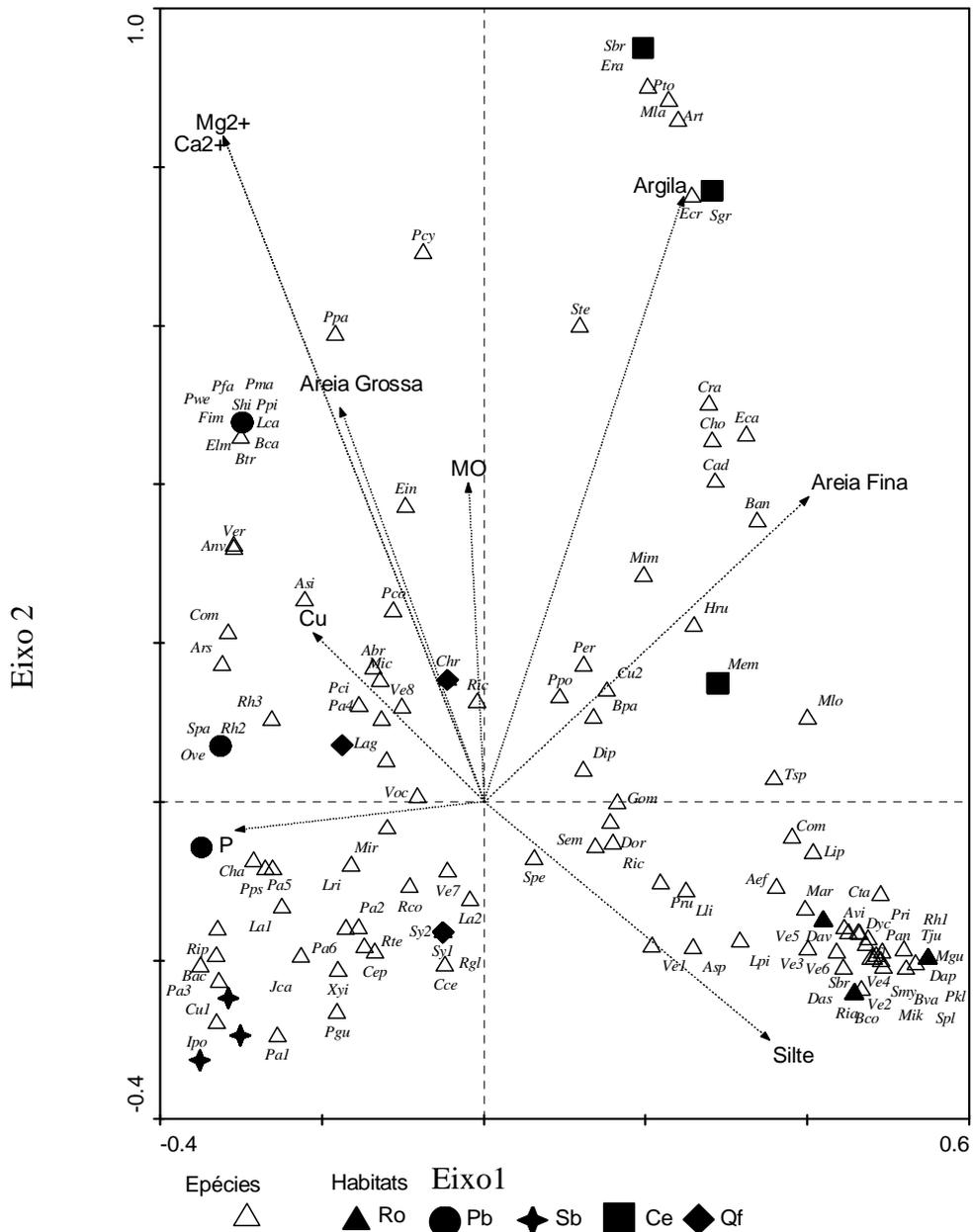
Para o eixo 2 o Ca (0.538), Mg (0.538) e argila (0.515) foram os atributos mais importantes. Este eixo foi positivamente correlacionado com os teores de argila, areia grossa, areia fina, MO, Cu, Ca e Mg e negativamente correlacionado com os teores de P e silte. O eixo 2 separou claramente os habitats de afloramentos rochosos e cerrado dos demais habitats estudados (Figura 2).

A dispersão das parcelas no diagrama de ordenação da CCA revelou um gradiente para os habitats de cerrado, brejos turfosos e campo pedregoso. Um grupo de subparcelas de brejo turfoso mostrou uma alta densidade de espécies encontradas somente nestas áreas, sendo: *Paspalum maculatum*, *Paspalum falcatum*, *Paspalum pilosum*, *Paspalum wettsteinii*, *Steinchisma hians*, *Setaria parviflora*, *Elionurus muticus*, *Briza caloteca*, (Poaceae), *Fimbristylis* sp. (Cyperaceae) e *Lobelia camporum* (Campanulaceae), estando estas fortemente correlacionadas com o teor de areia grossa no solo (Tabela 4; Figura 2).

Os gradientes formados pelas parcelas de cerrado e campo pedregoso, mostraram pouca densidade de espécies exclusivas destes ambientes, sendo ocupados principalmente por espécies comuns a estes e aos demais habitats de estudo. Estas espécies foram: *Jacaranda caroba* (Bignoniaceae); *Bulbostylis paradoxa*, *Rhynchospora consanguinea* (Cyperaceae), *Mimosa foliolosa* (Leguminosae), *Hyptis rugosa* (Lamiaceae), *Cuphea* sp.2 (Lythraceae), *Microlicia* cf. *martiana* (Melastomataceae), *Axonopus siccus*, *Panicum polyphyllum* e *Trachopogon spicatus* (Poaceae) (Tabela 4; Figura 2). Dentre estas espécies a *Axonopus siccus* esteve correlacionada positivamente com os teores de Cu e negativamente correlacionada com os teores de silte, portanto apresentou maior abundância nas áreas de brejo turfoso. Para a *Jacaranda caroba* foi negativamente correlacionada com os teores de areia fina sendo, portanto mais abundante no habitat de brejo arenoso. As demais espécies ocuparam a

região central do diagrama da CCA e, portanto não sofreram restrições quanto ao seu desenvolvimento nos diferentes habitats estudados.

As parcelas do afloramento rochoso mostraram alta abundância de indivíduos de espécies encontradas somente nestas áreas destacando-se a família Velloziaceae onde das oito espécies relatadas neste estudo cinco só foram encontradas neste habitat, e ainda principalmente *Baccharis concinna*, *Dasyphyllum reticulatum*, *Richterago amplexifolia*, *Symphyopappus brasiliensis*, *Mikania* sp. (Asteraceae), *Rhynchospora* sp.1 (Cyperaceae), *Microstachys* sp. (Euphorbiaceae), *Byrsonima variabilis* (Malpighiaceae), *Andropogon villosus* (Poaceae). Estas espécies estiveram correlacionadas positivamente com os teores de silte (Tabela 4; Figura2).



**Figura 2** Diagrama de ordenação de análise de correspondência canônica (CCA) com amostras (Ro = afloramentos rochosos; Pb = brejo turfoso; Sb = brejo arenoso; Ce = cerrado; Qf = campo pedregoso), densidade das espécies de plantas (espécies) e propriedades do solo (setas). Nomes completos das espécies consultar Tabela 4.

## 6. DISCUSSÃO

A baixa condição nutricional dos solos encontrados neste estudo corrobora com os levantamentos realizados anteriormente em solos de campos rupestres na Serra do

Cipó (Ribeiro & Fernandes 2000, Benites 2003, Fernandes et al. 2007, Medina 2007, Negreiros et al. 2008).

O oligotrofismo destes solos é considerado uma condição natural e está relacionado às elevadas perdas que o sistema sofre por lixiviação, uma vez observado o relevo movimentado e a pouca espessura destes solos, associado à pobreza do material de origem - quartzito- (Benites et al. 2003).

Quanto à vegetação, as sete famílias com os maiores números de espécie encontradas neste estudo nos cinco habitats que constituem o mosaico de campos rupestres foram bem representadas em todos os levantamentos florísticos que incluíram áreas de campos rupestres na Bahia e em Minas Gerais (Andrade et al. 1986, Giuliatti et al. 1987, Conceição & Giuliatti 2002, Vitta 2002, Conceição & Pirani 2005, 2007, Mourão & Stehmann 2007).

As distinções entre as coberturas por espécies dominantes em cada habitat indicaram diferenças estruturais como verificados pelos cálculos das diversidades específicas de Shannon, que revelou uma maior diversidade nos afloramentos rochosos (2.74 nat/indivíduo) seguidos do cerrado (2.51 nat/indivíduo), brejo turfoso (2.02 nat/indivíduo), campo pedregoso (1.89 nat/indivíduo) e brejo arenoso (1.59 nat/indivíduo).

O grau estimado para a equabilidade nos habitats de cerrado (0.79) e afloramento rochoso (0.71) sugeriu alta uniformidade nas proporções do número de indivíduos/ número de espécies dentro da comunidade vegetal. Os menores valores de equabilidade foram encontrados nos habitats de brejo turfoso (0.64), campo pedregoso e brejo arenoso (0.58) e podem ser explicados pela maior concentração das espécies *Lagenocarpus rigidus* (Cyperaceae) *Axonopus siccus* e *Aristida* sp. (Poaceae) em brejo

turfoso, *Vellozia* sp. 8 (Velloziaceae) em campo pedregoso, e *Lagenocarpus rigidus* e *Rhynchospora terminalis* (Cyperaceae) em brejo arenoso (Tabela 4).

O habitat cerrado mostrou grande importância para a ocorrência da família Leguminosae onde, 63,6% das espécies relatadas para esta família esteve presente neste habitat sendo aproximadamente 86% deste total de ocorrência restrita (Tabela 4). Estes resultados demonstram a preferência desta família por substratos com partículas mais finas como argila e areia fina predominantemente encontrados nos habitats de cerrado (Tabela 4; Figura 2).

Estudos fitossociológicos direcionados aos afloramentos rochosos nos campos rupestres revelaram grande importância da família Velloziaceae (Conceição & Giulietti 2002, Conceição & Pirani 2005). Esta família inclui a maior porcentagem de espécies especialistas destes habitats (Barthlott & Porembski 2000), possuindo grande número de espécies tolerantes a dessecação (Meguro et al. 1977, Giulietti et al. 1987, Meirelles et al. 1997). Além disso, a ocorrência de espécies da família Velloziaceae está vinculada essencialmente ao substrato rochoso (Menezes 1984, Mello-Silva 1996), isto explica a alta densidade de *Vellozia* sp.8 em campos pedregosos e a maior ocorrência de espécies desta família em afloramentos rochosos neste estudo.

A presença de espécies exclusivas em habitats próprios no mosaico de campos rupestres como *Coccoloba cereifera* (Polygonaceae), *Syagrus pleiocada* (Arecaceae) *Calliandra fasciculata* (Leguminosae) além de espécies consideradas raras como *Paspalum falcatum* (Poaceae) evidencia a importância de delineamentos mais objetivos destes habitats. Torna-se úteis em estudos de processos ecológicos vinculados a ambientes específicos sendo fundamentais em estratégias de conservação em áreas consideradas ameaçadas como é o caso dos campos rupestres (Burman 1991, Giulietti et

al. 1987, 1997, Menezes & Giuliatti 2000, Ribeiro & Fernandes 2000, Vitta 2002, Viana et al. 2005).

Este trabalho visou contribuir com o estudo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó e reafirma a associação existente entre as peculiaridades do solo e a diversidade vegetal (Andrade et al. 1986, Giuliatti et al. 1987, 1997, Giuliatti & Pirani 1988, Alves & Kolbeck 1993, Conceição 2000, Conceição & Giuliatti 2002, Pirani et al. 2003, Conceição & Pirani 2005) já que a abundância de espécies de plantas foi significativamente correlacionada com as propriedades do solo, demonstrando ainda que a condição nutricional do solo pode ser limitante ou não dependendo da espécie vegetal (Chapin et al. 1986, 1991).

## **7. CONCLUSÃO**

O presente estudo confirmou a complexidade da vegetação de campos rupestres, onde variações das propriedades físico químicas do solo foram acompanhadas de espécies e habitats próprios, sugerindo que o elevado número de espécies na vegetação de campos rupestres tenha forte relação com a variada combinação de diferentes propriedades do solo.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves RJV, Kolbek J (1993) Penumbra rock communities in campo rupestre in Brazil. *J. Veg. Sci.* 4:357-366.
- Andrade PM, Gontijo TA, Grandi TSM (1986) Composição florística e aspectos estruturais de uma área de campo rupestre do Morro do Chapéu, Nova Lima, Minas Gerais, *Rev Bras Bot* 9:13-21.
- Bartholott W, Porembski S (2000) Vascular plants on inselbergs: systematic overview. In: Porembski S, Bartholott W. (eds) *Inselbergs. Ecological Studies.* vol. 146, Springer-Verlag, Berlin.
- Benites VM, Caiafa AN, Mendonça ES, Schaefer CEGR, Ker JC (2003) Soil and vegetation on the high altitude rocky complexes of the Mantiqueira and Espinhaço mountain. *Floresta Ambiente* 10:76-85
- Benites VM, Schaefer CEGR, Simas FNB, Santos HG (2007) Soils associated with rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. *Rev Bras Bot* 30:569-577
- Burman A (1991) Saving Brazil's savannas. *New Science* 1758:30-34
- Chapin FS III, Vitousek PM, van Cleve K (1986) The nature of nutrient limitation in plant communities. *Am. Nat.* 127:48-58.
- Chapin FS III (1991) The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11:233-260
- Cajo JF, Braak T (2002) CANOCO Reference Manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA.
- Conceição AA (2000) Alerta para a conservação da biota na Chapada Diamantina. *Ciência Hoje* 27:54-56.
- Conceição AA, Giuliatti AM (2002) Composição florística e aspectos estruturais de campo rupestre em dois platôs do Morro do Pai Inácio, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Hoehnea* 29:1:37-48.
- Conceição AA, Pirani JR (2005) Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Bol Bot Uni de São Paulo* 23:85-111

- Conceição AA, Pirani JR (2007) Diversidade em quatro áreas de campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: espécies distintas, mais riquezas similares. *Rodriguésia* 58:193-206
- Cronquist A (1981) *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press. New York.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) *Manual de métodos de análise de solo*, 2nd edn. Rio de Janeiro
- Fernandes GW, Rodarte LHO, Negreiros D, Franco AC (2007) Aspectos nutricionais em *Baccharis concinna* (Asteraceae), espécie endêmica e ameaçada da Serra do Espinhaço, Brasil. *Lundiana* 8:83:88
- Fundação Biodiversitas: [http://www.biodiversitas.org.br/rbse/serra\\_espinhaco.asp](http://www.biodiversitas.org.br/rbse/serra_espinhaco.asp)
- Giulietti AM, Menezes NL, Pirani JR, Wanderley MGL (1987) Flora da Serra do Cipó: caracterização e lista das espécies. *Bol Bot* 9:1-151
- Giulietti AM, Pirani JR (1988) Patterns of Geographic Distribution of Some Plantas Species From The Espinhaco Range, Mg - Ba, Brazil. In: Vanzoline PE, Heyer WR (eds) *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, pp 39-69
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM (1997) Espinhaço range region, eastern Brazil. In: Davis SD, Heywood VH, Herrera-Macbryde O, Villa-Lobos J, Hamilton AC (eds) *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for their Conservation*. Cambridge: IUCN Publication Unity, pp 397-404
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP, Wanderley MGL, Pirani JR (2000) Caracterização de endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. In: Cavalcanti TB, Walter BTM (eds) *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília: SBB/Embrapa, pp 311-318
- Magurran AE (1988) *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press. New Jersey.
- Madeira JA, Fernandes GW (1999) Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* Leguminosae in Serra do Cipó. *Brazil J Trop Ecol* 15:463-479
- Medina BMO (2004) *Potencial regenerativo dos solos da Serra do Cipó, MG*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

- Medina BMO, Fernandes GW (2007) The potencial of natural regeneration of rocky outcrop vegetation on rupestrian field soils in “Serra do Cipó”, Brasil. *Rev Bras Bot* 30:665-678.
- Meguro M, Joly CA, Bittencourt MM (1977) *Stress* hídrico e alguns aspectos do comportamento fisiológico em *Xerophyta plicata* Spreng. - Velloziaceae. *Bol. Bot. Univ. São Paulo* 5:27-42.
- Meirelles ST, Mattos EA, Silva AC (1997) Potential desiccation tolerant vascular plants from Southeastern Brazil. *Polish Journal of Environmental Studies* 6(4): 17-21
- Melo AS, Hepp LU (2008) Ferramentas estatísticas para análises de dados provenientes de biomonitoramento. *Oecologia Brasiliensis* 12:463-486, 2008
- Mello-Silva R (1996) Revisão das *Vellozia* tubifloras (*Vellozia* sect. *Radia*) e caracteres para o aprimoramento da filogenia de Velloziaceae. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo
- Menezes NL (1984) Características anatômicas e a filogenia, na família Velloziaceae. Tese Livre de Docência, Universidade de São Paulo, São Paulo
- Menezes NL, Giulietti AM (1986) Campos rupestres: paraíso botânico na Serra do Cipó. *Ciência Hoje* 5:38-44
- Menezes NL, Giulietti AM (2000) Campo Rupestre. In: Mendonça MP, Lins LV (eds) Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção de Minas Gerais. Fundação Biodiversitas e Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. pp 76-83
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GA, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858.
- Mourão A, Stehmann JR (2007) Levantamento da flora do campo rupestre sobre canga hematítica couraçada remanescente na Mina do Brucutu, Barão de Cocais, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 58:775:786
- Negreiros D, Moraes MLB, Fernandes GW (2008) Caracterização da fertilidade do solo de quatro leguminosas de campos rupestres, Serra do Cipó, MG, Brasil. *Journal of soil science and plant nutrition*. 8:30-39
- Negreiros D, Fernandes GW, Silveira FAO, Chalub C (2009) Seedling growth and biomass allocation of endemic and threatened shrubs of rupestrian fields. *Acta oecologica* 35:301-110
- Pirani JR, Mello-Silva R De, Giulietti AM (2003) Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais, Brasil. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 21:1-24

- Ribeiro KT, Fernandes GW (2000) Patterns of abundance of a narrow endemic species in a tropical and infertile montane habitat. *Plant Ecology* 147:205-218
- Silva FC, Eira PA, van Raij B, Silva CA, Abreu CA, Gianello C, Pérez DV, Quaggio JÁ, Tedesco MJ Abreu MF, Barreto WO (1999) Análises químicas para a avaliação da fertilidade do solo. In: Silva FC (Ed) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, Embrapa, Brasília, pp75-169
- Tedesco MJ, Gianello C, Bissani CA, Bohnen H, Volkweiss SJ (1995) Análise de solo, plantas e outros materiais. 2nd Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Viana LR, Fernandes GW, Silva CA (2005) Ecological road threatens endemic Brazilian plant with extinction. *Plant Talk* 41:15
- Vitta FA (2002) Diversidade e conservação da flora nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais. In: Araújo EL, Moura NA, Sampaio EVSB, Gestinari LMS, Carneiro JMT (eds) Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil Sociedade Botânica do Brasil, UFPE, Recife, Brasil, pp 90-94.

