



INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS
MESTRADO EM SUSTENTABILIDADE E TECNOLOGIA AMBIENTAL

AMANDA AVELINA CARVALHO SILVA

**LEVANTAMENTO DA COMUNIDADE BACTERIANA EM DIFERENTES TIPOS
DE SOLO IMPACTADOS E NÃO IMPACTADOS POR QUEIMADAS NO PARQUE
NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA – MINAS GERAIS**

BAMBUÍ - MG

2019

AMANDA AVELINA CARVALHO SILVA

**LEVANTAMENTO DA COMUNIDADE BACTERIANA EM DIFERENTES TIPOS
DE SOLO IMPACTADOS E NÃO IMPACTADOS POR QUEIMADAS NO PARQUE
NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA – MINAS GERAIS**

Dissertação submetida à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - IFMG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Paiva Barbosa.

Coorientador: Dr. Ricardo Alexandre da Silva.

Linha de Pesquisa: Ecologia Aplicada.

BAMBUÍ - MG

2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE MINAS GERAIS

Avenida Professor Mário Werneck, nº. 2590, Bairro Burity, Belo Horizonte, CEP 30575-180,
Estado de Minas Gerais



FICHA DE APROVAÇÃO

Dissertação de Mestrado, intitulada “**LEVANTAMENTO DA COMUNIDADE BACTERIANA EM DIFERENTES TIPOS DE SOLO IMPACTADOS E NÃO IMPACTADOS POR QUEIMADAS NO PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA – MINAS GERAIS**”, de autoria da mestrandia em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental **Amanda Avelina Carvalho Silva**, aprovada pela Banca Examinadora de Defesa, em 10/08/2019, com a média de pontuação de 79,4.

Título do Trabalho – houve alteração () Sim (X) Não

Se sim, qual o título _____

BambuÍ (MG), 10 de agosto de 2019.

Prof. Dr. Leonardo de Paiva Barbosa – Orientador – (IFMG/Ponte Nova)

Profª. Dra. Fernanda Carla Wasner Vasconcelos – (Pesquisadora – UFMG)

Prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte – (IFMG/BambuÍ)

Prof. Dr. Raphael Steinberg da Silva – (IFMG/BambuÍ)

Servidor Dr. Ricardo Alexandre da Silva - (IFMG/BambuÍ)

Profª. Dra. Simone Magela Moreira – (IFMG/BambuÍ)
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade e Tecnologia
Ambiental do IFMG – *Campus* Bambuí

S5861 Silva, Amanda Avelina Carvalho.

Levantamento da comunidade bacteriana em diferentes tipos de solo impactados e não impactados por queimadas no Parque Nacional da Serra da Canastra – Minas Gerais. / Amanda Avelina Carvalho Silva. – Bambuí, 2019.

102 f.: il.; color.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Paiva Barbosa.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, Curso Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, 2019.

1. Diversidade. 2. Microrganismos. 3. Solo. I. Barbosa, Leonardo de Paiva. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG. III. Título.

CDD 579

Deus, senhor da minha vida, meu auxílio e fortaleza, que sustenta todos meus caminhos e me conduziu até aqui. Ao meu Pai Túlio, meu provedor, protetor e melhor amigo (meu herói), à minha mãe Gilva, rainha da minha vida. À minha avó Ascendina (in memoriam) por ser meu maior exemplo de garra e determinação. Ao meu namorado Hugo Gabriel, por todo amor, apoio, companheirismo, paciência e incentivo nos momentos em que pensei desistir. Ao meu irmão Túlio César, aos meus amigos, colegas e demais pessoas que torceram e me apoiaram nessa conquista. Dedico a vocês que amo tanto!

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pelo dom da perseverança e pelas bênçãos que recebo diariamente!

A toda minha amada família, por todo apoio, torcida e paciência!

Ao Hugo Gabriel, meu amor, pela dedicação, compreensão e companheirismo, principalmente nos dias mais difíceis!

Ao prof. Dr. Leonardo de Paiva Barbosa, pela orientação, paciência e confiança depositada na realização desse trabalho!

Ao servidor Dr. Ricardo Alexandre Silva, pela coorientação, paciência, confiança, amizade, pelos conselhos em momentos difíceis no decorrer do mestrado e pelo empenho dedicado a este trabalho.