## CAPÍTULO 2

### OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES EM CAMPOS RUPESTRES

#### 1. RESUMO

A alta diversidade e endemismo da vegetação em campos rupestres têm sido explicados pelo mosaico de ambientes formados pela constituição e propriedades de diversos tipos de solos, relevo acidentado e variação microclimática. Embora possam ser detectados avanços no conhecimento de algumas áreas da biologia em campos rupestres, pouco se conhece da relevância dos microorganismos do solo e da relação destes com a vegetação. Dentre as interações microrganismo-planta, a simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) está entre as mais bem estudadas, já que estes contribuem para a sustentabilidade dos ecossistemas. O objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência e a diversidade de espécies de FMA e avaliar a relação dessa diversidade com as características físico-químicas dos solos, e com a diversidade de plantas nos diferentes habitats constituintes do mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, Brasil. O mosaico de campo rupestre foi delimitado em cinco habitats distintos: brejo arenoso, brejo turfoso, afloramento rochoso, campo pedregoso e cerrado. Foram identificadas 49 espécies de FMA, pertencentes a nove famílias e 12 gêneros, sendo *Acaulospora colossica* e *Pacispora dominikii* citadas pela primeira vez no Brasil. Os resultados deste estudo sugerem que a diversidade dos FMA está relacionada com a heterogeneidade existente entre os habitats e que características físicas do solo têm influência na estruturação das comunidades destes fungos. Considerando que estes habitats constituem um dos ecossistemas mais ameaçados do planeta, o levantamento realizado fornece informações importantes para um melhor conhecimento da biodiversidade de campos rupestres

## CHAPTER 2

### OCURRENCE AND DIVERSITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGY IN RUPESTRIAN FIELDS

#### 2. ABSTRACT

High diversity of rupestrian fields vegetation endemism has been explained due to mosaic of environment formed by the constitution and properties of several kinds of soil, rugged relief and microclimatic variation. Although advances in knowledge of some biology areas in rupestrian fields may be detected, little is known about the relevance of soil microorganisms and their relationship with vegetation. Among the interactions microorganism-plant, symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is among the most studied ones, once they contribute for ecosystems sustainability. This study aimed to investigate occurrence and diversity of AMF species and evaluate the relationship of this diversity with soil physicochemical characteristics, and plant diversity in different habitats constituting the mosaic of rupestrian fields from Cipó mountain range, Brazil. The mosaic of rupestrian fields was delimitedated into five distinct habitats: rock outcrop, quartz fields, sandy bogs, peaty bogs and cerrado. 49 species de AMF were identified, pertaining to nine families and 12 genera, being *Acaulospora colossica* and *Pacispora dominikii* first time cited in Brazil. The results of this study suggest diversity of AMF is related to current heterogeneity between habitats and that soil physical characteristic influentiates the structure of these fungi communities. Considering these habitats constitute one of the most menaced ecosystems in the planet, the survey made, supply relevant information for better knowing rupestrian fields biodiversity.

### **3. INTRODUÇÃO**

A estruturação de comunidades biológicas complexas e sua manutenção têm sido objeto de grande atenção por parte dos pesquisadores. Apesar disso, os mecanismos e os processos que determinam a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas, assim como suas mudanças, ainda não são totalmente compreendidos. Menos compreendidos ainda são os processos e mecanismos que atuam moldando o mosaico de ambientes encontrados em montanhas tropicais.

A Cadeia do Espinhaço tem cerca de mil quilômetros e alta riqueza de espécies vegetais e animais. Possui uma mistura de importantes tipos de vegetação, que incluem manchas de Caatinga e áreas de Mata Atlântica e Cerrado, biomas considerados hotspots mundiais (Myers 2000). Situada na parte sul da Cadeia do Espinhaço, a Serra do Cipó é creditada como pertencente ao bioma Cerrado, e geralmente acima da quota de 900 metros do nível do mar predominam os campos rupestres, o qual é considerado um dos locais de maior diversidade biológica e de paisagens (Giulietti et al. 1987).

Os campos rupestres compreendem um ecossistema de características singulares, reconhecidos por sua grande riqueza em espécies vegetais e endemismos (Joly 1970, Burman 1991, Giulietti et al. 1987, 1997, 2000, Menezes & Giulietti 2000, Giulietti & Pirani 1988, Vitta 2002, Benites 2003, 2007, Conceição & Pirani 2007). Estima-se que o número de espécies vegetais possa chegar a 3000, sendo que destas aproximadamente 30% trata-se de táxons exclusivos (Giulietti et al. 1997).

Os campos rupestres são formados por um rico mosaico de habitats discernidos pela configuração do solo, continuidade da vegetação, composição florística, proporção de rocha exposta, presença de blocos de rocha e de sedimentos arenosos, podendo permanecer secos ou periodicamente encharcados na estação chuvosa (Conceição 2000,

Conceição & Pirani 2005, 2007) compreendida entre os meses de novembro a janeiro (Madeira & Fernandes 1999).

O solo, por ser pobre em nutrientes e apresentar pouca espessura (Ribeiro & Fernandes 2000, Benites et al. 2003), é um dos fatores moduladores dos diferentes tipos de fitofisionomias da Serra do Cipó, e os aspectos das interações solo-planta têm sido revelados gradativamente (Ribeiro & Fernandes 2000, Negreiros et al. 2008, 2009).

A participação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na diversidade e no funcionamento dos ecossistemas tem sido reconhecida, principalmente devido ao seu efeito sobre a diversidade de plantas e na produtividade (de Souza et al. 2008). Vários autores relatam relações positivas entre a diversidade de plantas e a colonização micorrízica (Grime et al. 1987, van der Heijden et al. 1998). Portanto, a presença de FMA pode ser essencial para a sustentabilidade dos ecossistemas, no desenvolvimento das plantas e na manutenção da diversidade biológica.

Os FMA (Glomeromycota) são os simbiossiontes mais comuns de raízes de plantas (Smith & Read 1997). Estes fungos estabelecem relações mutualísticas com aproximadamente 80% das espécies vegetais, agindo como uma extensão do sistema radicular das plantas, contribuindo para uma maior absorção e utilização dos nutrientes do solo (Siqueira et al. 2002). Eles auxiliam na translocação de nutrientes, disponibilizando-os, para as células do córtex de raízes de plantas micotróficas (de Souza et al. 2008). Em leguminosas, a associação micorrízica favorece a nodulação e a fixação do nitrogênio (Siqueira et al. 2002), amplia a capacidade de absorção de água e aumenta a resistência do sistema radicular da planta ao ataque de patógenos (Jeffries et al. 2003, Berbara et al. 2006, Moreira & Siqueira 2006, de Souza et al. 2008).

Os FMA formam um grupo diverso, tanto em termos de número de espécies como em função. Cento e vinte e duas espécies de FMA são conhecidas no Brasil, o que

representa aproximadamente 56% da diversidade total (216 espécies) conhecida deste grupo no mundo (de Souza et al. 2008). Todavia, os estudos são restritos a algumas formações vegetais ou ecossistemas. Na tentativa de melhor entender o funcionamento e a diversidade de FMA associado à flora extremamente rica e endêmica dos campos rupestres ,buscou-se pela primeira vez pesquisar a composição específica das comunidades de FMA e avaliar a relação da diversidade destes organismos com características físico-químicas dos solos e com a diversidade de plantas nos diferentes habitats do mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, Brasil.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido na Reserva Particular Vellozia localizada próximo ao Parque Nacional da Serra do Cipó, inserida na Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira em Santana do Riacho, Minas Gerais. O clima da região é do tipo tropical de altitude com verões frescos e estação seca bem definida compreendida pelos meses de maio a setembro. As temperaturas médias anuais ficam em torno de 21,2 °C e a precipitação média anual é de 1.622 mm (Madeira & Fernandes 1999).

Utilizando fatores ambientais discriminatórios subdividiu-se o mosaico de campo rupestre em cinco habitats (Figura 1 do capítulo 1). Para cada habitat foram demarcadas três parcelas de 50m x 20m (Tabela 1) subdivididas em cinco subparcelas de 5m x 5m, com o objetivo de melhor amostrar os locais de estudo, os quais sofrem mudanças bruscas em curto espaço (Conceição & Pirani 2007) totalizando 15 parcelas por habitat. A coleta de solo foi realizada no início do mês de setembro (estação seca) (Madeira & Fernandes 1999), na profundidade de 0 – 20 cm.

Em cada subparcela foi coletado uma amostra com aproximadamente 1kg de solo. As subparcelas constituintes de cada parcela formaram uma amostra composta, totalizando

três amostras de solo por habitat. As amostras de solo foram homogeneizadas, secas ao ar e acondicionadas em sacos plásticos, os quais foram mantidos em câmara fria e posteriormente encaminhados para Embrapa Solos e Embrapa Agrobiologia para a realização das análises físico-químicas e extração de esporos dos FMA, respectivamente.

**Tabela 1** Principais características dos distintos habitats de campo rupestre da Serra do Cipó, Brasil

Habitats	Principais características	Posição geográfica		Altitude (m)
		S	W	
Brejo arenoso (Sb)	Sb <sub>1</sub>	19° 16' 50,2''	43° 35' 27,7''	1158
	Sb <sub>2</sub>	19° 16' 47,5''	43° 35' 24,2''	1173
	Sb <sub>3</sub>	19° 16' 46,1''	43° 35' 23,2''	1154
Brejo turfoso (Pb)	Pb <sub>1</sub>	19° 16' 53,0''	43° 35' 26,6''	1138
	Pb <sub>2</sub>	19° 16' 54,4''	43° 35' 29,0''	1146
	Pb <sub>3</sub>	19° 17' 10,4''	43° 35' 34,0''	1179
Afloramentos rochosos (Ro)	Ro <sub>1</sub>	19° 17' 15,2''	43° 35' 39,2''	1163
	Ro <sub>2</sub>	19° 17' 07,9''	43° 35' 44,8''	1175
	Ro <sub>3</sub>	19° 17' 04,1''	43° 35' 39,9''	1121
Campo pedregoso (Qf)	Qf <sub>1</sub>	19° 17' 09,0''	43° 35' 20,0''	1182
	Qf <sub>2</sub>	19° 17' 10,0''	43° 35' 15,1''	1194
	Qf <sub>3</sub>	19° 17' 04,1''	43° 35' 37,7''	1192
Cerrado (Ce)	Ce <sub>1</sub>	19° 16' 55,0''	43° 35' 35,8''	1150
	Ce <sub>2</sub>	19° 16' 57,7''	43° 35' 40,0''	1173
	Ce <sub>3</sub>	19° 17' 04,1''	43° 35' 37,7''	1192

A análise granulométrica dos solos (frações areia grossa, areia fina, silte e argila) foi realizada conforme metodologia descrita pela Embrapa (1997). O pH em água foi medido utilizando-se as proporções 1:2,5 (v/v) de solo:solução. O teor de carbono orgânico foi determinado pelo método de Walkley-Black. A matéria orgânica foi estimada a partir do teor de carbono orgânico multiplicado por 1,724. Os cátions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Al}^{3+}$  trocáveis foram extraídos por solução de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e determinados por titulação com EDTA 0,01 mol/L e os teores  $\text{Al}^{3+}$  por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup> conforme Silva et al. (1999). Os elementos P, K, Na, Zn, Fe, Mn, Cu foram extraídos por solução Mehlich 1, sendo os teores de P nos extratos determinados por colorimetria, K e Na por fotometria de chama e Zn, Fe, Mn e Cu por absorção atômica conforme Silva et al. (1999). A concentração de N no solo foi avaliada, seguindo o método Kjeldhal descrito por Tedesco et al. (1995).

De cada amostra composta do solo retirou-se três sub-amostras de 50 mL de solo para as extrações dos esporos pela técnica de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson 1963), utilizando peneiras com malhas de 720 e 38 mm, seguida por centrifugação em água e sacarose (Jenkins 1964). Após a contagem, os esporos foram colocados em lâminas com álcool polivinil em lactoglicerol (PVLG) e quebrados, delicadamente sob a lamínula, para a exposição das paredes internas. Na mesma lâmina um segundo grupo de esporos foi montado com PVLG + reagente de Melzer (1:1), sob outra lamínula. Os resultados da reação de cor ao reagente de Melzer foram utilizados para caracterizar as paredes dos esporos, melhorando, em alguns casos, a visibilidade, especialmente daqueles esporos com paredes aderentes ou muito finas. Os esporos foram então identificados e contados por espécie. A identificação das espécies de FMA das amostras coletadas em campo foi baseada em descrições contidas no manual de identificação de Schenck & Pérez (1990), em bancos de dados de coleções de cultura

(International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizal Fungi, INVAM: <http://invam.caf.wvi.edu>; Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Glomeromycota), *Endogone* and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland: <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski>) e na página pessoal do pesquisador Arthur Schußler (<http://www.amf-phylogeny.com>). A interpretação das características taxonômicas foi feita mediante observações em microscópio óptico com iluminação de campo-claro e objetiva de imersão.

Estimou-se a densidade de esporos de FMA(D) por meio do número dos esporos em 50 mL de solo e a densidade específica de esporos (DE) como sendo o número de esporos de FMA produzidos por cada espécie. A riqueza de espécies de FMA foi avaliada pelo número de espécies presentes em 50 mL de solo seco. A diversidade foi estimada a partir do índice de Shannon.

Os atributos físico químicos dos solos, os dados de densidade de esporos e de diversidade foram submetidos a análises de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

A análise de componentes principais (ACP) foi realizada com as 49 espécies de FMA a fim de demonstrar a ordenação destas nos diferentes habitats de campo rupestre, além de identificar quais das propriedades do solo mostraram-se correlacionadas com as espécies. O programa utilizado foi o CANOCO version 4.5.

Para se conhecer a diversidade florística de cada habitat, foram feitos levantamentos de julho/2006 a dezembro/2008 em todas as subparcelas conforme descrito no capítulo 1. Para avaliar a diversidade florística dos habitats foi utilizado o índice de Shannon. O número de espécies de plantas foi usado para determinar a riqueza de espécies em cada

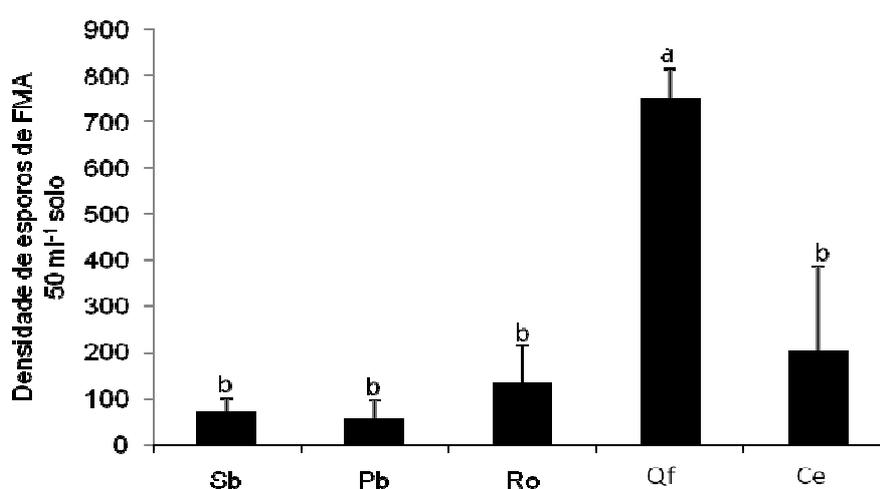
habitat. Correlação de Sperman foi utilizada para determinar a relação entre a riqueza de espécies de FMA e a riqueza de plantas.

## 5. RESULTADOS

Os solos avaliados possuem em geral acidez elevada com baixos teores de macronutrientes e micronutrientes e valores médios para MO (Tabela 2). Os brejos turfosos e o cerrado apresentaram teores significativamente mais elevados de N,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . Os teores de Fe, assim como os de Mn, foram significativamente maiores nos brejos turfosos e cerrado, respectivamente, em relação aos demais habitats avaliados. Houve uma tendência dos solos estudados apresentarem níveis críticos de saturação de  $\text{Al}^{3+}$ , exceto nos afloramentos rochosos, onde os níveis foram mais altos (Tabela 2).

As texturas dos solos foram predominantemente arenosa sendo a textura média atribuída apenas no cerrado (Tabela 3). A fração silte foi a única a não apresentar diferenças significativas entre os habitats avaliados (Tabela 3).

A densidade de esporos foi consistentemente mais alta nos brejos arenosos quando comparada com os demais habitats estudados. A menor densidade de esporos foi observada no brejo turfoso (Figura 2).



**Figura 2** Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares nos diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = brejo turfoso; Ro = afloramento rochoso; Qf = campo pedregoso e Ce = cerrado) No gráfico barras com mesma letra indica que os valores não foram significativos pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).

**Tabela 2** Propriedades químicas dos solos dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG

Habitats	pH H <sub>2</sub> O	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup> cmol <sub>c</sub> /kg	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>	P mg/kg	C g/kg	MO	N	Cu	Fe mg/kg	Mn	Zn
Brejo arenoso	4.2b	0.2b	0.2b	0.04a	0.01a	1.93a	2a	8.3a	13.5a	0.7b	1.05a	79.73b	0.35b	1.85a
Brejo turfoso	4.9a	0.4a	0.4a	0.08a	0.02a	0.93b	3a	19.9a	34.6a	1.5a	0.52a	152.33a	1.27b	0.32a
Afloramentos rochosos	4.1b	0.2b	0.2b	0.07a	0.01a	0.97b	2a	11.8a	20.3a	0.9b	0.21a	66.33b	0.47b	0.32a
Campo pedregoso	4.4b	0.2b	0.2b	0.05a	0.01a	0.90b	3a	13.7a	23.2a	0.8b	0.26a	59.30b	0.82b	0.88a
Cerrado	5.0a	0.3a	0.3a	0.11a	0.02a	0.66b	2a	19.7a	26.1a	1.7a	1.26a	44.70b	5.92a	0.37a
Coefficiente de variação	5.9	34.0	34.0	31.2	48,6	42.5	48.3	44.7	44.7	37.2	91.2	38.3	50.0	196.4
F	7.4**	4.1*	4.1*	3.6*	1.2 <sup>ns</sup>	3.4*	1.4 <sup>ns</sup>	2.2 <sup>ns</sup>	2.2 <sup>ns</sup>	3.3*	1.8 <sup>ns</sup>	5.6*	21.7**	0.7 <sup>ns</sup>

Os dados são apresentados como média de três repetições por tipo de habitat estudado. Diferenças não significativa (ns) entre os habitats estudados são representadas por letras idênticas. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 1% (\*\*\*) e 5% (\*).

**Tabela 3** Caracterização granulométrica e classificação textural dos solos dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG

Habitats	Cascalho	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Textura do solo
	g/kg					
Brejo arenoso	122c	293a	487a	198a	20b	Franco arenoso
Brejo turfoso	70d	172b	529a	271a	27b	Franco arenoso
Afloramento rochoso	226b	107b	507a	352a	33b	Franco arenoso
Campo pedregoso	470a	266a	470a	243a	20b	Franco arenoso
Cerrado	7e	183b	270b	293a	299a	Franco argiloso
Coefficiente de variação	13.7	14.9	13.0	24.9	95.4	
F	162.9**	23.2**	9.5**	2.1ns	7.3**	

Os dados são apresentados como média de três repetições por tipo de habitat estudado. Diferenças não significativa (ns) entre os habitats estudados são representadas por letras idênticas. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 1% (\*\*\*) e 5% (\*).

Quarenta e nove espécies de FMA foram encontradas nas amostras de solo nos cinco habitats avaliados neste estudo (Tabela 4). Foram detectadas 19 espécies do gênero *Glomus* (*Glomeraceae*), 13 espécies de *Acaulospora*, e uma de *Kuklospora* (*Acaulosporaceae*). Também foram encontradas quatro espécies de *Scutellospora* (*Scutellosporaceae*), duas espécies de *Fuscutata* e uma de *Dentiscutata* (*Dentiscutaceae*), uma de *Racocetra* e uma de *Cetraspora* (*Racocetraceae*). As últimas três famílias assim como os cinco gêneros citados foram recentemente descritos, a partir de uma revisão do gênero *Scutellospora* Walker & Sanders (Oehl et al. 2008), que anteriormente pertencia à família *Gigasporaceae* (Morton & Benny 1990). No presente estudo, *Gigasporaceae* foi representada por duas espécies, *Pacisporaceae* por duas e *Ambisporaceae* e *Paraglomeraceae*, por uma. Pode-se observar, de modo geral, uma maior proporção na ocorrência do gênero *Glomus* seguido de *Acaulospora* em todos os habitats avaliados (Tabela 5).

**Tabela4** Espécies de FMA detectadas nos diferentes habitats de campos rupestres da Serra do Cipó, MG

Abbrev.	Espécies de FMA	Brejo arenoso	Brejo turfoso	Afloraamento rochoso	Campo pedregoso	Cerrado
<i>Acaulosporaceae</i>						
<i>Abi</i>	<i>Acaulospora aff. bireticulata</i>				x	
<i>Aca</i>	<i>A. cavernata</i>	x		x	x	x
<i>Aco</i>	<i>A. colossica</i>		x			
<i>Ade</i>	<i>A. delicata</i>				x	
<i>Ako</i>	<i>A. koskei</i>	x	x	x	x	
<i>Alo</i>	<i>A. longula</i>	x	x			
<i>Ame</i>	<i>A. mellea</i>		x		x	x
<i>Amo</i>	<i>A. morrowiae</i>	x	x	x	x	x
<i>Aru</i>	<i>A. rugosa</i>				x	
<i>Asc</i>	<i>A. scrobiculata</i>			x		x
<i>Asp</i>	<i>A. spinosa</i>					x
<i>Asp1</i>	<i>Acaulospora</i> sp. 1		x			
<i>Asp2</i>	<i>Acaulospora</i> sp. 2		x			
<i>Kco</i>	<i>Kuklospora colombiana</i>		x			
<i>Ambisporaceae</i>						
<i>Aap</i>	<i>Ambispora appendicula</i>	x	x		x	
<i>Abr</i>	<i>Ambispora brasiliensis</i>		x		x	
<i>Dentiscutaceae</i>						
<i>Dbi</i>	<i>Dentiscutata biornata</i>	x		x	x	x
<i>Dhe</i>	<i>Fuscutata heterogama</i>		x	x		x
<i>Fru</i>	<i>Fuscutata rubra</i>					x
<i>Gigasporaceae</i>						
<i>Gde</i>	<i>Gigaspora decipiens</i>					x
<i>Gma</i>	<i>G. margarita</i>			x	x	
<i>Glomeraceae</i>						
<i>Gcla</i>	<i>Glomus claroideum</i>		x	x	x	
<i>Gcl</i>	<i>G. clarum</i>			x	x	x
<i>Gco</i>	<i>G. constrictum</i>		x			
<i>Gdi</i>	<i>G. diaphanum</i>		x		x	
<i>Get</i>	<i>G. etunicatum</i>	x	x	x	x	x
<i>Gfa</i>	<i>G. fasciculatum</i>	x			x	x
<i>Gge</i>	<i>G. geosporum</i>	x				
<i>Ggl</i>	<i>G. glomerulatum</i>	x	x		x	x
<i>Gin</i>	<i>G. aff. insculptum</i>	x			x	x
<i>Ginv</i>	<i>G. invermaium</i>	x	x	x	x	x
<i>Gla</i>	<i>G. lamellosum</i>				x	
<i>Gma</i>	<i>G. macrocarpum</i>	x	x	x	x	x
<i>Gmi</i>	<i>G. microaggregatum</i>	x	x	x	x	
<i>Gmic</i>	<i>G. microcarpum</i>			x	x	x
<i>Gmu</i>	<i>G. aff. multiforum</i>	x		x	x	
<i>Gmo</i>	<i>G. mosseae</i>				x	
<i>Gpe</i>	<i>G. aff. pellucidum</i>			x		
<i>Gve</i>	<i>G. aff. verruculosum</i>					x
<i>Gsp</i>	<i>Glomus</i> sp.			x	x	
<i>Pacisporaceae</i>						
<i>Pdo</i>	<i>Pacispora dominikii</i>	x				
<i>Pro</i>	(cf) <i>P. robiginia</i>	x			x	x
<i>Paraglomeraceae</i>						
<i>Poc</i>	<i>Paraglomus occultum</i>			x	x	
<i>Scutellosporaceae</i>						
<i>Sca</i>	<i>S. calospora</i>	x	x	x	x	x
<i>Sdi</i>	<i>S. dipurpurescens</i>	x			x	
<i>Spe</i>	<i>S. pernambucana</i>		x	x	x	x
<i>Scu</i>	<i>Scutellospora</i> sp. 1				x	
<i>Racocetraceae</i>						
<i>Rfu</i>	<i>Racocetra fulgida</i>			x	x	x
<i>Cgi</i>	<i>Cetraspora gilmorei</i>					x

**Tabela 5** Gêneros e riqueza de espécies de FMA encontradas nos cinco habitats que constituem o mosaico de campos rupestres da Serra do Cipó, MG

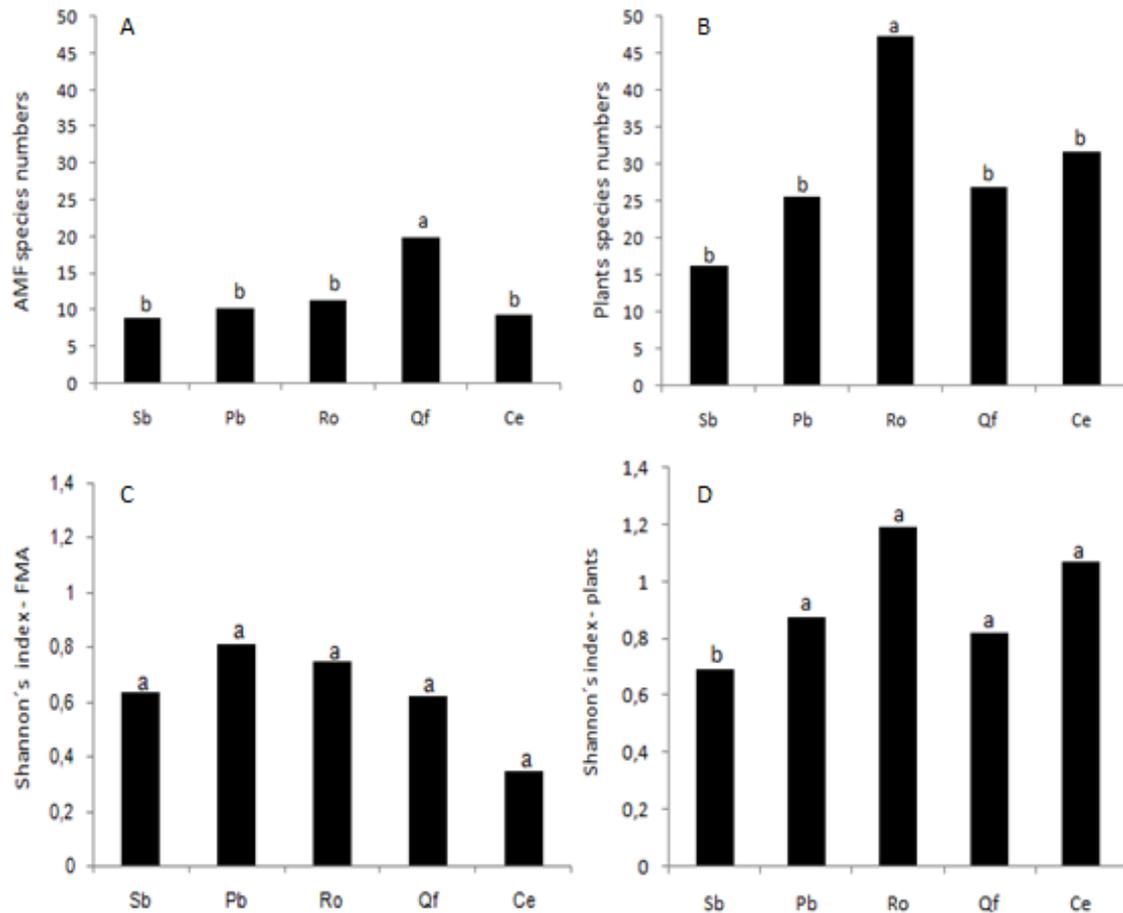
	Sb	Pb	Ro	Qf	Ce	Soma de Sb, Pb, Ro, Gf, Ce
<i>Acaulosporaceae</i>						
<i>Acaulospora</i>	4	8	4	8	5	13
<i>Kuklospora</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Ambisporaceae</i>						
<i>Ambispora</i>	1	1	0	1	0	1
<i>Dentiscutataceae</i>						
<i>Dentiscutata</i>	1	0	1	1	1	1
<i>Fuscutata</i>	0	1	2	0	1	2
<i>Gigasporaceae</i>						
<i>Gigaspora</i>	0	0	1	1	1	2
<i>Glomeraceae</i>						
<i>Glomus</i>	9	8	10	15	9	19
<i>Pacisporaceae</i>						
<i>Pacispora</i>	2	0	0	1	1	2
<i>Paraglomeraceae</i>						
<i>Paraglomus</i>	0	0	1	1	0	1
<i>Scutellosporaceae</i>						
<i>Scutellospora</i>	2	2	2	4	2	4
<i>Racocetraceae</i>						
<i>Racocetra</i>	0	0	1	1	1	1
<i>Cetraspora</i>	0	0	0	0	1	1
Total species richness	19	21	21	33	23	49

*Sb brejo arenoso, Pb brejo turfoso, Ro afloramento rochoso, Qf Campo pedregoso, Ce cerrado*

A densidade média de espécies detectada nos habitats avaliados foi significativamente maior nos campos pedregosos (20) em relação aos encontrados nos afloramentos rochosos (11), brejos turfosos (10), cerrado (9) e brejos arenosos (9) (Figura 3A).

Os índices de diversidade não apresentaram diferenças significativas entre os cinco habitats que constituem o mosaico dos campos rupestres; porém pode-se notar variações mais ou menos acentuadas na composição das comunidades dos fungos micorrízicos (Figura 3C). Esta composição diferenciada entre os habitats investigados pode ser observada discretamente no diagrama da ACP (Figura 4), onde os dois primeiros eixos explicaram 36,5% do total da variância (Eixo 1 = 24,4%, Eixo 2 = 12,1%). Os campos pedregosos foram separados dos demais habitats pelo eixo 2 demonstrando uma maior abundância de espécies de FMA. Os demais habitats formaram um grupo mais próximo

ao centro do gráfico de ordenação excetuando duas parcelas: uma de cerrado e a outra de brejo turfoso (Figura 5).

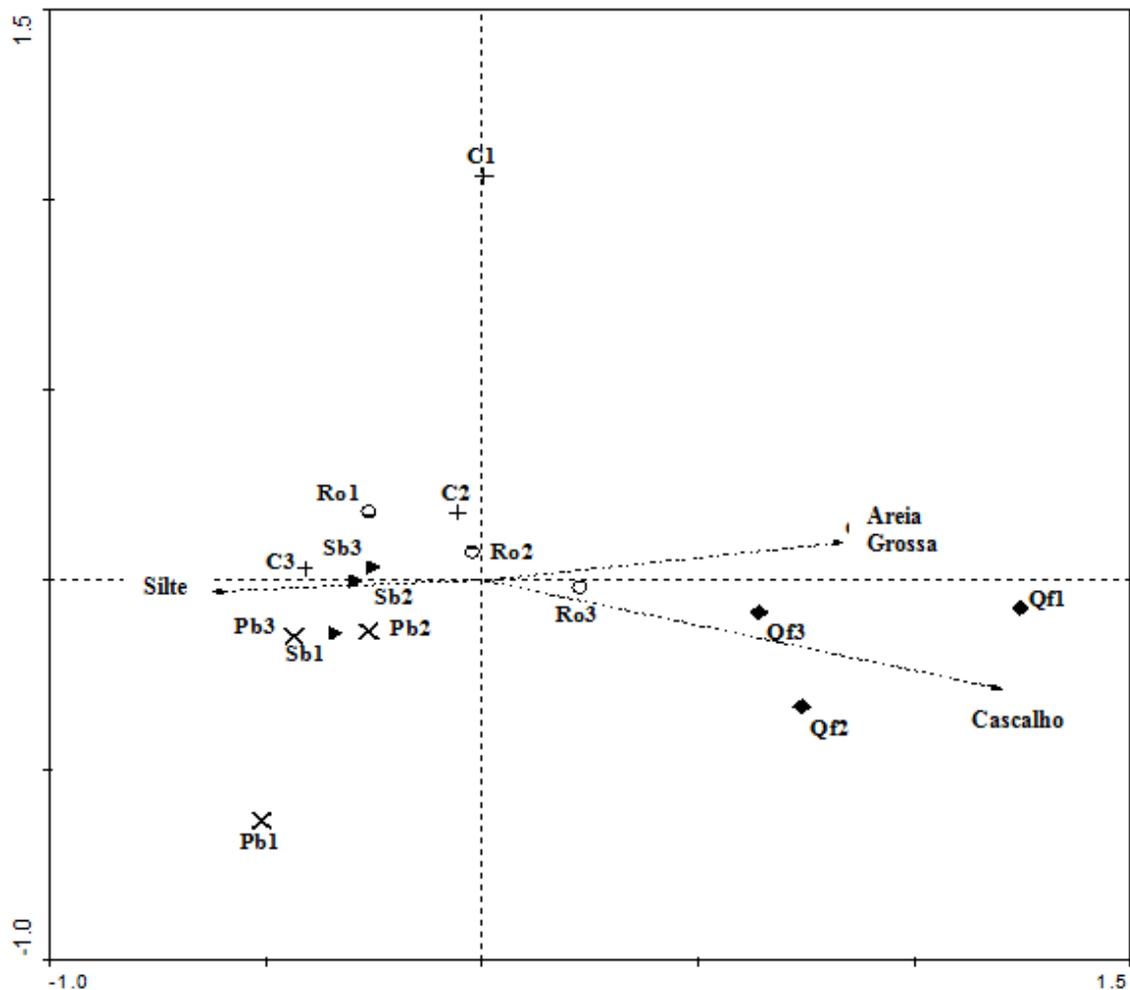


**Figura 3** Densidade média de espécies de FMA (A), número médio de plantas (B), Índice de diversidade de Shannon (base ln) de FMA (C) e de plantas (D) nos diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = brejo turfoso; Ro = afloramento rochoso; Qf = campo pedregoso; Ce = cerrado) No gráfico barras com mesma letra indica que os valores não foram significativos pelo teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).

Apesar de não tão clara a separação dos habitats no gráfico de ordenação da ACP, as comunidades de FMA apresentaram importantes peculiaridades, sendo que somente cinco espécies (*Acaulospora morrowiae*, *Scutellospora calospora*, *Glomus etunicatum*,



Brasil em ecossistemas distintos, como Cerrado, Dunas, Floresta Atlântica e Floresta de Araucária (Stürmer & Siqueira 2008), o que demonstra larga amplitude ecológica (Tabela 4).



**Figura 5** Diagrama de ordenação (ACP) dos cinco diferentes habitats de campo rupestre (Sb = brejo arenoso; Pb = Brejo turfoso; Ro = afloramentos rochosos; Qf = campo pedregoso; C = cerrado) com atributos significativos do solo plotados .

O cerrado também apresentou cinco espécies exclusivas, no entanto, três (*Acaulospora spinosa*, *Gigaspora decipiens*, *Cetraspora gilmorei*) apresentam ampla distribuição no Brasil. *Fuscutata rubra* descrita a partir de material isolado em plantações de eucaliptos no Brasil (Stürmer & Morton 1999), esteve presente neste habitat. A identidade de *Glomus aff. verruculosum* não pode ser confirmada por causa

do baixo número de esporos encontrados, e vale ressaltar que a ocorrência de *Glomus verruculosum* ainda não foi registrada no Brasil (Tabela 4).

Em campos pedregosos ocorreram quatro espécies exclusivas. Destas *Scutellospora* sp. é uma espécie ainda não descrita e *Acaulospora* aff. *bireticulata*, uma espécie de identidade incerta, que apresenta ornamentação muito parecida com a de *A. bireticulata* mas é muito mais clara (amarelo). *Glomus mosseae* apresenta-se amplamente distribuída no Brasil, ocorrendo em ecossistemas de Cerrado, Floresta Atlântica, Caatinga, Araucária e agroecossistemas (Stürmer & Siqueira 2008) e *Glomus lamellosum* tem ocorrência mais restrita (Tabela 4).

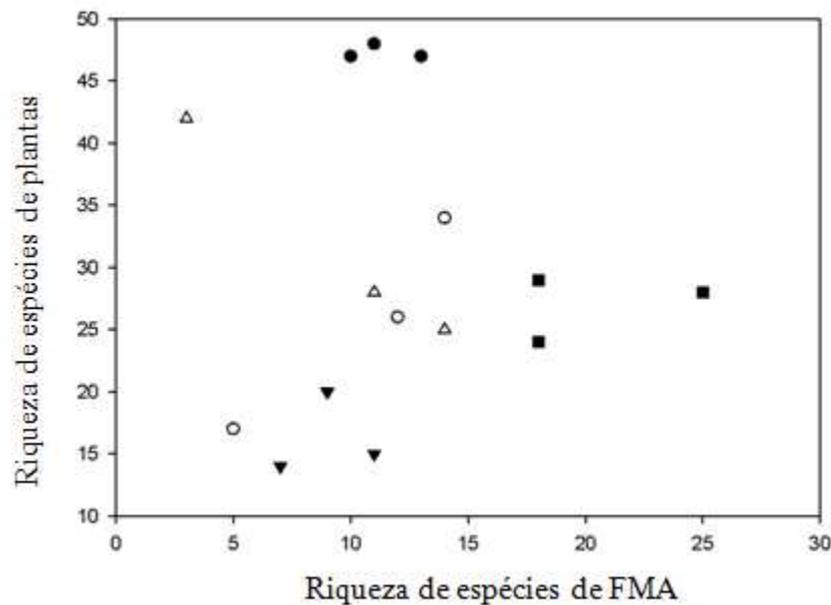
Nos brejos arenosos registrou-se a ocorrência de duas espécies exclusivas, *Glomus geosporum* espécie relatada em vários ecossistemas brasileiros (Stürmer & Siqueira 2008), e *Pacispora dominikii*, registrada pela primeira vez no Brasil (Tabela 4).

*Glomus* aff. *pellucidum* foi a única espécie exclusiva encontrada nos afloramentos rochosos. A identidade desta espécie não foi confirmada por causa do baixo número de esporos e a não realização da reação em Melzer. Convém ressaltar que não existem registros de *Glomus pellucidum* para o Brasil (Tabela 4).

Foram identificadas 171 espécies de plantas, distribuídas em 110 gêneros e 44 famílias, nos cinco habitats que constituem o mosaico de campo rupestre (Capítulo 1). O número médio de espécies de plantas foi significativamente maior nos afloramentos rochosos (47), em comparação aos demais habitats, cerrado (31), campo pedregoso (27), brejo turfoso (26), e finalmente 16 espécies em brejo arenoso (Figura 3B)

O índice de diversidade de Shannon revelou maior diversidade nos afloramentos rochosos (1,19), seguido do cerrado (1,07), brejo turfoso (0,87), campo pedregoso (0,82) e brejo arenoso (0,87) (Figura 3 D).

A diversidade de FMA não apresentou correlação significativa com a diversidade de plantas, segundo o coeficiente de correlação de Serman ( $r = 0,167$ ;  $p > 0,05$ ). Contudo, pode-se verificar que nos habitats brejo arenoso, campo pedregoso e afloramentos rochosos, as amostras mantiveram-se agrupadas, revelando três padrões distintos de organização. No primeiro habitat citado (brejo arenoso), as comunidades de plantas e de FMA apresentaram baixa riqueza de espécies; no segundo (campo pedregoso), as comunidades de plantas apresentaram média riqueza enquanto as comunidades de FMA apresentaram alta riqueza; e no terceiro (afloramentos rochosos), as comunidades de plantas apresentaram alta riqueza e as dos FMA, baixa riqueza (Figura 6).



**Figura 6** Relação entre a riqueza de espécies de plantas e de FMA em campos rupestres da Serra do Cipó, MG. ▼ = brejo arenoso; ○ = brejo turfoso; ● = afloramento rochoso; ■ = campo pedregoso; △ = cerrado

Considerando as variáveis ambientais, a análise de componentes principais (ACP) explicou 42,1% da variabilidade total dos dados. Deste total 52,1% é explicado pelo eixo1 e 15% pelo eixo 2. As variáveis que apresentaram baixa correlação com os dois eixos de ordenação ( $- 0.4 < r < 0.4$ ) não foram plotadas no gráfico de ordenação da PCA

(Fig 5). Estas variáveis foram: pH, Ca, Mg, K, Na, Al, P, MO, N, Cu, Fe, Zn, Mn, além dos teores de areia fina e argila. O eixo 1 foi positivamente correlacionado pelas variáveis teor de cascalho (0.897), e areia grossa (0.624) e negativamente correlacionado como o silte (-0.465). O eixo 2 esteve correlacionado negativamente com cascalho (-0.402). As variáveis silte e areia grossa apresentaram baixa correlação para este eixo (-0.042 e 0.149 respectivamente).