Ao prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte, pela orientação inicial, pela confiança, pelos puxões de orelha quando necessário, pelos conselhos em momentos difíceis, enfim pela amizade.

Ao Mestre Luciano Queiroz da Universidade Federal de São Paulo, pelo suporte e colaboração nas análises de bioinformática.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - *Campus* Bambuí e ao Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental pela oportunidade de realização desse sonho!

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - *Campus* Bambuí pela oportunidade de realização desse mestrado e por ceder o Laboratório de Biologia Molecular, possibilitando as análises moleculares.

A parceria do Professor Dr. Gustavo Augusto Lacorte e do servidor Dr. Ricardo Alexandre da Silva por serem idealizadores desse projeto e que aceitaram a embarcar comigo nessa jornada no início do curso do mestrado e por termos tido a oportunidade de submeter o projeto ao Programa Institucional de Pesquisa Aplicada do IFMG – Edital 104/2016, que nos forneceu o financiamento do projeto.

Ao ICMBio, por permitir a execução desse trabalho no Parque Nacional da Serra da Canastra e pelo convite de realizá-lo na primeira execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC .

A todos os funcionários do ICMBio e brigadistas por me acolherem e me ajudarem nas coletas de campo.

Aos amigos do Programa de pós-graduação em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental por compartilharem todos os momentos de aflição, conhecimento e pelos ótimos momentos de descontração!

Um agradecimento especial à Natália Maria Elias e a minha cunhada Ana Laura Carvalho Emerick, pela amizade, incentivo e suporte psicológico! Muito obrigada!

A todos os meus amigos queridos! Especialmente às minhas companheiras de batalhas acadêmicas, Fabiana Rocha, Fernanda Ferreira, Liliam Reis, Júnia Vidal e Manoela Sodré, que sabem bem o significado da finalização desta etapa!

E o meu obrigado a todos que direta ou indiretamente sempre contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“ Mil cairão ao teu lado, e dez mil, à tua direita, mas tu não serás atingido. Somente com os teus olhos olharás e verás a recompensa dos ímpios. Porque tu, ó Senhor, és o meu refúgio! O Altíssimo é a tua habitação. Nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará a tua tenda. ” (Salmos 91; 7-10)

BIOGRAFIA

Amanda Avelina Carvalho Silva, filha de Gilva Carvalho da Silva e Túlio Servoli da Silva, natural de Bambuí – MG, nascida no dia 09 de julho de 1991.

Ensino Médio no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, *Campus* Bambuí (IFMG), em concomitância com o curso Técnico em Informática, com conclusão em 2010.

Em setembro de 2010, ingressei no Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas, pelo IFMG *Campus* Bambuí. No decorrer da graduação, tive a oportunidade de ser bolsista atividade no projeto Consumo consciente e reciclagem de papel no qual realizamos um mutirão pelo campus recolhendo papéis, livros e cadernos usados para reciclagem, também distribuimos lixeiras devidamente identificadas para descarte de papéis para reciclagem, em 2011 fomos classificados em 2º lugar na feira Interdisciplinar de produção acadêmica – FIPA.

Em 2012 fui selecionada para participar do Projeto Rondon, Operação Capim Dourado em Porto Nacional – TO, executamos muitos projetos sociais correlacionados com nossa área de graduação, foi uma experiência essencial na minha formação acadêmica e pessoal.

Em 2013, participei como voluntária no projeto de Levantamentos de árvores frutíferas nativas de Cerrado no *Campus* do Instituto.

Ainda em 2013 a 2014, tive a oportunidade de ser bolsista no Programa Institucional de Bolsa à Docência – PIBID/IFMG, sendo crucial na minha formação acadêmica e profissional, consolidando a teoria com a prática vivenciada em sala de aula.

Em 2015 iniciei uma Pós-graduação Lato Senso à distância em MBA executivo em Gestão Ambiental pela Universidade Candido Mendes – UCAM sendo concluída em 2017.

Em 2017, ingressei-me como aluna regular no Programa de Pós-graduação, Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, do IFMG *Campus* Bambuí.

Atualmente sou professora de Informática pela Rede Municipal de Ensino.