A ocorrência de *Glomus macrocarpum* (Gma), *Glomus invermaium* (Ginv), *Acaulopora morrowiae* (Amo), *Scutellospora pernambucana* (Spe), *Acaulospora delicata* (Ade), *Dentiscutata biornata* (Dbi), *Glomus aff. multiformum* (Gmu) *Glomus diaphanum* (Gdi) e *Scutellospora* sp. 1 (Ssp1) esteve significativamente correlacionada com os teores de areia grossa e cascalho, em maior ou menor grau (Figura 4). As demais espécies não apresentaram correlações com as propriedades físico-químicas do solo.

## 6. DISCUSSÃO

Neste estudo relata-se pela primeira vez a riqueza de espécies de FMA presentes em ecossistemas de campos rupestres, representados aqui por meio dos cinco habitats distintos (brejo arenoso, brejo turfoso, afloramentos rochosos, campo pedregoso cerrado), que fazem parte do mosaico de habitats encontrados no campo rupestre da Serra do Cipó. Também, de forma inédita, reportamos a primeira ocorrência de *Acaulospora colossica* e *Pacispora dominikii* para o Brasil.

A riqueza detectada neste estudo indica que os campos rupestres constituem uma importante fonte de diversidade de FMA, perfazendo 23% das espécies descritas no mundo e 40% das espécies identificadas em ecossistemas brasileiros (de Souza et al. 2008, Stürmer & Siqueira 2008) (Tabela 6).

Dentre as 49 espécies de FMA, quatro não puderam ser reconhecidas taxonomicamente por tratar-se de espécies não descritas (novos táxons). Estas possivelmente pertencem aos gêneros: *Acaulospora* (2), *Scutellospora* (1) e *Glomus* (1), mas dados de esporogênese e reação ao Melzer são necessários para a correta inserção taxonômica. A descoberta de espécies não conhecidas em áreas consideradas ameaçadas, como é o caso dos campos rupestres (Burman 1991, Giulietti et al. 1987, 1997; Menezes & Giulietti 2000, Ribeiro & Fernandes 2000, Vitta, 2002, Viana et al. 2005), reforça a urgência de mais pesquisas sobre a ecologia e a diversidade desses fungos.

**Tabela 6** Classificação filogenética atual dos FMA segundo Ordem, Famílias e Gêneros, número de espécies descritas por gênero no mundo, no Brasil (% de espécies encontradas no Brasil em relação as descritas no mundo) e em campos rupestres (% de espécies encontradas em campos rupestres em relação as descritas no mundo; e em relação as ocorrentes no Brasil)

Ordem	Família	Gênero	Número de espécies de FMA			
			Descritas no Mundo	Brasil	Campos rupestres	
<i>Archaeosporales</i>	<i>Archaeosporaceae</i>	<i>Archaeospora</i>	1	1 (100%)	0	
		<i>Intraspora</i>	1	1 (100%)	0	
	<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>	8	5 (63%)	1 (13; 20%)	
<i>Diversisporales</i>	<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Acaulospora</i>	34	23* (68%)	14 (41; 61%)	
		<i>Kuklospora</i>	2	2 (100%)	1 (50; 50%)	
	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Diversispora</i>	2	1 (50%)	0	
		<i>Otophora</i>	1	0	0	
		<i>Entrophospora</i>	2	1 (50%)	0	
	<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>	8	6 (75%)	2 (25; 33%)	
	<i>Scutellosporaceae</i>	<i>Scutellospora</i>	10	6 (60%)	4 (40; 67%)	
	<i>Dentiscutataceae</i>	<i>Dentiscutata</i>	7	6 (86%)	2 (29; 33%)	
		<i>Fuscutata</i>	4	2 (50%)	1 (25; 50%)	
		<i>Quatunica</i>	1	1 (100%)	0	
<i>Racocetraceae</i>	<i>Cetraspora</i>	5	2 (40%)	1 (20; 50%)		
	<i>Racocetra</i>	9	8 (89%)	1 (11; 12%)		
<i>Pacisporaceae</i>	<i>Pacispora</i>	7	3* (43%)	2 (28; 67%)		
<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i>	111	52 (47%)	19 (17; 37%)	
<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>	3	2 (67%)	1 (33; 50%)	
Total	4	12	18	216	122 (56%)	49 (23; 40%)

\*inclui espécies deste estudo

Ao se comparar a riqueza de FMA encontrada em campos rupestres neste estudo com os demais ecossistemas brasileiros pode-se considerar que o mesmo é de altíssima diversidade. Stürmer & Siqueira (2008) revisaram 37 trabalhos dos últimos 20 anos e relataram a diversidade destes fungos nas Florestas de Araucária (40 spp.), Floresta

Amazônia (35 spp.), Caatinga (30 spp.), Dunas (37 spp.), Floresta Atlântica (62 spp.) e em agroecossistemas (104 spp.). Claramente, a alta diversidade de FMA em agroecossistemas é devida tanto pelo elevado número de trabalhos feitos nestas áreas, como pela diversidade de ambientes ocupados por elas no território brasileiro.

Apesar de notável, a diversidade de FMA em campos rupestres, deve estar sendo subestimada, pois nem todos os componentes da comunidade micorrízica estão na forma de esporos (estrutura que permite que as espécies sejam identificadas morfológicamente) no momento da amostragem impossibilitando que estas sejam discriminadas no inventário (Bartz et al. 2008). Além disso, este estudo avaliou a ocorrência dos FMA em um único período sazonal, e devemos considerar que nem todas as espécies presentes no sistema esporularam na época de amostragem (estação seca).

Porém a estação seca tem sido atribuída por alguns autores como a época de maior riqueza de espécies de FMA (Guadarrama & Álvarez-Sánchez 1999, Caproni et al. 2003, Souza et al. 2003, Tchabi et al. 2008), sugerindo que a umidade favorece a germinação dos esporos resultando em alta colonização e baixa produção de esporos (Guadarrama & Álvarez-Sánchez 1999).

A maioria dos trabalhos sobre a ocorrência de FMA nos ecossistemas nativos de Cerrado foi realizada em áreas cobertas por cerrado *sensu strictu*. Até o momento apenas um trabalho foi feito em campos rupestres (Pagano & Scotti 2009), e neste as autoras avaliaram o grau de colonização micorrízica, a densidade dos esporos e as espécies de FMA estabelecidos no sistema radicular de *Bulbostylis* sp. (Cyperaceae) e *Paepalanthus bromelioides* (Eriocaulaceae). Comparando a identidade das espécies ocorrentes, verifica-se que *Dentiscutata biornata* é comum aos dois estudos. Também,

Pagano & Scotti (2009) encontraram duas novas espécies, reforçando a hipótese que os campos rupestres constituem sítios de diversificação para os FMA.

Trinta e oito por cento das espécies encontradas no presente estudo foram reportadas em estudos realizados no Cerrado (Bononi & Trufem 1983, Schenck et al. 1989, Siqueira et al. 1989) sendo estas: *Acaulospora mellea*, *A. morrowiae*, *A. rugosa*, *A. spinosa*, *Gigaspora decipiens*, *G. margarita*, *Glomus clarum*, *G. diaphanum*, *G. etunicatum*, *G. fasciculatum*, *G. geosporum*, *G. macrocarpum*, *G. microcarpum*, *G. mosseae*, *Paraglomus occultum*, *Scutellospora calospora*, *Cetraspora gilmorei*, *Fuscutata heterogama* e *Ambispora brasiliensis*, descrita recentemente e encontrada até o momento somente no Cerrado da Serra do Cipó, MG (Goto et al. 2008).

*Scutellospora pernambucana*, outra espécie descrita recentemente (Silva et al. 2008), foi isolada em áreas de Caatinga e de Floresta Atlântica no estado de Pernambuco e agora em campos rupestres de Minas Gerais, o que sugere que a mesma apresenta ampla ocorrência em diferentes ecossistemas.

*Acaulospora morrowiae*, *Scutellospora calospora*, *Glomus etunicatum*, *Glomus invermaium* e *Glomus macrocarpum*, espécies que ocorreram de forma generalizada nos cinco habitats investigados do mosaico de campo rupestre, têm sido reportadas em vários estudos sob diferentes ecossistemas e condições de preservação (Mehrotra 1998; Stürmer & Siqueira 2008).

As ocorrências de espécies exclusivas, tais como *Acaulospora colossica*, *Acaulospora* sp.1 e *Acaulospora* sp.2, *Kuklospora colombiana* e *Glomus constrictum* em brejos turfosos; *Acaulospora spinosa*, *Cetraspora gilmorei*, *Fuscutata rubra*, *Gigaspora decipiens* e *Glomus aff. verruculosum* em cerrado; *Acaulospora bireticulata*, *Glomus lamellosum*, *Glomus mosseae* e *Scutellospora* sp.1 em campos pedregosos; *Glomus geosporum* e *Pacispora dominikii* em brejos arenosos; e *Glomus aff. pellucidum*

em afloramentos rochosos (Tabela 4) sugere maior afinidade destas por condições específicas do habitat onde se estabelecem. Das espécies citadas, somente *Acaulospora bireticulata*, e *Scutellospora* sp.1 mostraram-se correlacionadas com as propriedades físicas do solo (Figura 4), demonstrando que outros fatores ambientais, como a composição de espécies vegetais, influenciam o estabelecimento e a fixação destas espécies (Tabela 1).

Os habitats que constituem o mosaico de campo rupestre apresentaram composição diferenciada de espécies de FMA (Tabela 4). É conhecido que estes habitats são singulares e a heterogeneidade presente é atribuída a vários fatores abióticos (Giulietti et al. 1987, Giulietti & Pirani 1988, Vitta 2002, Benites 2003). Porém, a composição diferenciada de FMA encontradas neste estudo pode estar contribuindo para a heterogeneidade destes ambientes, tendo em vista que a diversidade e a produtividade das comunidades vegetais estão intimamente ligadas com a diversidade de FMA (de Souza et al. 2008). Por outro lado, as comunidades vegetais regulam o avanço dos FMA, em termos de ocupação e exploração dos nichos (Grime et al. 1987, van der Heijden et al. 1998, van der Heijden et al. 2006), pois diferentes espécies de plantas hospedeiras criam um habitat próprio ao redor de suas raízes levando ao estabelecimento de espécies distintas de FMA (Carrenho et al. 2001). A figura 3 mostra que as menores riquezas de FMA foram observadas nos habitats brejo arenoso e afloramentos rochosos. O primeiro habitat foi vegetado principalmente por *Lagenocarpus rigidus*, uma espécie da família Cyperaceae, reconhecida como não micorrízica (Trappe 1987) ou com baixa incidência micorrízica (Muthukumar et al. 2004). Nos afloramentos rochosos, a espécie dominante, *Trachypogon spicatus*, é gramínea clímax de crescimento lento, cujo estágio seral em regiões tropicais é considerado como pouco dependente da associação MA (Zangaro et al. 2002, Pasqualini

et al. 2007). Diferentemente, nos campos pedregosos verificou-se elevada riqueza de FMA, e neste habitat a espécie vegetal dominante, *Vellozia* sp., é uma monocotiledônea, que sob condições de déficit hídrico, cessa a atividade fotossintética (Owoseye & Sanford 1972). Como no presente estudo a coleta foi realizada na estação seca, é possível que a maior riqueza verificada neste habitat tenha sido reflexo das mudanças fisiológicas da espécie dominante, as quais podem ter estimulado a esporulação dos FMA associados a suas raízes, contribuindo para a evidenciação da riqueza.

A densidade de esporos encontrada neste estudo é semelhante à encontrada em trabalhos realizados no Cerrado (Cordeiro et al. 2005, Martins et al. 1999), e mais alta que a verificada em áreas degradadas de cerrado, para a mesma época de amostragem (estação seca), (Martins et al.1999).

Devemos considerar que a densidade de FMA na rizosfera está relacionada com a forma agregada como os esporos são encontrados no solo e em função da distribuição, morfologia e idade fisiológica das raízes (Anderson et al. 1983, Zangaro et al. 2008). Além disso, a concentração de propágulos de FMA normalmente apresenta-se fortemente correlacionada com a cobertura vegetal e as condições do solo (Sieverding 1991).

Todavia, podemos considerar que os solos avaliados no presente estudo forneceram condições para o estabelecimento dos FMA, já que a limitação de recursos minerais interfere no crescimento das plantas, e nestas condições estas favorecem a associação (Moreira & Siqueira 2006).

Espécies como *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus macrocarpum*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum* e *G. claroideum* são consideradas indiferentes aos níveis de fertilidade do solo (Siqueira et al. 1989, Jonhson 1993, Weber & Oliveira 1994), outras são restringidas por fatores como acidez do solo.

De acordo com Stürmer (1999), espécies de *Acaulospora* são mais frequentes em solos ácidos. A maior ocorrência dos gêneros *Glomus* e *Acaulospora* verificada neste estudo, corrobora os dados obtidos por Trufem (1990, 1995), Gomes & Trufem (1998), Souza et al. (2003), Carrenho et al. (2002) e Caproni et al. (2003), que encontraram estes dois gêneros dominando, em termos de abundância e diversidade, em solos com baixo pH.

## **7. CONCLUSÃO**

Dentre as propriedades do solo avaliadas, as físicas (granulometria e textura), tiveram maior influência na ocorrência das espécies de FMA nos ecossistemas de campo rupestres. Os resultados deste estudo sugerem que a diversificação das comunidades de FMA esteja relacionada com a heterogeneidade existente nos habitats que constituem o mosaico de campos rupestres. Estudos futuros sobre a interação dos FMA com espécies nativas presentes em campos rupestres são fundamentais para a preservação e a manutenção deste ecossistema altimontano tropical, além de contribuir para o conhecimento da distribuição geográfica dos FMA no território brasileiro.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson RC, Liberta AE, Dickman LA, Katz AJ (1983) Spatial variation in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore density. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 110:519-525.
- Bartz MLC, Carrenho R, Gomes-da-Costa SM, Collozi-Filho A, Tormena CA (2008) Comparação entre as técnicas de amostragem direta em campo e cultura-armadilha para a mensuração da diversidade de espécies de fungos micorrizicos arbusculares. *Hoehnea* 35:159-164.
- Benites VM, Caiafa AN, Mendonça ES, Schaefer CEGR, Ker JC (2003) Soil and vegetation on the high altitude rocky complexes of the Mantiqueira and Espinhaço mountain. *Floresta Ambiente* 10:76-85.
- Benites VM, Schaefer CEGR, Simas FNB, Santos HG (2007) Soils associated with rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. *Rev Bras Bot* 30:569-577.
- Berbara RRL, de Souza FA, Fonseca HMA (2006) Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: Fernandes MS (ed) *Nutrição mineral de plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa pp53-88.
- Bononi VLR, Trufem SFT (1983) Endomicorrizas vesículo-arbusculares do cerrado da Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, SP, Brasil. *Rickia* 10:55-84.
- Burman A (1991) Saving Brazil's savannas. *New Science* 1758:30-34.
- Caproni AL, Franco AA, Berbara RLL, Trufem SB, Granha JR, Monteiro AB (2003) Arbuscular mycorrhizal fungi occurrence in revegetated areas after bauxite mining at Porto Trombetas, Pará State, Brazil. *Pesq agropec bras* 38:12:1409-1418.

- Carrenho R, Trufem SFB, Bononi VLR (2001) Fungos micorrízicos arbusculares em rizosferas de três espécies de fitobiontes instaladas em área de mata ciliar revegetada. *Acta bot bras* 15:115-124.
- Carrenho R, Trufem SFB, Bononi VLR (2002) Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. *Rev Bras Bot* 25:95-101.
- Conceição AA (2000) Alerta para a conservação da biota na Chapada Diamantina. *Ciência Hoje* 27:54-56.
- Conceição AA, Pirani JR (2005) Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Bol Bot Uni de São Paulo* 23:85-111.
- Conceição AA, Pirani JR (2007) Diversidade em quatro áreas de campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: espécies distintas, mais riquezas similares. *Rodriguésia* 58:193-206.
- Cordeiro MAS, Carneiro MAC, Paulino HB, Saggin-Junior OJ (2005) Colonization and spore density of arbuscular mycorrhizal fungi in two cerrado soils in different tillage system. *Pesq agropec trop* 35:3:147-153.
- de Souza FA, da Silva ICL, Berbara RLL (2008) Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussard L (eds) *Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros*. UFLA, Lavras, pp 483-536.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) *Manual de métodos de análise de solo*, 2nd ed. Rio de Janeiro.
- Gerdemann JW, Nicolson TH (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Trans Br Mycol Soc* 46:235-244.

- Guadarrama P, Álvarez-Sánchez FJ (1999) Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, México. *Mycorrhiza* 8:267-270.
- Giulietti AM, Menezes NL, Pirani JR, Wanderley MGL (1987) Flora da Serra do Cipó: caracterização e lista das espécies. *Bol Bot* 9:1-151.
- Giulietti AM, Pirani JR (1988) Patterns of geographic distribution of some plants Species from the Espinhaço range, Mg - Ba, Brazil. In: Vanzoline PE, Heyer WR (eds) *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, pp 39-69.
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM (1997) Espinhaço range region, eastern Brazil. In: Davis SD, Heywood VH, Herrera-Macbryde O, Villa-Lobos J, Hamilton AC (eds) *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for their Conservation*. Cambridge: IUCN Publication Unity, pp 397-404.
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP, Wanderley MGL, Pirani JR (2000) Caracterização de endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. In: Cavalcanti TB, Walter BTM (eds) *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília: SBB/Embrapa, pp 311-318.
- Grime JP, Mackey JML, Hillier SH, Read DJ (1987) Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature* 328:420-422.
- Gomes SP, Trufem SFB (1998) Fungos micorrízicos arbusculares (Glomales, Zygomycota) na Ilha dos Eucalptos, Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. *Acta Bot Bras* 12:3:393-401.
- Goto BT, Maia LC, Oehl F (2008) *Ambispora brasiliensis*, a new ornamented species in the arbuscular mycorrhiza-forming *Glomeromycetes*. *Mycotaxon* 105:11-18.

- Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K, Barea JM (2003) The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* 37:1-16.
- Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis Rep* 48: 692.
- Joly AB (1970) *Conheça a vegetação brasileira*. Edusp/Polígono, São Paulo
- Jonhson NC (1993) Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecological Application* 3:749-757.
- Madeira JA, Fernandes GW (1999) Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* Leguminosae in Serra do Cipó. *Brazil J Trop Ecol* 15:463–479.
- Martins CR, Miranda JCC, Miranda LN (1999) Contribuição de fungos micorrízicos arbusculares nativos no estabelecimento de *Aristida setifolia* Kunth em áreas degradadas do Cerrado. *Pesq agropec bras* 34:665-674.
- Mehrotra VS (1998) Arbuscular mycorrhizal associations of plants colonizing coal mine spoil in India. *J Agri Sci* 130:2:125-133.
- Menezes N L, Giuliatti AM (1986) Campos rupestres: paraíso botânico na Serra do Cipó. *Ciência Hoje* 5: 38-44.
- Menezes NL, Giuliatti AM (2000) Campo Rupestre. In: Mendonça MP, Lins LV (eds) Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção de Minas Gerais. Fundação Biodiversitas e Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. pp 76-83.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GA, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Moreira FMS, Siqueira JO (2006) *Microbiologia e bioquímica do solo*. 2<sup>a</sup> ed. UFLA, Lavras.
- Morton JB, Benny GL (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and

- Gigasporineae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomeaceae. *Mycotaxon* 37:471-491.
- Muthukumar T, Udaiyan K, Shanmughavel P (2004) Mycorrhiza in sedges - an overview. *Mycorrhiza* 14:65-77.
- Oehl F, de Souza FA, Sieverding E (2008) Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon* 106:311-360.
- Owoseya JA, Sanford WW (1972) Ecological study of *Vellozia schnitzleinia*, a drought-enduring plant of Northern Nigeria. *J Ecol* 60(3):807-817.
- Pagano MC, Scotti MR (2009) A survey of the mycorrhiza occurrence in *Paepalanthus bromelioids* and *Bulbostylis* sp. in rupestrin, Brazil. *Micol Apl Int* 21(1):1-10.
- Pasqualini D, Uhlmann A, Sturmer SL (2007) Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil. *For Ecol Manag* 245(1-3):148-155.
- Pielou EC (1975) *Ecological diversity*. John Willey & Sons, New York.
- Ribeiro KT, Fernandes GW (2000) Patterns of abundance of a narrow endemic species in a tropical and infertile montane habitat. *Plant Ecology* 147:205-218.
- Schenck NC, Pérez Y (1990) *Manual for identification of VA mycorrhizal fungi*. Synergistic-Publications, Gainesville, Florida.
- Schenck NC, Siqueira JO, Oliveira E (1989) Changes in the incidence of VA mycorrhizal fungi with changes in ecosystems. In: Vancura V, Kunc F (eds) *Interrelationships between microorganisms and plants in soil*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands pp125-129.

- Sieverding E (1991) Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation, Germany.
- Silva FC, Eira PA, van Raij B, Silva CA, Abreu CA, Gianello C, Pérez DV, Quaggio JA, Tedesco MJ, Abreu MF, Barreto WO (1999) Análises químicas para a avaliação da fertilidade do solo. In: Silva FC (Ed) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, EMBRAPA, Brasília, pp75-169.
- Silva DK, Freitas NO, Maia LC, Oehl F (2008) *Scutellospora pernambucana*, a new fungal species in the *Glomeromycetes* with a diagnostic germination orb. *Mycotaxon* 16:183-189.
- Siqueira JO, Colozzi Filho A, Oliveira E (1989) Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agroecossistemas do estado de Minas Gerais. *Pesq Agropec Bras* 24:12:1499-1506.
- Siqueira JO, Lambais MR, Stürmer SL (2002) Fungos micorrízicos arbusculares: características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. 25:12-21.
- Smith SE, Read DJ (1997) The symbiontes forming VA mycorrhizas. In: Smith SE, Read DJ (eds) *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, San Diego pp 33-80.
- Simpson EH (1949) Measurement of diversity. *Nature* 163:188.
- Souza RG, Maia LC, Sales MF, Trufem SFB (2003) Diversity and infectivity potencial of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of “Caatinga” in the Xingó, Region, State of Alagoas, Brazil. *Rev bras Bot* 26:1:49-60.
- Stümer SL (1999) Evolução, classificação e filogenia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: Siqueira JO, Moreira FMS, Lopes AS, Guilherme LRG, Faquin V, Furtini AE, Carvalho JG (eds) *Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Lavras pp797-817.

- Stürmer SL, Morton JB (1999) *Scutellospora rubra*, a new arbuscular mycorrhizal species from Brazil. *Mycol Res* 103:949-954.
- Stürmer SL, Siqueira JO (2008) Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiros In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussard L (eds) Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. UFLA, Lavras pp 537-584.
- Tedesco MJ, Gianello C, Bissani CA, Bohnen H, Volkweiss SJ (1995) Análise de solo, plantas e outros materiais. 2ª ed., Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Tchabi A, Coyne D, Hountondji F, Lawouin L, Wiemken A, Oehl F (2008) Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan savannas of Benin, west Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone. *Mycorrhiza* 18:181-195.
- Trappe JM (1987) Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In: G. R. Safir (ed.), *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 5-25.
- Trufem SFB (1990) Aspectos ecológicos de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares da mata tropical úmida da Ilha do Cardoso, SP, Brasil. *Acta Bot Bras* 4:31-45.
- Trufem SFB (1995) Ecological aspects of arbuscular mycorrhizal fungi from coastal sand dunes community of Ilha do Cardoso, SP, Brazil. *Rev bras bot* 18:51-60.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf ER, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72.
- van der Heijden MG, Streitwolf-Engel R, Riedl R, Siegrist S, Neudecker A, Ineichen K, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (2006) The mycorrhizal contribution to plant

- productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytol* 172:739-52.
- Viana LR, Fernandes GW, Silva CA (2005) Ecological road threatens endemic Brazilian plants with extinction. *Plant Talk* 41:15.
- Vitta FA (2002) Diversidade e conservação da flora nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais. In: Araújo EL, Moura NA, Sampaio EVSB, Gestinari LMS, Carneiro JMT (eds) *Sociedade Botânica do Brasil*, UFPE, Recife, Brasil, pp 90-94.
- Weber OB, Oliveira E (1994) Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in citrus in the states of Bahia and Sergipe. *Pesq agropec bras* 29:1905-1914.
- Zangaro W, Nisizaki SMA, Domingos JCB, Nakano EM (2002) Micorriza arbuscular em espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Iibagi, Paraná. *Cerne* 8:77-87.
- Zangaro W, Assis RL, Rostirola LV, Souza PB, Gonçalves MC, Andrade G, Nogueira MA (2008) Changes in arbuscular mycorrhizal associations and fine root traits in sites under different successional phases in southern Brazil. *Mycorrhiza* 9: 37-45.

## CAPÍTULO 3

### **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E GENÉTICA DE BACTÉRIAS QUE NODULAM SIRATRO (*Macroptilium atropurpureum* (DC) Urban) E MIMOSA (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.) CULTIVADOS EM SOLOS DE CAMPOS RUPESTRES**

#### **1. RESUMO**

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um dos mais importantes processos que ocorrem no solo relacionado à manutenção da vida na Terra, pois é responsável pela grande contribuição no aporte de nitrogênio (N) nos ecossistemas. Esta pesquisa teve como principal objetivo isolar bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas de solos de diferentes habitats de campos rupestres (campo pedregoso, brejo arenoso, brejo turfoso, afloramento rochoso e cerrado) da Serra do Cipó, MG em duas plantas iscas (siratro e jurema preta) e posteriormente caracterizá-las morfológica e genotipicamente. Foram caracterizados 381 isolados, os quais formaram 52 e 39 grupos culturais para o siratro e jurema preta respectivamente a 60% de similaridade. O maior número de isolados foi obtido no habitat cerrado e o menor em brejo arenoso. As bactérias puderam ser classificadas como pertencentes os Filo  $\alpha$  e  $\beta$ -Proteobacteria com predomínio dos gêneros *Rhizobium* e *Burkholderia* respectivamente.

## CHAPTER 3

### **GENETIC AND MORPHOLOGIC CHARACTERIZATION OF BACTERIA NODULATING SIRATRO (*Macropodium atropurpureum* (DC) Urban) AND MIMOSA (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.) CULTIVATED IN RUPESTRIAN FIELD SOIL.**

#### **2. ABSTRACT**

Biological nitrogen fixation, (BNF) is one of the most important processes which happen in soil and is closely related to maintenance of life on earth, once it is responsible for great contribution in ecosystems nitrogen (N) input. This research main aim was isolating nitrogen fixing bacteria which nodulate leguminous from soil of different rupestrian field habitats (rocky field, rocky outcrop, banks with sandy and peaty bogs and Cerrado (scrubland)), from Serra do Cipó, MG in two plant baits (siratro and jurema preta) and posteriorly characterize them morphologically and genotypically. 381 isolates were characterized, which formed 52 and 39 cultural groups for siratro and for jurema preta respectively at 60% similarity. The higher number of isolates was obtained in scrubland habitat and smaller number in sandy bog. Bacteria could be classified as pertaining to Filo  $\alpha$  and  $\beta$ - Proteobacteria with predomination of genera *Rhizobium* and *Burkholderia* respectively.

### 3. INTRODUÇÃO

Nas cotas acima de 900m de altitude da Cadeia do Espinhaço ocorre um tipo de vegetação única: os campos rupestres. Longe de formar um tipo de vegetação homogênea, estes campos são um conjunto de habitats predominantemente herbáceo-arbustivas no qual constituem um rico mosaico, floristicamente relacionados mais fisionomicamente distintos (Giulietti et al. 1997).

Os habitats dos campos rupestres são discernidos pela configuração do solo, continuidade da vegetação, composição florística, proporção de rocha exposta, presença de blocos de rocha e de sedimentos arenosos, secos ou periodicamente encharcados na estação chuvosa, constituindo um sistema bastante heterogêneo, com mudanças bruscas da comunidade em um curto espaço (Conceição 2000, Conceição & Giulietti 2002, Conceição & Pirani 2005).

Este mosaico de habitats contribui para a existência de uma alta diversidade de espécies vegetais e endemismo encontrados nos campos rupestres tornando-o um ecossistema raro e único. Estima-se que exista na Serra do Cipó onde estes campos predominam o extraordinário número de 3000 espécies vegetais em 200 km<sup>2</sup>, com 30% deste número exclusivos deste tipo vegetacional (Giulietti et al. 1997).

Dentre estas espécies vegetais a família Leguminosae é a terceira mais bem representada na Serra do Cipó com 40 gêneros e 108 espécies nas três subfamílias consideradas Caesalpinoideae, 6 gêneros, 36 espécies; Mimosoideae, 9 gêneros, 26 espécies; Papilionoideae, 25 gêneros, 48 espécies (Giulietti et al. 1987). Os gêneros predominantes nos campos rupestres são *Calliandra*, *Chamaecrista* e *Mimosa* (Menezes & Giulietti 2000) além da *Collaea cipoensis* uma espécie de ocorrência exclusiva na Serra do Cipó.

A importância da família Leguminosae em ecossistemas brasileiros está tanto no número de espécies como de indivíduos sendo estimada no Brasil a existência de pelo menos 10% do total de espécies de leguminosas do Planeta (de acordo com Lewis et al., 2005 citado por Moreira 2008), além desta, esta família apresenta uma importante particularidade, pois grande parte das espécies conhecidas é capaz de formar estruturas especializadas denominadas nódulos em simbioses com determinadas bactérias capazes de fixar nitrogênio atmosférico (Moreira & Siqueira 2006). Dessa forma, estas bactérias podem ser chamadas de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas (BFNNL).

A fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) é um dos mais importantes processos que ocorrem no solo relacionado à manutenção da vida na Terra, pois é responsável pela grande contribuição no aporte de nitrogênio (N) nos ecossistemas. O estabelecimento da simbiose entre leguminosas e BFNNL pode ser mutualística e neste caso implica que exista troca de benefícios entre os parceiros, no caso o nitrogênio das bactérias para as plantas e carboidratos das plantas para a bactéria (Moreira 2008).

O estudo da diversidade das BFNNL em campos rupestres apresenta grande importância, pois os isolados obtidos podem apresentar potencial para serem utilizados como inoculantes em leguminosas nativas para fins de recuperação de áreas degradadas, já que este ecossistema tem sofrido grandes perturbações antrópicas principalmente com a abertura e pavimentação de estradas (Viana et al. 2005) e atuação de mineradoras (Menezes & Giulietti 2000). Além disso, estes novos isolados podem apresentar potencial para uso em leguminosas cultivadas para a produção de alimentos e adubação verde.

A alta diversidade espécies da família Leguminosae na região tropical e especialmente em campos rupestres pode refletir-se numa alta diversidade de BFNNL,

evidenciando a necessidade de estudos de bactérias isoladas nestas regiões com o intuito de contribuir para o conhecimento desta diversidade.

Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi isolar BFNNL nativas de solos de campos rupestres da Serra do Cipó, caracterizá-las morfológica e genotipicamente e avaliar a diversidade entre os diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O local de estudo está situado na Reserva Particular Vellozia, localizada próximo ao Parque Nacional da Serra do Cipó, inserida na Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira em Santana do Riacho, Minas Gerais. O clima da região é do tipo tropical de altitude com verões frescos e estação seca bem definida compreendida pelos meses de maio a setembro. As temperaturas médias anuais ficam em torno de 21,2 °C e a precipitação média anual é de 1.622 mm (Madeira & Fernandes 1999).

O mosaico que constitui os campos rupestres da Serra do Cipó varia nas características do substrato (arenoso, pedregoso, turfoso), no grau de drenagem (mais secos ou encharcados), sendo dividido em cinco ambientes distintos exemplificados na Tabela 1. Para cada um destes cinco ambientes foram demarcadas três parcelas de 50 m x 20 m subdivididas em cinco subparcelas de 5m x 5m, com o objetivo de melhor amostrar os locais de estudo, os quais sofrem mudanças bruscas em curto espaço (Conceição & Pirani 2007) totalizando 15 parcelas por habitat (Tabela 1).

Em Janeiro de 2008, foram coletadas três amostras compostas de solo para cada um dos cinco habitats estudados. Cada amostra composta de solo constituiu-se de 12 subamostras coletadas dentro de cada subparcela à profundidade de 0-20cm. As amostras destinadas para análise microbiológica foram acondicionadas em sacos plásticos e enviadas para a Embrapa Agrobiologia, onde foram conservadas a 4°C.

**Tabela 1.** Localização e principais características dos distintos habitats de campo rupestre, Serra do Cipó, MG

	Principais características	Posição geográfica		Altitude (m)
		S	W	
Brejo arenoso (Sb)	Sofrem encharcamentos periódicos na estação chuvosa e permanecem secos na estação seca. O estrato herbáceo ocorre de forma contínua com predomínio das famílias Eriocaulaceae, Poaceae, Cyperaceae, Asteraceae e Melastomataceae. Espécie dominante: <i>Lagenocarpus rigidus</i> (Cyperaceae) Leguminosas: não possui	19° 16' 50,2''	43° 35' 27,7''	1158
		19° 16' 47,5''	43° 35' 24,2''	1173
		19° 16' 46,1''	43° 35' 23,2''	1154
Brejo turfoso (Pb)	Permanecem constantemente encharcados na estação chuvosa e mantem-se úmidos na estação seca. Há o predomínio do estrato herbáceo com as famílias Poaceae, Asteraceae, Melastomataceae e Cyperaceae. Espécie dominante: <i>Axonopus siccus</i> (Poaceae) Leguminosas: não possui	19° 16' 53,0''	43° 35' 26,6''	1138
		19° 16' 54,4''	43° 35' 29,0''	1146
		19° 17' 10,4''	43° 35' 34,0''	1179
Afloramentos rochosos (Ro)	Afloramentos Rochosos Quartzíticos Predominam os arbustos e subarbustos das famílias Poaceae, Asteraceae, Velloziaceae, Cyperaceae e Rubiaceae. Estes arbustos fixam suas raízes em fendas da rocha ou aglomeram-se em pequenas depressões dentro do próprio afloramento, onde pode haver maior deposição de areia. Espécie dominante: <i>Trachopogon spicatus</i> (Poaceae) Leguminosas: <i>Chamaecrista mucronata</i> , <i>Mimosa foliolosa</i> e <i>Senna cf. rugosa</i>	19° 17' 15,2''	43° 35' 39,2'	1163
		19° 17' 07,9''	43° 35' 44,8''	1175
		19° 17' 04,1''	43° 35' 39,9''	1121
Campo pedregoso (Qf)	Este habitat tem como peculiaridade a cobertura da superfície do solo por pequenos fragmentos de rochas quartzíticas. Há o predomínio de herbáceas das famílias Eriocaulaceae, Poaceae, Asteraceae além de Cyperaceae. Espécie dominante: <i>Vellozia</i> sp. (Velloziaceae) Leguminosas: <i>Chamaecrista ramosa</i> , <i>Mimosa foliolosa</i> e <i>Senna cf. rugosa</i>	19° 17' 09,0''	43° 35' 20,0''	1182
		19° 17' 10,0''	43° 35' 15,1''	1194
		19° 17' 04,1''	43° 35' 37,7''	1192
Cerrado (Ce)	Predomínio de espécies arbóreas e arbustivas. Dentre as famílias mais representadas estão as Poaceae, Fabaceae e Asteraceae. Espécie dominante: <i>Schizachyrium tenerum</i> (Poaceae) Leguminosas: <i>Dalbergia miscolobium</i> , <i>Camptosema</i> sp., <i>Calliandra fasciculata</i> , <i>Chamaecrista ramosa</i> , <i>Eriosema crinitum</i> , <i>Stryphnodendron gracili</i> , <i>Mimosa foliolosa</i> e <i>Stylosanthes guianensis</i> .	19° 16' 55,0''	43° 35' 35,8''	1150
		19° 16' 57,7''	43° 35' 40,0''	1173
		19° 17' 04,1''	43° 35' 37,7''	1192

Com as amostras de solo coletadas deu-se o início da instalação do experimento no qual foi realizado em condições de casa de vegetação, segundo delineamento inteiramente casualizado, sendo cinco tratamentos constituídos pela procedência do solo (cinco habitats) com doze repetições. A unidade experimental correspondeu a um vaso com capacidade de 1kg.

Os vasos foram esterilizados com etanol 70%, e preenchidos com uma mistura na proporção de 25% de solo proveniente do campo (inóculo) e 75% de substrato arenoso esterilizado por meio de autoclavagem (1 atm, 121°C por duas horas) por duas

vezes respeitando o intervalo de 48 horas entre cada autoclavagem. As características químicas e físicas da mistura estão descritas na Tabela 2.

**Tabela 2** Características químicas e textura dos substratos após mistura com o solo inóculo nos distintos habitats de campo rupestres. Ce = cerrado; Pb =brejo turfoso; Sb = brejo arenoso; Ro = afloramentos rochoso e Qf = campos pedregosos.

	Ce	Pb	Sb	Ro	Qf
pH (H <sub>2</sub> O)	4,8	4,6	4,6	4,7	4,7
P (mg/dm <sup>3</sup> )	2,8	3,7	5,2	6,2	5,5
P-rem (m/L)	36,3	36,3	42,2	38,6	47,3
K (mg/dm <sup>3</sup> )	33	23	76	33	22
Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,7	1,5	1,0	1,0	1,0
Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,2	0,5	0,3	0,3	0,3
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,8	0,8	0,3	0,5	0,4
MO dag/Kg	2,1	3,1	1,6	1,9	3,2
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	2,6	6,4	3,3	3,8	2,4
Fe (mg/dm <sup>3</sup> )	111,7	148,4	121,3	113,8	66,3
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	36,3	46,7	44,4	40,0	44,9
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	0,9	0,5	0,5	0,7	0,2
Argila(%)	14	16	8	8	6
Areia (%)	72	79	79	77	77
Silte (%)	14	5	13	15	17

As plantas isca utilizadas neste estudo foram o siratro (*Macroptilium atropurpureum*) e a jurema preta (*Mimosa tenuiflora*), em função da sua natureza promíscua com relação à nodulação. Para isso as sementes foram desinfestadas superficialmente antes do plantio utilizando álcool 70% por 3min, hipoclorito de sódio 1% por 3min e lavagem sucessivas em água corrente (Andrade & Hamakama 1994). As sementes de siratro foram escarificadas em ácido sulfúrico concentrado durante 20min. e em seguida lavagem sucessivas em água corrente.

Foram mantidas 2 plantas de siratro e uma jurema preta por vaso. Os vasos receberam solução nutritiva sem nitrogênio a cada 15 dias (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10,8g/L; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 21,5g/L; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 28,48g/L; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 6,0g/L; MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 3,0g/L; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O 0,6g/L; CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,11g/L; NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,54g/L e

FeNa EDTA 16g/L) Após 90 dias as plantas foram colhidas e os nódulos foram coletados para posterior isolamento.

Os nódulos obtidos das plantas-isca foram primeiramente imersos em álcool etílico 95% por 30 segundos, com o objetivo de quebrar a tensão superficial, imersos posteriormente em peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30% de 1 a 3 minutos de acordo com o tamanho dos nódulos, para desinfestar a superfície do nódulo, e depois lavados várias vezes em água esterilizada para a retirada do (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Os nódulos então foram esmagados com o auxílio de uma pinça devidamente esterilizada, em placas contendo meio de cultura YMA ou 79 (Fred & Waksman 1928, Vicente 1970) com azul de bromotimol, pH 6,8. As placas foram incubadas a temperatura de 28°C. Após o aparecimento da colônia foi realizado uma repicagem e novamente incubadas até a obtenção de colônias isoladas.