RESUMO

A perda de diversidade e habitats em áreas do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) é um fenômeno natural devido a queimadas por descargas elétricas naturais (raios), mas que tem se intensificado devido a ocorrência de queimadas por causas antrópicas. Após a ocorrência do fogo, as áreas levam anos para se recuperarem, dependendo, dentre outros fatores, da microbiota bacteriana do solo. Nesse sentido, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar de acordo com o histórico de queimadas em determinadas áreas do PNSC, as variações de diversidade nas comunidades bacterianas dos solos impactados e não impactados por queimadas, durante o 1º Manejo Integrado do Fogo (MIF), no Parque Nacional da Serra da Canastra. Para tanto, foram utilizadas amostras de solo de 8 áreas distintas: (1) maior histórico de queimadas; (2) menor histórico de queimadas; (3) queimada no último ano; (4) queimada há dois anos; (5) antes da queimada - MIF; (6) após a queimada (a favor do vento - coletada 30-40 minutos aproximadamente após a queimada); (7) antes da queimada - MIF; (8) após a queimada (contra o vento - coletada imediatamente após a queimada) e a partir delas realizadas caracterização físico-químicas, diversidade de solos e análises de microbioma. Para se obter um parâmetro do efeito das queimadas na população das bactérias do solo, a fim de se observar a formação de agrupamentos foi realizado uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), sendo possível observar que a área com maior histórico de queimadas se mostra similar a área antes da queimada (sem influência de queimadas por dois anos); da mesma forma, após a queimada, essa mesma área ainda mostra similaridade entre as áreas, formando um agrupamento de similaridade de riqueza amostral mais próximo. Além disso, as áreas queimadas há um ano e há dois anos também formam grupos mais similares entre si. Para melhor compreensão do efeito do fogo sobre as comunidades microbianas foi realizado um teste de Correlação da função envfit do pacote Vegan, *versus* as variáveis físico-químicas com os eixos da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) onde, evidenciou-se que o manejo integrado do fogo não causou diferenças significativas nas propriedades físico-químicas dos solos em todas as áreas estudadas. No que diz respeito a composição filogenética das áreas estudadas, foi realizada a abundância relativa em níveis de Filo (97%), Classe (86%), Ordem (64%), Família (50%) e Gênero (21%). Sendo encontrado em maior abundância relativa os membros dos principais filos bacterianos (*Acidobacteria* (29%), *Proteobacteria* (28%), *Actinobacteria* (19%). A nível de gêneros, um baixo número de sequências foi classificado (21%), sendo os gêneros mais abundantes: *Acidibacter sp.* (4%), *Acidothermus sp.* (3%), *Bryobacter sp.* (3%), *Candidatus xiphinematobacter sp.* (2%), *Mycobacterium sp.* (2%), *Candidatus koribacter sp.* (2%), *Bradyrhizobium sp.* (2%), *Burkholderia sp.* (1%), *Isosphaera sp.* (1%), *Telmatobacter sp.* (1%) e não sendo classificados (75%). Com relação a avaliação da qualidade do solo, optou-se por utilizar como grupo chave de bioindicadores de qualidade do solo, as bactérias fixadoras de nitrogênio que possuem o gene *Nitrogenase Redutase (nifH)* (K02588), através do programa PICRUSt (phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states) ao qual cria-se uma predição da abundância de famílias gênicas a partir de marcadores filogenéticos. Dessa forma, por meio da técnica de microbioma do rRNA 16S constatou-se que a abundância de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) preditos que possuem o gene *nifH* (K02588) foi menor de 0,001% do total de genes preditos para todas as amostras estudadas. Pôde-se observar que, nas amostragens estudadas, os gêneros que possuem o gene *nifH* (K02588) são encontrados em todas as áreas e nas camadas do solo (0-10cm) e (10-20cm) analisadas. Sendo observados os grupos de bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium sp.*, *Burkholderia sp.*, *Kaistobacter sp.*, *Pedomicrobium sp.*, *Phormidium sp.* e *Rhodoplanes*