Após a purificação, foi realizada a caracterização dos isolados. As características analisadas foram: tempo de crescimento, alteração do pH do meio de cultura; tamanho, forma, elevação, superfície, cor da colônia; produção de muco; tipo de alteração do pH do meio após crescimento (avaliado pela alteração de cor do indicador); cor das colônias; diâmetro das colônias (mm); borda (inteira ou irregular); forma (circular ou irregular) e detalhes ópticos (translúcida, transparente, brilhante ou opaca); consistência da colônia (seca, aquosa, gomosa, butírica ou viscosa). Quanto ao muco produzido pelas células, foi avaliado quanto à quantidade (escasso, pouco, muito ou abundante).

A partir dos dados da caracterização morfológica, preparou-se uma matriz binária de dados. Esta foi utilizada para calcular a matriz de similaridade entre os isolados pelo coeficiente Simple Matching (SM); posteriormente, foi realizado o agrupamento pelo método UPGMA (Unweighted pair-group method) dos isolados e realizada a plotagem em um dendrograma. Para esta análise, foi utilizado o programa

NTSYS (Numerical Taxonomic and Multivariate Analysis System, version 2.0, Applied Biostatistics, New York).

Após a construção dos dendrogramas procedeu-se o cálculo do índice de diversidade de Shannon-Weaver (Shannon & Weaver 1949). Para o cálculo desse índice considerou-se  $k$  o número de grupos formados com diferentes características culturais e  $\pi$  a abundância relativa dos isolados de cada grupo.

Isolados representantes dos grupos culturais tiveram o gene 16S rDNA parcialmente seqüenciado. Para isto foi realizado a extração do DNA genômico dos isolados representantes. Estes foram crescidos em meio YMA (79) líquido, sendo que 1,5mL da cultura foram centrifugadas por 2min (3x); o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado com solução salina 0,8%; ressuspendido em tampão TE adicionados SDS (10%), proteinase K (20mg/mL) agitados e incubados a 37°C por uma hora. Foram adicionados NaCl 5M, solução CTAB/NaCl misturados vigorosamente e incubados por 10min a 65°C. Após foram adicionados fenol:clorofórmio/álcool isoamílico, misturados e centrifugados. O sobrenadante foi passado para um novo tubo no qual foi adicionado clorofórmio/álcool isoamílico, misturados e centrifugados. O sobrenadante foi descartado e então adicionou-se isopropanol e icubou em freezer -20°C overnight para precipitar o DNA. O DNA foi lavado com etanol 70% centrifugado e posto para secar. Após foi dissolvido em tampão TE.

O gene 16S rDNA foi amplificado com primers 27F (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') e 1492R (5' GGTTACCTTGTTACGACTT 3'). A reação de amplificação (50  $\mu$ L) foi realizada com os seguintes volumes ( $\mu$ L): água milli-Q estéril, (25,1), tampão 10X (5,0), MgCl<sub>2</sub>50mM (2,5), dNTPs 2mM, (5,0), primers 5mM (1,0) e Taq 5U/ $\mu$ l (0,4). A reação de amplificação foi realizada no termociclador Eppendorf Mastercycle<sup>®</sup>. As temperaturas do ciclo de amplificação

foram: de desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, 40 ciclos de desnaturação (94°C por 40 segundos); de anelamento (55°C por 40 segundos); de extensão (72°C por 1,5 minuto) e de extensão final de 72° por 7 minutos, manutenção a 4°C. A reação de PCR do 16S rDNA (50 µL) foi corrida em gel de agarose 1% (p/v), com tampão TAE. Foi utilizado como tamanho molecular o marcador 1 kb plus DNA Ladder (Invitrogen™) e, depois, corada em brometo de etídeo (5 µg mL<sup>-1</sup>). As amostras foram congeladas e liofilizadas e enviadas para a empresa Macrogen, República da Coreia, para a realização de purificação e seqüenciamento, o qual foi realizado utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores 27F. As seqüências obtidas foram analisadas quanto à qualidade pelo programa Chromas. Somente seqüências com mais de 400pb foram usadas para a análise filogenética. Foram obtidas seqüências similares no GenBank (NCBI) para a realização do alinhamentos pelo programa ClustalW. As seqüências alinhadas foram usadas para análise filogenética, através do método Neighbour-Joining usando Kimura-2 parâmetros (Kimura 2008) pelo programa MEGA 4.1 (Tamura et al. 2007) aplicando um *bootstrap* com um mínimo de 2000 replicações.

## 5. RESULTADOS

As plantas isca siratro (*Macroptilium atropurpureum*), e jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) formaram nódulos com solo proveniente de todos os habitats de campo rupestre, porém nem todas as repetições foram noduladas. Somente no habitat cerrado as duas plantas isca nodularam em todas as repetições. Para os demais habitats a jurema preta nodulou em apenas 1 repetição para o brejo arenoso e campo pedregoso, 2 nos afloramentos rochosos e 3 para os brejos turfosos.

Para o siratro a nodulação ocorrida nas repetições dentro de cada habitat avaliado foi em 3 para o brejo arenoso, 6 para o afloramento rochoso, 7 para o brejo turfoso, e 10 para o campo pedregoso.

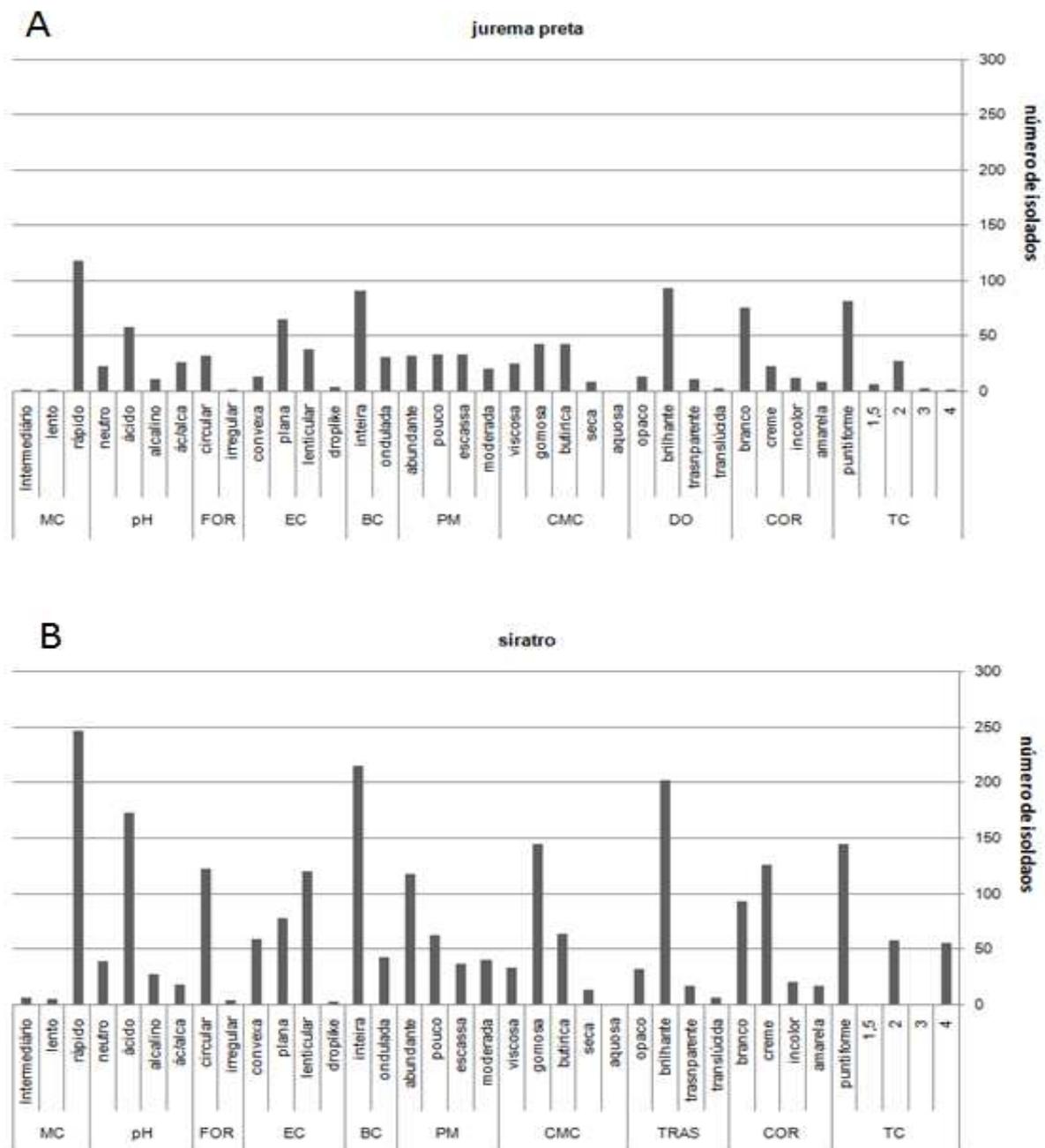
Foram obtidos a partir dos nódulos de siratro (*Macroptilium atropurpureum*) 259 isolados e para a jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) 122, totalizando 381 isolados com características típicas de BFNNL. Destes, 178 foram isolados de solo proveniente do habitat cerrado, 76 de brejo turfoso, 58 de campo pedregoso, 48 de afloramentos rochosos e finalmente 21 de brejo arenoso.

Por meio da caracterização cultural dos 381 isolados pode-se constatar que 96% formaram colônias em até dois dias de crescimento, o que caracteriza estirpes de crescimento rápido, 63% dos isolados apresentaram reação ácida em meio de cultura YMA (79) e 60% com até 1mm de tamanho da colônia (puntiforme). Além disso, os isolados apresentaram em sua maioria detalhe óptico brilhante, borda da colônia inteira, com consistência gomosa e produção de muco abundante com coloração variando entre a branca e creme.

A planta isca jurema preta apresentou uma maior seletividade para estirpes de crescimento rápido que acidificaram o meio de cultura YMA (79), de coloração branca e puntiforme (até 1mm de tamanho). A maior variação ocorrida entre os isolados desta planta isca foi quanto à característica produção de muco (PM) e consistência da colônia (CMC) variando principalmente entre gomosa, butírica e viscosa (Figura 1A).

A planta isca siratro não apresentou uniformidade quanto à distribuição dos isolados nas características avaliadas, podendo ser observado uma maior seletividade para estirpes de crescimento rápido que acidificam o meio de cultura YMA (79) com consistência gomosa e de tamanho até 1 mm (puntiforme). A maior variação para os

isolados desta planta isca foi para a coloração, elevação da colônia e produção de muco (Figura 1B).



**Figura 1.** Distribuição de todos os isolados obtidos de nódulos radiculares de e jurema preta (A) siratro (B), quanto às características morfológicas avaliadas em manifestação do crescimento (MC); alteração do pH (pH); forma da colônia (FOR); elevação da colônia (EC); borda da colônia (BC); produção de muco (PM); consistência da massa de crescimento (CMC); detalhes ópticos (DO) e tamanho da colônia (TC).

A partir da caracterização cultural, os isolados foram agrupados, conforme a planta isca, pelo método UPGMA ao nível de 60% de similaridade. Este tipo de agrupamento permitiu a formação de 39 grupos para a planta isca jurema preta e 52 grupos para o siratro (Tabela 3 e 4), sugerindo que as plantas isca utilizadas neste estudo nodulam com uma alta diversidade de bactérias.

A diversidade calculada pelo índice de Shannon mostrou diferenças entre a diversidade fenotípica nos distintos habitats avaliados com comportamento diferenciado entre as espécies de planta isca utilizado (Tabela 5).

De modo geral o siratro apresentou maiores índices de diversidade possibilitando uma melhor discriminação entre os habitats. Verificou-se ausência de diversidade de BNL em jurema preta para o habitat de brejo arenoso, demonstrando baixa promiscuidade desta espécie de planta isca para formar simbiose com populações nativas destes solos em relação ao siratro (Tabela 5).

Para o siratro a maior diversidade foi obtida em praticamente todos os habitats estudados excetuando para o cerrado onde a jurema preta apresentou o maior índice. A menor diversidade encontrada foi no brejo arenoso.

A maior diversidade pode ser atribuída para os habitats cerrado e brejo turfoso, conforme a planta isca utilizada, e a menor diversidade foi atribuída ao brejo arenoso independente da planta isca utilizada.

**Tabela 3** Principais características dos grupos culturais de bactérias que nodularam jurema preta em solos de campos rupestres formados pelo agrupamento método UPGMA a 60% de similaridade, e número de isolados classificados por grupo

Grupo	Caracterização cultural dos isolados <sup>(1)</sup>					Campos rupestres
	1	2	3	4	5	
1	Intermediário	Ácido	Abundante	Creme	2	1
2	Intermediário	Neutro	Pouco	Branca	1,5	1
3	Lento	Ácido/alcalino	Pouco	Branca	1	2
4	Rápido	Ácido	Abundante	Branca	1	1
5	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	2	14
6	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	2	1
7	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	3	1
8	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	1	1
9	Rápido	Ácido	Escassa	Amarela	1	18
10	Rápido	Ácido	Moderado	Amarela	4	1
11	Rápido	Ácido	Moderado	Branca	2	1
12	Rápido	Ácido	Moderado	Branca	4	1
13	Rápido	Ácido	Moderado	Branca	1	4
14	Rápido	Ácido	Moderado	Creme	1,5	3
15	Rápido	Ácido	Moderado	Creme	1	1
16	Rápido	Ácido	Pouco	Amarela	1,5	2
17	Rápido	Ácido	Pouco	Amarela	3	1
18	Rápido	Ácido	Pouco	Branca	1	8
19	Rápido	Ácido/alcalino	Abundante	Branca	1	7
20	Rápido	Ácido/alcalino	Escassa	Branca	1	8
21	Rápido	Ácido/alcalino	Moderado	Branca	2	1
22	Rápido	Ácido/alcalino	Moderado	Branca	1	4
23	Rápido	Ácido/alcalino	Moderado	Incolor	1	1
24	Rápido	Ácido/alcalino	Pouco	Branca	1	4
25	Rápido	Alcalino	Abundante	Branca	3	1
26	Rápido	Alcalino	Abundante	Branca	1	4
27	Rápido	Alcalino	Escassa	Amarelo	1	1
28	Rápido	Alcalino	Escassa	Branca	1	1
39	Rápido	Alcalino	Escassa	Incolor	1	1
30	Rápido	Alcalino	Moderado	Branca	2	2
31	Rápido	Alcalino	Pouco	Incolor	1	1
32	Rápido	Neutro	Abundante	Branca	2	2
33	Rápido	Neutro	Escassa	Incolor	1	9
34	Rápido	Neutro	Moderado	Branca	2	3
35	Rápido	Neutro	Pouco	Amarela	2	2
36	Rápido	Neutro	Pouco	Branca	1,5	1
37	Rápido	Neutro	Pouco	Branca	1	5
38	Rápido	Neutro	Pouco	Branca	2	1
39	Rápido	Neutro	Pouco	Incolor	1	1

<sup>(1)</sup> 1 manifestação do crescimento, 2- alteração do pH do meio de cultura 79; 3- produção de goma; 4- coloração das colônias; 5- tamanho do diâmetro das colônias em mm.

**Tabela 4** Principais características dos grupos culturais de bactérias que nodularam siratro em solos de campo rupestre formados pelo agrupamento método UPGMA a 60% de similaridade, e número de isolados classificados por grupo.

Grupo	Caracterização cultural dos isolados <sup>(1)</sup>					Campos Rupestres
	1	2	3	4	5	
1	Intermediario	Neutro	Pouco	Branca	1	1
2	Intermediario	Ácido	Abundante	Creme	1	2
3	Intermediario	Ácido	Abundante	Creme	2	1
4	Intermediario	Ácido	Pouco	Branca	1	1
5	Intermediario	Ácido/alcalino	Pouco	Branca	1	2
6	Lento	neutro	Pouco	Branca	2	1
7	Lento	Ácido	Pouco	Amarela	2	1
8	Lento	Alcalino	Pouco	Branca	1	4
9	Rápido	Neutro	Abundante	Branca	2	3
10	Rápido	Neutro	Abundante	Creme	4	4
11	Rápido	Neutro	Pouco	Branca	1	10
12	Rápido	Neutro	Pouco	Creme	1	3
13	Rápido	Neutro	Pouco	Incolor	1	2
14	Rápido	Neutro	Pouco	Amarela	1	1
15	Rápido	Neutro	Escassa	Amarela	1	7
16	Rápido	Neutro	Moderada	Branca	1	6
17	Rápido	Ácido	Abundante	Branca	2	5
18	Rápido	Ácido	Abundante	Branca	1	7
19	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	1	20
20	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	2	24
21	Rápido	Ácido	Abundante	Creme	4	50
22	Rápido	Ácido	Pouco	Branca	1	11
23	Rápido	Ácido	Pouco	Branca	2	3
24	Rápido	Ácido	Pouco	Creme	1	3
25	Rápido	Ácido	Pouco	Creme	2	1
26	Rápido	Ácido	Pouco	Creme	4	1
27	Rápido	Ácido	Pouco	Amarela	1	7
28	Rápido	Ácido	Pouco	Amarela	2	3
29	Rápido	Ácido	Escassa	Branca	1	1
30	Rápido	Ácido	Escassa	Incolor	1	5
31	Rápido	Ácido	Escassa	Amarela	1	3
32	Rápido	Ácido	Moderada	Branca	1	6
33	Rápido	Ácido	Moderada	Creme	1	7
34	Rápido	Ácido	Moderada	Creme	2	4
35	Rápido	Ácido	Moderada	Creme	2	8
36	Rápido	Ácido	Moderada	Incolor	1	2
37	Rápido	Alcalino	Abundante	Creme	4	1
38	Rápido	Alcalino	Abundante	Branca	1	1
39	Rápido	Alcalino	Pouco	Branca	1	5
40	Rápido	Alcalino	Pouco	Amarela	2	1
41	Rápido	Alcalino	Escassa	Branca	1	10
42	Rápido	Alcalino	Escassa	Amarela	1	2
43	Rápido	Alcalino	Moderada	Branca	1	1
44	Rápido	Alcalino	Moderada	Rosa	4	1
45	Rápido	Alcalino	Moderada	Incolor	2	1
46	Rápido	Ácido/alcalino	Abundante	Branca	1	2
47	Rápido	Ácido/alcalino	Abundante	Creme	4	1
48	Rápido	Ácido/alcalino	Pouco	Branca	1	4
49	Rápido	Ácido/alcalino	Pouco	Incolor	1	1
50	Rápido	Ácido/alcalino	Escassa	Branca	1	6
51	Rápido	Ácido/alcalino	Escassa	Incolor	1	1
52	Rápido	Ácido/alcalino	Moderada	Creme	1	1

<sup>(1)</sup> 1- manifestação do crescimento, 2- alteração do pH do meio de cultura; 3- produção de goma; 4- coloração das colônias; 5- tamanho das colônias em mm.

**Tabela 5** Número total de isolados de bactérias que nodulam leguminosas, obtidos de siratro e jurema preta, cultivados em amostras de solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, com seus respectivos índices de diversidade fenotípico.

Habitats	Número de isolados		Total de isolados	Índice de diversidade Shannon (H')	
	Jurema-preta	Siratro		Jurema-preta	Siratro
Afloramentos rochosos	15	33	48	0,94	1,26
Brejo turfoso	17	59	76	0,99	1,37
Brejo arenoso	1	20	21	-	1,00
Cerrado	81	97	178	1,34	1,20
Campo pedregoso	8	50	58	0,42	1,33
TOTAL	122	259	381	-	-

Isolados representantes dos grupos culturais formados tiveram o gene 16S rDNA parcialmente seqüenciados. As seqüências obtidas variaram de 471 a 905 pares de base e foram comparadas com as do banco de dados “Gen Bank”. A comparação revelou que as mesmas foram filogeneticamente relacionadas com espécies de bactérias que nodulam leguminosas no Filo  $\alpha$  -Proteobacteria e  $\beta$  - Proteobacteria. As similaridades dos representantes estudados com os acessados no Gen Bank variaram de 97% a 100% (Tabela 6 e 7; Figura 2 e 3).