sp. A partir das análises das áreas estudadas, foi observado que houve diminuição ou inativação dos gêneros *Kaistobacteria sp.* e *Phormidium sp.* após a passagem do fogo. No entanto, o grupo das fixadoras de nitrogênio se manteve presente. Dessa forma, o presente estudo através da técnica de microbioma mostrou que a composição da microbiota do solo em relação as áreas com distintos históricos de queimadas e antes e após o MIF continuaram similares, dessa forma cabe ressaltar a eficiência da técnica de Manejo integrado do fogo uma vez que se garante a qualidade do solo não ocasionando impactos significativos na comunidade microbiana e não altera significamente as propriedades físico-químicas do solo, além de ser crucial para a prevenção de incêndios florestais acidentais ou criminosos e preservação de biodiversidade. Por fim, cabe ressaltar que, embora as análises moleculares desse trabalho não tenham apresentado alteração na riqueza das comunidades das diferentes áreas estudadas com tempos distintos de queimadas e no Manejo Integrado do Fogo, o fogo pode ter um impacto pronunciado na umidade, diminuição de nutrientes, temperatura e pH do solo, resultando em mudanças na estrutura da comunidade microbiana metabolicamente ativa. Sendo necessários mais estudos sobre o real impacto do fogo na microbiota do solo de Cerrado, uma vez que a técnica de microbioma não permite visualizar os grupos de microrganismos metabolicamente ativos, além de nos deparar com os diferentes tipos de solo no bioma Cerrado, o que dificulta nossa comparação.

Palavras-chave: Diversidade; Microrganismos; Solo.

Abstract

The loss of diversity and habitats in areas of the Serra da Canastra National Park (PNSC) is a natural phenomenon due to natural lightning (lightning) burns, but has intensified due to anthropogenic burns. After the occurrence of fire, the areas take years to recover, depending, among other factors, on the soil bacterial microbiota. In this sense, the general objective of this work was to evaluate, according to the history of burning in certain areas of the PNSC, the diversity variations in the bacterial communities of the impacted and non-impacted soils during the 1st Integrated Fire Management (FIM), in the Serra da Canastra National Park. For this purpose, soil samples from 8 different areas were used: (1) higher burn history; (2) lower history of burnings; (3) burned in the last year; (4) burned two years ago; (5) before burning - MIF; (6) after burning (downwind - collected approximately 30-40 minutes after burning); (7) before burning - MIF; (8) after burning (upwind - collected immediately after burning) and from them performed physicochemical characterization, soil diversity and microbiome analysis. In order to obtain a parameter of the effect of burning on the soil bacterial population, in order to observe the formation of clusters, a Principal Coordinate Analysis (PCoA) was carried out, showing that the area with the highest burning history is similar to the area before burning (no influence of burning for two years); Likewise, after burning, this same area still shows similarity between the areas, forming a cluster of similar sample richness similarities. In addition, the areas burned a year ago and two years ago also form groups that are more similar to each other. For a better understanding of the effect of fire on microbial communities, a Vegan package envfit function correlation test was performed versus the physicochemical variables with the axes of the Principal Coordinate Analysis (PCoA) where it was evidenced that the integrated management of fire did not cause significant differences in the physicochemical properties of soils in all studied areas. Regarding the phylogenetic composition of the studied areas, relative abundance was performed at Phylum (97%), Class (86%), Order (64%), Family (50%) and Genus (21%) levels. Being found in greater relative abundance the members of the main bacterial phyla (Acidobacteria (29%), Proteobacteria (28%), Actinobacteria (19%). At genus level, a low number of sequences was classified (21%). most abundant genera: Acidibacter sp. (4%), Acidothermus sp. (3%), Bryobacter sp. (3%), Candidatus xiphinematobacter sp. (2%), Mycobacterium sp. (2%), Candidatus koribacter sp. (2%), Bradyrhizobium sp. (2%), Burkholderia sp. (1%), Isosphaera sp. (1%), Telmatobacter sp. (1%) and not being rated (75%). As a key group of soil quality bioindicators, Nitrogenase Reductase (nifH) (K02588) nitrogen-fixing bacteria were used as a key group of soil quality bioindicators.) which predicts the abundance of gene families from phylogenetic markers Thus, using the 16S rRNA microbiome technique, it was found that the abundance of predicted Operating Taxonomic Units (OTUs) that have the nifH gene (K02588) was less than 0.001% of the total predicted genes for all samples studied. . It was observed that, in the studied samples, genera that have the nifH gene (K02588) are found in all areas and in the soil layers (0-10cm) and (10-20cm) analyzed. The bacterial groups of the genera Bradyrhizobium sp., Burkholderia sp., Kaistobacter sp., Pedomicrobium sp., Phormidium sp. and Rhodoplanes sp. From the analysis of the studied areas, it was observed that there was a decrease or inactivation of the genera Kaistobacter sp. and Phormidium sp. after the passing of the fire. However, the nitrogen fixation group remained present. Thus, the present study through the microbiome technique showed that the soil microbiota composition in relation to the areas with distinct burn histories and before and after the FIM remained similar, thus it should be emphasized the efficiency of the integrated fire management technique. as it ensures soil quality by not causing significant impacts on the microbial community and does not significantly alter the physicochemical properties