Para grupos culturais com um número elevado de isolados foram selecionados mais de um representante para o seqüenciamento parcial do 16S rDNA, isto permitiu verificar que isolados de um mesmo grupo cultural podem ser classificados como espécies diferentes (ver grupos 15, 16, 19, 21, 22, 36 e 41) para siratro (Tabela 6), e (grupos 20, 21, 31 e 38 para jurema preta) (Tabela 7).

Dentre a divisão alfa e beta Proteobacteria os representantes do grupo formado pela planta isca siratro compreenderam 63% do  $\alpha$ -Proteobactéria sendo 96% destes pertencentes ao gênero *Rhizobium* e 4% do *Bradyrhizobium*. Os 47% do  $\beta$ -

proteobacteria foram compreendidos por sua totalidade pelo gênero *Burkholderia* (Tabela9)

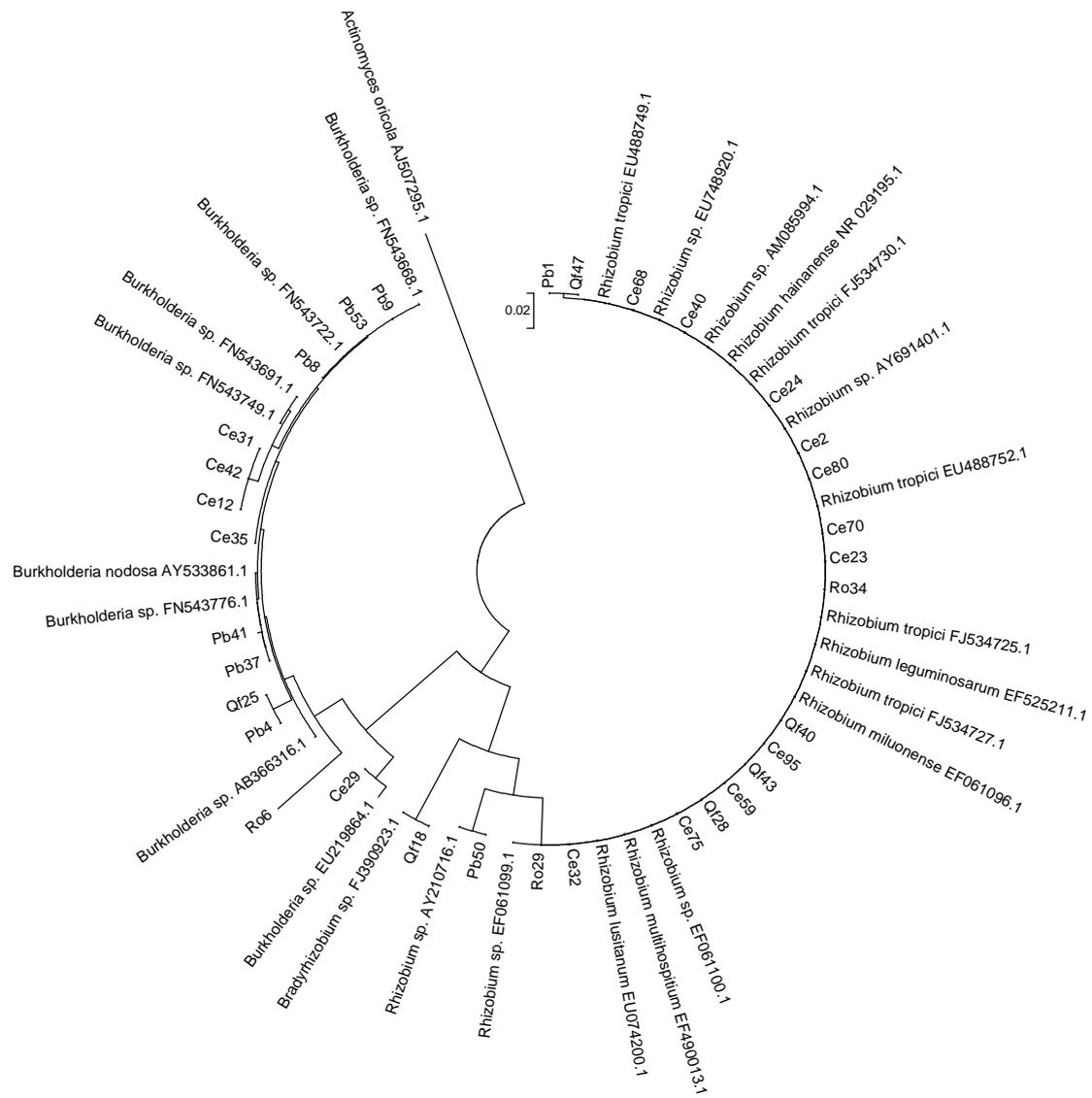
Para a planta isca jurema preta os representantes compreenderam praticamente o inverso ao encontrado para o siratro sendo 64% para o Filo  $\beta$ -Proteobacteria e 36% para o  $\alpha$ -Proteobactéria, sendo para este encontrado apenas um tipo genotípico, o *Rhizobium*. O  $\beta$ -Proteobacteria apresentou 96% do gênero *Burkholderia* e 4% para o *Ralstonia* (*Crupriavidus*) (Tabela 8).

Considerando as duas plantas iscas para o Filo alfa e beta Proteobacteria pode-se observar um predomínio de bactérias classificadas como pertencente ao gênero *Rhizobium* (51%) seguido do gênero *Burkholderia* (47%).

Todos os isolados pertencentes ao mesmo grupo cultural foram classificados genotipicamente conforme o seu representante. Houve diferença quanto ao gênero predominante conforme a planta isca utilizada, sendo o gênero *Rhizobium* (60%) predominante em siratro seguido por *Burkholderia* (19%). Para a planta isca jurema preta foi observado que 56% dos isolados foram classificados como pertencente ao gênero *Burkholderia* e 33% ao *Rhizobium* (Tabela 8 e 9).

**Tabela 6** Identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de siratro, baseado na similaridade das seqüências encontradas no GenBank (NCBI). São representativos de diferentes grupos culturais isolados de diferentes habitats de campo rupestres.

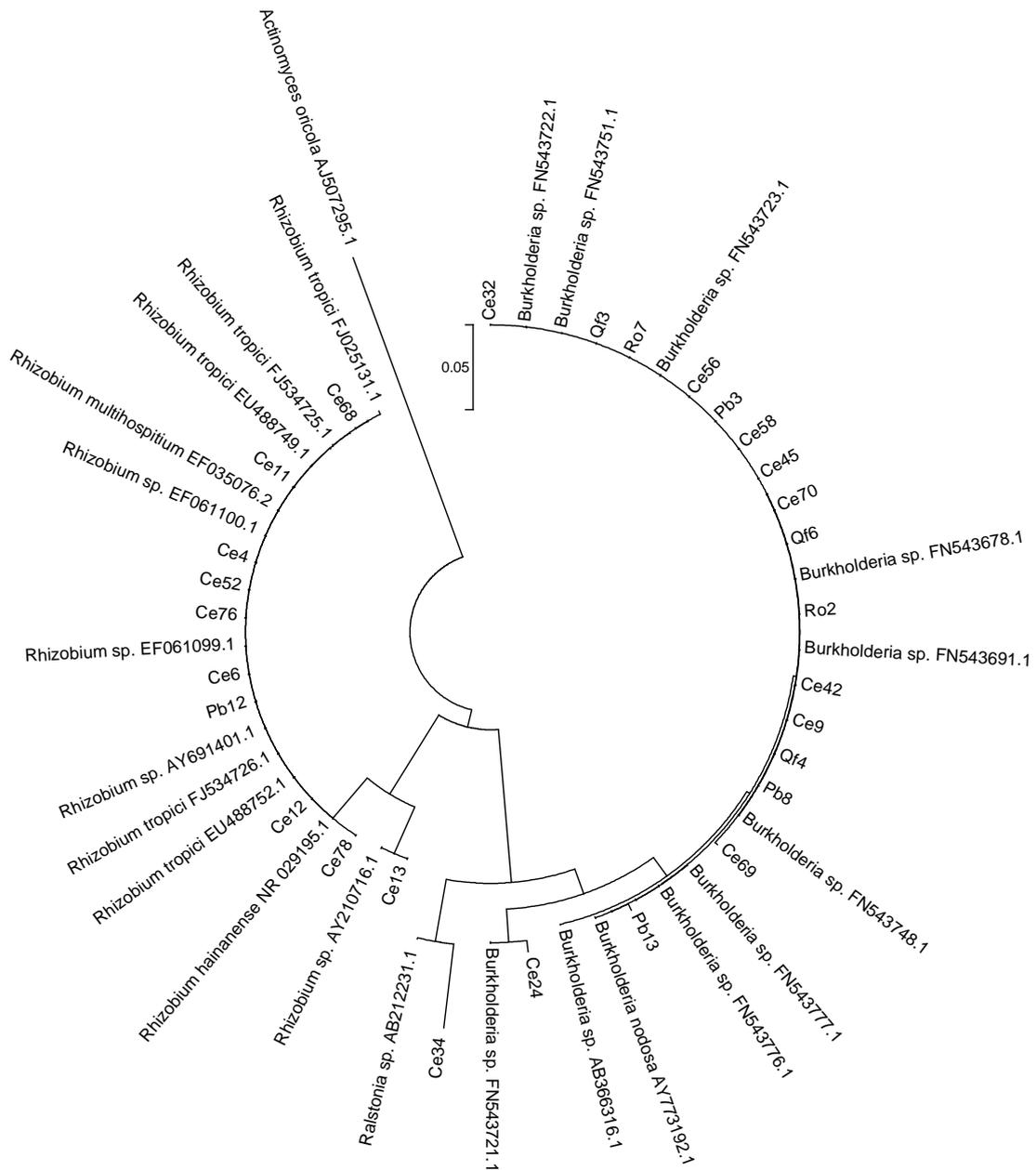
Habitat	Grupo cultural	Número de isolados no grupo	Número de pares de base	Seqüências mais similares encontradas no GenBank		
				Espécies	Similaridade %	Número de acesso
Ce59	2	2	701	<i>Rhizobium hainanense</i>	99	NR_029195.1
Ce57	3	1	471	<i>Rhizobium tropici</i>	99	FJ534725.1
Qf28	6	1	688	<i>Rhizobium hainanense</i>	99	NR_029195.1
Qf25	7	1	778	<i>Burkholderia</i> sp.	97	AB 366316.1
Qf19	8	4	809	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	100	FJ390923.1
Pb50	9	3	743	<i>Rhizobium</i> sp.	99	AY210716.1
Ro34	10	4	880	<i>Rhizobium tropici</i>	100	FJ527674.1
Ce68	15	7	610	<i>Rhizobium tropici</i>	98	FJ534727.1
Ce75	15	7	779	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	99	EJ525211.1
Ro29	16	6	864	<i>Rhizobium</i> sp.	100	EF061099.1
Ce95	16	6	872	<i>Rhizobium tropici</i>	100	EU488749.1
Qf47	17	5	616	<i>Rhizobium tropici</i>	99	FJ534730.1
Qf40	18	7	686	<i>Rhizobium tropici</i>	99	FJ534730.1
Pb1	19	20	609	<i>Rhizobium tropici</i>	99	FJ534730.1
Ce23	19	20	839	<i>Rhizobium hainanense</i>	99	NR_029195.1
Qf43	19	20	848	<i>Rhizobium</i> sp	100	FJ870553.1
Ce47	20	24	792	<i>Rhizobium tropici</i>	97	FJ534730.1
Ce2	21	50	863	<i>Rhizobium</i> sp.	99	EF061100.1
Ce24	21	50	733	<i>Rhizobium</i> sp.	99	AM085994.1
Pb41	22	11	608	<i>Burkholderia nodosa</i>	98	AY533861.1
Ce12	22	11	897	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543668.1
Pb9	23	3	850	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543776.1
Ce26	24	3	900	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543720.1
Pb51	29	1	786	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543751.1
Ce40	30	5	901	<i>Rhizobium</i> sp.	100	AY691401.1
Ce76	31	3	875	<i>Rhizobium</i> sp.	100	EF061100.1
Ce35	32	6	859	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543749.1
Ce31	33	7	902	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543668.1
Ce80	34	4	868	<i>Rhizobium lusitanum</i>	99	EU074200.1
Ce25	36	2	657	<i>Rhizobium</i> sp.	97	FJ534696.1
Ce42	36	2	902	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543668.1
Ce29	38	1	839	<i>Burkholderia</i> sp.	99	EU219864.1
Pb4	40	1	778	<i>Burkholderia</i> sp.	99	AB366316.1
Pb8	41	10	782	<i>Burkholderia nodosa</i>	99	AY533861.1
Ce41	41	10	710	<i>Rhizobium tropici</i>	98	EU488752.1
Ce32	41	10	875	<i>Rhizobium</i> sp.	100	EF061100.1
Pb11	46	2	740	<i>Rhizobium tropici</i>	98	EU488752.1
Ce70	47	1	852	<i>Rhizobium multihospitium</i>	100	EF490013.1
Ro6	48	4	619	<i>Burkholderia nodosa</i>	99	AY533861.1
Pb37	50	6	873	<i>Rhizobium tropici</i>	98	FJ534725.1
Pb53	51	1	800	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543722.1



**Figura 2** Relação filogenética entre isolados de nódulos de siratro depois da inoculação de amostras de solo vindas dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, baseado no seqüenciamento parcial do 16S rDNA de  $\alpha$ -Proteobactéria e  $\beta$ -Proteobactéria. A Filogenia foi estimada pelo método de neighbour-joining. O tamanho do alinhamento foi 420 pares de bases.

**Tabela 7** Identificação de bactérias fixadoras de nitrogênio isoladas de jurema preta, baseado na similaridade das seqüências encontradas no GenBank (NCBI). Os isolados são representativos de diferentes grupos culturais isolados de diferentes habitats de campo rupestres.

Habitat	Grupo cultural	Número de isolados no grupo	Número de pares de base	Seqüências mais similares encontradas no GenBank		
				Espécies	Similaridade %	Número de acesso
Ce41	3	2	778	<i>Burkholderia</i> sp.	97	AB366316.1
Ce66	5	1	471	<i>Rhizobium tropici</i>	97	FJ534725.1
Ce52	6	1	864	<i>Rhizobium tropici</i>	100	FJ025131.1
Ce78	7	3	872	<i>Rhizobium tropici</i>	100	EU488749.1
Ce6	8	1	864	<i>Rhizobium</i> sp.	100	EF061099.1
Ce24	9	2	519	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543721.1
Ce42	10	1	905	<i>Burkholderia nodosa</i>	99	AY773192.1
Ce36	11	14	505	<i>Rhizobium tropici</i>	97	FJ534726.1
Ce13	12	2	743	<i>Rhizobium</i> sp.	99	AY210716.1
Ce5	13	1	778	<i>Burkholderia</i> sp.	97	AB366316.1
Pb13	19	2	619	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543777.1
Ce45	20	8	678	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543723.1
Qf6	20	8	786	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543751.1
Ro5	21	18	827	<i>Burkholderia</i> sp.	96	DQ381722.1
Ce70	21	18	725	<i>Burkholderia</i> sp.	100	FN543691.1
Qf3	21	18	752	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543751.1
Ce56	22	1	800	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543722.1
Ce69	23	1	772	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543678.1
Qf4	24	8	786	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543751.1
Ce68	25	5	820	<i>Rhizobium multihospitium</i>	100	EF035076.2
Ro2	26	1	883	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543691.1
Ce34	27	4	674	<i>Ralstonia</i> sp.	99	AB212231.1
Pb3	28	4	645	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543691.1
Ro4	29	1	827	<i>Burkholderia</i> sp.	96	DQ381722.1
Ce9	30	4	859	<i>Burkholderia</i> sp.	100	FN543723.1
Ce4	31	7	820	<i>Rhizobium multihospitium</i>	100	EF035076.2
Ce12	31	7	700	<i>Rhizobium tropici</i>	99	EU488752.1
Pb8	32	4	866	<i>Burkholderia</i> sp.	100	FN543748.1
Ce79	33	3	723	<i>Rhizobium tropici</i>	97	FJ025131.1
Ce11	34	1	838	<i>Rhizobium hainanense</i>	99	NR_029195.1
Ce76	35	1	875	<i>Rhizobium</i> sp.	100	EF061100.1
Pb12	36	1	900	<i>Rhizobium</i> sp.	100	AY691401.1
Ce58	38	9	719	<i>Burkholderia nodosa</i>	99	AY773192.1
Ro7	38	9	786	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543691.1
Ce32	39	1	839	<i>Burkholderia</i> sp.	99	FN543776.1



**Figura 3** Relação filogenética entre isolados de nódulos de jurema preta depois da inoculação de amostras de solo vindas dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre em jurema preta baseado no seqüenciamento parcial do 16S rDNA de  $\alpha$ -Proteobactéria e  $\beta$ -Proteobactéria. A Filogenia foi estimada pelo método de neighbour-joining. O tamanho do alinhamento foi 470 pares de bases.

**Tabela 8** Classificação genotípica atribuída a cada grupo cultural e número de isolados de nódulos de jurema preta por habitat de estudo (Ce: cerrado; Pb: brejo turfoso; Sb: brejo arenoso, Ro: afloramento rochoso; Qf: campo pedregoso)

Grupo cultural	Número de isolados no grupo	Espécies/nº de acesso no Genbank	Habitats				
			Ce	Pb	Sb	Ro	Qf
1	1	<i>Paenibacillus</i> sp.	1	-	-	-	-
2	1	<i>Paenibacillus</i> sp.	1	-	-	-	-
3	2	<i>Burkholderia</i> sp. AB366316.1	2	-	-	-	-
4	2	<i>Paenibacillus</i> sp.	2	1	-	-	-
5	1	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534725.1	1	-	-	-	-
6	1	<i>Rhizobium tropici</i> FJ025131.1	1	-	-	-	-
7	3	<i>Rhizobium tropici</i> EU488749.1	3	-	-	-	-
8	1	<i>Rhizobium</i> sp. EF061099.1	1	-	-	-	-
9	2	<i>Burkholderia</i> sp. FN543721.1	1	1	-	-	-
10	1	<i>Burkholderia nodosa</i> AY773192.1	1	-	-	-	-
11	14	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534726.1	13	-	-	1	-
12	2	<i>Rhizobium</i> sp. EU239148.1	2	-	-	-	-
13	1	<i>Burkholderia</i> sp. AB366316.1	1	-	-	-	-
14	1	não amplificou	1	-	-	-	-
15	1	não amplificou	-	-	-	1	-
16	1	<i>Pantoea</i> sp.	1	-	-	-	-
17	1	<i>Pantoea</i> sp.	1	-	-	-	-
18	1	não amplificou	1	-	-	-	-
19	2	<i>Burkholderia</i> sp. FN543777.1	-	2	-	-	-
20	8	<i>Burkholderia</i> sp. FN543723.1	4	3	-	-	1
20	8	<i>Burkholderia</i> sp. FN543751.1	4	3	-	-	1
21	17	<i>Burkholderia</i> sp. DQ381722.1	6	3	1	3	4
21	17	<i>Burkholderia</i> sp. FN543691.1	6	3	1	3	4
21	17	<i>Burkholderia</i> sp. FN543751.1	6	3	1	3	4
22	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543722.1	1	-	-	-	-
23	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543678.1	1	-	-	-	-
24	8	<i>Burkholderia</i> sp. FN543751.1	3	1	-	1	3
25	5	<i>Rhizobium multihospitium</i> EF035076.2	5	-	-	-	-
26	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543691.1	-	-	-	1	-
27	4	<i>Ralstonia</i> sp. AB212231.1	2	1	-	1	-
28	4	<i>Burkholderia</i> sp. FN543691.1	1	1	-	2	-
29	1	<i>Burkholderia</i> sp. DQ381722.1	-	-	-	1	-
30	4	<i>Burkholderia</i> sp. FN543723.1	4	-	-	-	-
31	7	<i>Rhizobium tropici</i> EU488752.1	7	-	-	-	-
31	7	<i>Rhizobium multihospitium</i> EF035076.2	7	-	-	-	-
32	4	<i>Burkholderia</i> sp. FN543748.1	-	1	-	3	-
33	3	<i>Rhizobium tropici</i> FJ025131.1	3	-	-	-	-
34	1	<i>Rhizobium hainanense</i> NR_029195.1	1	-	-	-	-
35	1	<i>Rhizobium</i> sp. EF061100.1	1	-	-	-	-
36	1	<i>Rhizobium</i> sp. AY691401.1	-	1	-	-	-
37	1	não amplificou	1	-	-	-	-
38	9	<i>Burkholderia nodosa</i> FN543691.1	6	2	-	1	-
38	9	<i>Burkholderia</i> sp. FN543691.1	6	2	-	1	-
39	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543776.1	1	-	-	-	-

**Tabela 9** Classificação genotípica atribuída a cada grupo cultural e número de isolados de nódulos de siratro por habitat de estudo (Ce: cerrado; Pb: brejo turfoso; Sb: brejo arenoso, Ro: afloramento rochoso; Qf: campo pedregoso)

Grupo cultural	Número de isolados no grupo	Espécies	Habitats				
			Ce	Pb	Sb	Ro	Qf
1	1	<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	1	-
2	2	<i>Rhizobium hainanense</i> NR_029195.1	1	1	-	-	-
3	1	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534725.1	1	-	-	-	-
4	1	não amplificou	-	1	-	-	-
5	2	não amplificou	-	-	1	-	1
6	1	<i>Rhizobium hainanense</i> NR_029195.1	-	-	-	-	1
7	1	<i>Burkholderia</i> sp. AB366316.1	-	-	-	-	1
8	4	<i>Bradyrhizobium</i> sp.FJ390923.1	-	3	-	-	1
9	3	<i>Rhizobium</i> sp.EU239148.1	-	2	-	1	-
10	4	<i>Rhizobium tropici</i> FJ527674.1	2	1	-	1	-
11	10	<i>Paenibacillus</i> sp.	2	2	-	3	3
12	3	<i>Brevibacillus</i> sp	-	-	-	2	1
13	2	não amplificou	1	-	-	-	1
14	1	não amplificou	1	-	-	-	-
15	7	<i>Rhizobium tropici</i> FJ34727.1	3	1	-	2	1
15	7	<i>Rhizobium leguminosarum</i> EJ525211.1	3	1	-	2	1
16	6	<i>Rhizobium</i> sp. EF061099.1	1	-	-	4	1
16	6	<i>Rhizobium tropici</i> EU488749.1	1	-	-	4	1
17	5	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534730.1	-	2	1	-	2
18	7	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534730.1	1	2	-	1	3
19	20	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534730.1	7	5	1	1	6
19	20	<i>Rhizobium hainanense</i> NR_029195.1	7	5	1	1	6
19	20	<i>Rhizobium</i> sp. FJ870553.1	7	5	1	1	6
20	24	<i>Rhizobium tropici</i> . FJ534730.1	12	4	1	3	4
21	50	<i>Rhizobium</i> sp. EF061100.1	27	8	5	3	7
21	50	<i>Rhizobium</i> sp. AM085994.1	27	8	5	3	7
22	11	<i>Burkholderia nodosa</i> AY533861.1	7	2	1	1	-
22	11	<i>Burkholderia</i> sp. FN543668.1	7	2	1	1	-
23	3	<i>Burkholderia</i> sp. FN543776.1	-	2	-	1	-
24	3	<i>Burkholderia</i> sp.FN543720.1	2	1	-	-	-
25	1	<i>Brevibacillus</i> sp.	-	1	-	-	-
26	1	não amplificou	-	-	-	-	1
27	7	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	2	2	-	1	2
28	3	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	-	-	1	1	1
29	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543751.1	-	1	-	-	-
30	5	<i>Rhizobium</i> sp. AY691401.1	5	-	-	-	-
31	3	<i>Rhizobium</i> sp. EF061100.1	1	-	1	-	1
32	6	<i>Burkholderia</i> sp. FN543749.1	1	2	1	1	1
33	7	<i>Burkholderia</i> sp. FN543668.1	5	2	-	-	-
34	4	<i>Rhizobium lusitanum</i> EU074200.1	3	-	-	-	1
35	8	não amplificou	2	3	-	1	2
36	2	<i>Rhizobium</i> sp. FJ534696.1	2	-	-	-	-
36	2	<i>Burkholderia</i> sp.FN543668.1	-	-	-	-	-
37	1	<i>Pantoea</i> sp.	-	1	-	-	-
38	1	<i>Burkholderia</i> sp. EU219864.1	1	-	-	-	-
39	5	não amplificou	1	2	-	1	1
40	1	<i>Burkholderia</i> sp. AB366316.1	-	1	-	-	-
41	10	<i>Burkholderia nodosa</i> AY533861.1	1	2	4	2	1
41	10	<i>Rhizobium tropici</i> EU488752.1	1	2	4	2	1
41	10	<i>Rhizobium</i> sp. EF061100.1	1	2	4	2	1
42	2	<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	-	2
43	1	não amplificou	-	1	-	-	-
44	1	não amplificou	-	-	-	-	1
45	1	não amplificou	1	-	-	-	-

continua...

...continua

Grupo cultural <sup>2</sup>	Número de isolados no grupo	Espécies	Habitats				
			Ce	Pb	Sb	Ro	Qf
46	2	<i>Rhizobium tropici</i> EU488752.1	-	2	-	-	-
47	1	<i>Rhizobium multihospitium</i> EF490013.1	1	-	-	-	-
48	4	<i>Burkholderia nodosa</i> AY533861.1	1	-	1	1	1
49	1	<i>Paenibacillus</i> sp.	-	-	-	-	1
50	6	<i>Rhizobium tropici</i> FJ534725.1	1	2	1	1	1
51	1	<i>Burkholderia</i> sp. FN543722.1	-	-	1	-	-
52	1	não amplificou	1	-	-	-	-

A partir da classificação genotípica dos grupos culturais, foi calculado o índice de diversidade de Shannon, como forma de comparar a diversidade de bactérias BFNNL nos distintos habitats de campo rupestre (Tabela 10). Este cálculo permitiu verificar que a diversidade genotípica teve o mesmo comportamento que a diversidade fenotípica.

**Tabela 10** Número total de isolados de bactérias que nodulam leguminosas, obtidos de siratro e jurema preta, cultivados em amostras de solo dos diferentes habitats que constituem o mosaico de campo rupestre, com seus respectivos índices de diversidade genotípica.

Habitats	Número de isolados		Total de isolados	Índice de diversidade Shannon (H')	
	Jurema-preta	Siratro		Jurema-preta	Siratro
	Afloramentos rochosos	14		23	37
Brejo turfoso	16	43	59	0,88	0,96
Brejo arenoso	1	18	19	0,47	0,78
Cerrado	73	86	159	1,16	0,99
Campo pedregoso	8	32	40	0,52	0,88
TOTAL	112	202	314	-	-

## 6. DISCUSSÃO

A escolha da utilização do siratro (*Macroptilium atropurpureum*) como planta isca neste estudo, foi devido ao seu comportamento promíscuo bem conhecido (Moreira

2008). O siratro é considerado uma espécie nodulada principalmente, por estirpes do gênero *Bradyrhizobium* (Gibson et al. 1982, Thies et al. 1991, Odee et al. 1997), que por sua vez, é caracterizada por apresentar crescimento lento a muito lento, além de produzir uma reação alcalina no meio de cultura YMA (79) (Moreira & Siqueira 2006). Porém, trabalhos mais recentes e o presente estudo têm demonstrado que esta espécie de planta isca também é capaz de nodular principalmente com estirpes de crescimento rápido que acidificam o meio de cultura YMA (79) (Pereira 2000, Jesus et al. 2005), típicos dos gêneros pertencentes ao Filo  $\alpha$ -Proteobactéria: *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Allorhizobium* (Moreira & Siqueira 2006).

BFNNL de crescimento rápido são mais comuns em regiões áridas (Sprent 1994, Santos et al. 2007, Freitas et al. 2007), constituindo esta característica uma estratégia de sobrevivência, já que são mais tolerantes à seca quando comparadas as de crescimento lento, além de se multiplicarem mais rápido, em um curto espaço de tempo (Van Gestel et al. 1991), o que explicaria sua maior frequência em solos das regiões semi áridas (Martins 1997).

As plantas iscas utilizadas neste estudo apresentaram comportamento diferenciado em relação à capacidade de formar nódulos com bactérias presentes na população nativa. Esta diferença no comportamento de plantas iscas pode ser encontrada em outros estudos de diversidade de bactérias (Moreira & Pereira 2001, Melloni et al. 2006, Santos et al. 2007, Lammel et al. 2007). Estes dados reforçam a importância da utilização de mais de uma planta isca em estudos de diversidade destes microrganismos.

Além disso, quando realizada a classificação genotípica dos representantes dos grupos fenotípicos pode-se observar que, apesar da jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) apresentar de maneira geral uma menor diversidade para os habitats em relação ao

siratro, esta foi capaz de nodular em sua maioria com espécies do Filo  $\beta$ -Proteobacteria em especial com o gênero *Burkholderia* reforçando o trabalho de Bontemps et al. (2010) que reconheceram este gênero como o principal simbiote em *Mimosa*.

A maioria das bactérias isoladas foi identificada como pertencente ao gênero *Rhizobium*, podendo-se destacar a espécie *Rhizobium tropici* como a de maior ocorrência entre todos os isolados do presente trabalho. Os representantes deste estudo foram agrupados principalmente com estirpes de *Rhizobium tropici* (FJ534725.1; FJ534730.1; FJ534727.1) isolados na região amazônica (Lima et al. 2009) e em culturas de feijão (EU488749.1 e EU488752.1) (Ribeiro et al. 2009).

Além desta espécie, as seqüências obtidas neste estudo para o Filo  $\alpha$ -Proteobactéria foram similares a estirpes isoladas de diferentes ecossistemas incluindo regiões temperadas e subtropicais da China (*Rhizobium* sp. EF061100.1) (Gu et al. 2007), em espécies nativas da China (*Rhizobium multihospitium*) (Han et al. 2008) e em espécies endêmicas de Madagascar (*Rhizobium* sp. AM085994.1) (Rasolomampianina et al., 2005).

Quanto ao segundo gênero mais expressivo encontrado neste estudo o *Burkholderia*, pode-se constatar que os representantes se agruparam com estirpes isoladas por Patreze & Cordeiro 2004, Chen et al. (2005) e principalmente com as de Bontemps et al. (2010). Este último abrangeu o estudo da diversidade de *Burkholderia* em vários ecossistemas brasileiros, incluindo o cerrado onde os mesmos atribuíram a este uma diversidade intermediária entre os ecossistemas de Caatinga (mais diverso) e Pantanal (menos diverso).

Uma maior diversidade de bactérias foi encontrada no habitat cerrado. Este resultado era esperado visto que neste ambiente existe a maior riqueza de espécies da família Leguminosae em relação aos demais habitats constituintes do mosaico de campo

rupestre. Este habitat compreendeu 47% do total de isolados, sendo a maioria classificada pertencente ao gênero *Rhizobium*.

Os isolados obtidos do solo proveniente do brejo turfoso corresponderam a aproximadamente 20% do total e foi o segundo habitat mais diverso com predominância do gênero *Rhizobium*, apesar de não sido relatada a ocorrência de leguminosas. Uma explicação para este fato é a localidade dos brejos turfosos. Duas das parcelas estudadas para este habitat faz fronteira com o habitat cerrado, e possivelmente o vento e mesmo a chuva podem estar transportando estas bactérias. Uma evidência para este fato é que a maior parte dos isolados destes habitats corresponderam ao mesmo grupo cultural e, portanto a mesma classificação genética.

A ocorrência de algumas espécies nos brejos turfosos que não foram encontradas no cerrado, pode ser devido à terceira parcela de brejo turfoso estudada fazer fronteira com campo pedregoso e um afloramento rochoso não avaliados neste estudo.

A mesma conclusão pode ser feita para o brejo arenoso, já que este está inserido entre os afloramentos rochosos e ainda apresentou a ocorrência das mesmas espécies.

O mosaico de habitats que constitui os campos rupestres apresentou ser fonte de alta diversidade de BFNNL, mesmo estando subestimada, visto que isolados de um mesmo grupo cultural foram classificados como sendo de espécies diferentes. Além disso, se considerarmos estirpes este pode ser ainda muito mais diverso.

Os resultados sugerem que a diversidade de BFNNL esteve intimamente ligada às diferenças existentes nestes habitats, já que uma composição diferente de BFNNL pode ser observada entre os habitats.

## **7. CONCLUSÃO**

Este estudo contribuiu para o conhecimento da diversidade de BFNNL em campos rupestres e no Brasil, e fornece o primeiro passo para o desenvolvimento de novas pesquisas visando avaliar a potencialidade destes isolados para uso como inoculantes em leguminosas nativas e cultivadas promovendo a seleção de estirpes adaptadas visando à recuperação de áreas degradadas e a produção sustentável de grãos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade DS, Hamakawa PJ (1994) Estimativa do número de células de rizóbio no solo e inoculantes por infecção em planta. In: HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S., eds. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira, p.63-94.
- Bontemps C, Elliott GN, Simon MF, dos Reis FB, Gross E, Neto, NE, Lawton R, de Fattima Loureiro M, de Faria SM, prent JI, James EK, Young PW (2010) Burkholderia species are ancient symbionts of legumes. Mol. Ecol. 19:44-52.
- Chen WM, de Faria SM, Straliootto R, Pitard RM, Simões-Araújo JL, Chou JH, Chou YJ, Barrios E, Prescott AR, Elliott GN, Sprent JI, Young JP, James EK (2005) Proof that Burkholderia strains form effective symbioses with legumes: a study of novel Mimosa-nodulating strains from South America. Appl Environ Microbiol. 2005 Nov;71(11):7461-71.
- Conceição AA (2000) Alerta para a conservação da biota na Chapada Diamantina. Ciência Hoje 27:54-56.
- Conceição AA, Giuliatti AM (2002) Composição florística e aspectos estruturais de campo rupestre em dois platôs do Morro do Pai Inácio, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. Hoehnea 29 (1) 37-48.
- Conceição AA, Pirani JR (2005) Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina: substratos, composição florística e aspectos estruturais. Bol Bot Uni de São Paulo 23:85-111.
- Conceição AA, Pirani JR (2007) Diversidade em quatro áreas de campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: espécies distintas, mais riquezas similares. Rodriguésia 58:193-206.

- Fred EB, Waksman SA (1928) Laboratory manual of general microbiology - with special reference to the microorganisms of the soil. New York: McGraw-Hill Book Company, 145p.
- Freitas ADS, Vieira CL, Santos CERS, Stamford NP, Lyra MCCP (2007) Caracterização de rizóbios isolados de Jacatupé cultivado em solo salino do estado de Pernambuco, Brasil. *Bragantia* 66:497-504.
- Gibson AH, Dreyfus BL, Dommergues YR (1982) Nitrogen fixation by legumes in the tropics. Hague, Holanda: Martinez Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers
- Giulietti AM, Menezes NL, Pirani JR, Wanderley MGL (1987) Flora da Serra do Cipó: caracterização e lista das espécies. *Bol Bot* 9:1-151.
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM (1997) Espinhaço range region, eastern Brazil. In: Davis SD, Heywood VH, Herrera-Macbride O, Villa-Lobos J, Hamilton AC (eds) *Centres of Plant Diversity: A Guide and Strategy for their Conservation*. Cambridge: IUCN Publication Unity, pp 397-404.
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP, Wanderley MGL, Pirani JR (2000) Caracterização de endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. In: Cavalcanti TB, Walter BTM (eds) *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília: SBB/Embrapa, pp 311-318.
- Gu CT, Wang ET, Sui XH, Chen WF, Chen WX (2007) Diversity and geographical distribution of rhizobia associated with *Lespedeza* spp. in temperate and subtropical regions of China. *Arch Microbiol.* 188(4):355-65.
- Han TX, Wang ET, Wu LJ, Chen WF, Gu JG, Gu CT, Tian CF, Chen WX (2008) *Rhizobium multihospitium* sp. nov., isolated from multiple legume species native of Xinjiang, China. *Int J Syst Evol Microbiol* 58:1693-1699; DOI 10.1099/ijs.0.65568-0.

- Jesus E Da C, Florentino LA, Rodrigues MID, Oliveira MS De, Moreira FM de S (2005) Leguminosae nodulating bacteria diversity from three land use systems in Brazilian Western Amazon. *Pesqui Agropecu Bras* 40:769–776.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16:111-120.
- Lammel DR, Brancalion PHS, Dias CTS, Cardoso EJBN (2007) Rhizobia and other legume nodule bacteria richness in Brazilian *Araucaria angustifolia* forest. *Sci. Agric.* 64:400-408.
- Lima AS, Nóbrega RSA, Barberi A, Silva K, Ferreira DF, Moreira FMS (2009) Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Region as indicated by nodulation of siratro (*Macropodium atropurpureum*). *Plantsoil* DOI: 10.1007/s11104-008-9855-2.
- Martins LMU, Neves MCP, Rumjanek NG (1997) Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east of Brazil. *Soil Biol Bioch* 29:1005-1010.
- Madeira JA, Fernandes GW (1999) Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* Leguminosae in Serra do Cipó. *Brazil J Trop Ecol* 15:463–479.
- Melloni R, Moreira FMS, Nóbrega RSAN, Siqueira JO (2006) 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. *R Bras Ci Solo* 30:235-246.
- Menezes NL, Giuliatti AM (2000) Campo Rupestre. In: Mendonça MP, Lins LV (eds) Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção de Minas Gerais. Fundação Biodiversitas e Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. pp 76-83.

- Moreira FMS (2008) Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brusaard L (eds) Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras/ Ed. UFLA pp 621-681.
- Moreira FMS, Pereira EG (2001) Microsymbionts: rhizobia. In: Swift M, Bignell D (eds.) Standard methods for assessment of soil biodiversity and land use practice. Bogor: ICRAF, p.19-24. (ASB Lecture Note 6B).
- Moreira FMS, Siqueira JO (2006). Microbiologia e bioquímica do solo. 2º ed. UFLA, Lavras. 729p.
- Odee DW, Sutherland JM, Makatiani ET, Mcinroy SG, Sprent JI (1997) Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. *Plant and Soil* 188:65-75.
- Patreze CM, Cordeiro L (2004) Nitrogen-fixing and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimosae. *Forest Ecol. Manage.* 196:275-285.
- Pereira EG (2000) Diversidade de rizóbios isolados de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 93p.
- Rasolomampianina R, Bailly X, Fetiariison R, Rabevohitra R, Béna G, Ramaroson L, Raherimandimby M, Moulin L, De Lajudie P, Dreyfus B, Avarre JC (2005) Nitrogen-fixing nodules from rose wood legume trees (*Dalbergia* spp.) endemic to Madagascar host seven different genera belonging to alpha- and beta-Proteobacteria. *Mol Ecol.* 14(13):4135-46.
- Ribeiro RA, Barcellos FG, Thompson FL, Hungria M (2009) Multilocus sequence analysis of Brazilian *Rhizobium* microsymbionts of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) reveals unexpected taxonomic diversity. *Res Microbiol.* 160(4):297-306.

- Shannon CE, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. Urbana. University Illinois Press.
- Santos CER, Stamford NP, Neves MCP, Runjanek NG, Borger WL, Bezerra R, Freitas ADS (2007) Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. *Agraria*. 2:249-266.
- Sprent JI (1994) Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis: chaos theory? *Plant and Soil* 161:1-10.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA 4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 *Mol Biol Evol* 24:1596-1599.
- Thies JE, Bohlool BB, Singleton PW (1991) Subgroups of the cowpea mesocell: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogea* and *Macroptilium atropurpureum*. *Appl Env Mic* 57:1540-1545.
- Van Gestel M, Ladd JN, Amato M (1991) Carbon and nitrogen mineralization from two soils of contrasting texture and microaggregate stability: influence of sequential fumigation, drying and storage. *Soil Biol Bioch* 23:313-322.
- Viana LR, Fernandes GW, Silva CA (2005) Ecological road threatens endemic Brazilian plant with extinction. *Plant Talk* 41:15.
- Vincent, JM (1970) A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific Publications.