of the soil and is crucial for preventing accidental or criminal forest fires and preserving biodiversity. Finally, it is noteworthy that, although the molecular analyzes of this work did not show alteration in the richness of the communities of the different studied areas with different burning times and in Integrated Fire Management, fire can have a pronounced impact on moisture, nutrient decrease, soil temperature and pH, resulting in changes in the structure of the metabolically active microbial community. Further studies on the actual impact of fire on the Cerrado soil microbiota are needed, since the microbiome technique does not allow us to visualize the groups of metabolically active microorganisms, as well as to find us with different soil types in the Cerrado biome. makes our comparison difficult.

Keywords: Diversity; Microorganisms; Ground.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Regiões conservadas e hipervariáveis do gene ribossomal 16S.	14
Figura 2- Conformação 2D e 3D do RNA ribossomal 16S. Regiões correspondentes estão identificadas pelas mesmas cores em ambas as estruturas 2D e 3D.....	15
Figura 3 - Levantamento de focos de calor no período de 1998 a 2016. Os focos foram contabilizados e categorizados de acordo com a época de ocorrência em cada ano.	21
Figura 4- PCoA (envfit) Correlação das variáveis físico-química com os eixos da Pcoa.	34
Figura 5- Análise dos componentes principais (PCA) com os parâmetros químicos dos solos analisados do Parque Nacional da Serra da Canastra.	35
Figura 6- Análise dos componentes principais (PCA) com os parâmetros químicos dos solos analisados do Parque Nacional da Serra da Canastra.	36
Figura 7- Box Plot (Teste T-Pareado) - Correlação de riqueza de espécies.....	41
Figura 8- PCoA - Bray Curtis.....	43
Figura 9- PCoA - Unifrac	44
Figura 10 - Abundância relativa a nível de Filos dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	45
Figura 11- Abundância relativa a nível de Classe dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	46
Figura 12- Abundância relativa a nível de Ordem dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	47
Figura 13- Abundância relativa a nível de Família dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	48
Figura 14- Abundância relativa a nível de Gêneros dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	49

Figura 15- Abundância relativa a nível de Gêneros dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	49
Figura 16- Heatmap com abundância a nível de Filos e Classes dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	51
Figura 17- Abundância relativa a nível de gêneros de OTUs que possuem o gene Nitrogenase Redutase (nifH) dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.	52
Figura 18- PICRUST predição dos gêneros que possuem o gene marcador nifH (PERMANOVA).	53
Figura 19 - Coleta de amostras de solo para análises físico-químicas.	80
Figura 20- Coleta de amostras de solo para extração do DNA da microbiota.	80
Figura 21- Primeira reunião e instruções em campo para a execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC.	81
Figura 22- Equipe de Brigadistas (ICMBio e PRÓ-fogo -DF).	82
Figura 23- Execução do Manejo Integrado do Fogo. Fonte: O Autor.	82
Figura 24- Imagem obtida através de drone, para o controle da confecção de aceiro negro do Manejo Integrado do Fogo do PNSC. Fonte : ICMBio, 2017.	82
Figura 25- Imagem obtida através de drone, para o controle da confecção de aceiro negro do Manejo Integrado do Fogo do PNSC.	83
Figura 26- Encerramento da primeira fase da primeira execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC. Fonte: ICMBio, 2017.	83
Figura 27- Autorização para atividades com finalidade científica.	84
Figura 28- Autorização de entrada no PNSC.	85

Lista de Tabelas

Tabela 1- Classificação granulométrica de amostras extraídas do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.....	32
Tabela 2- Comparativo de análises químicas das amostragens do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC).....	33
Tabela 3- Teste de Correlação (envfit) para verificar a correlação do fogo com variáveis ambientais correspondentes (físico- química do solo).....	33
Tabela 4- Análise química de amostras extraídas do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.....	37
Tabela 5- Índices de riqueza e diversidade da microbiota do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.....	38
Tabela 6- Teste T- Pareado para comparar riqueza de espécies entre as áreas submetidas a queimada pelo Manejo Integrado do Fogo.....	41
Tabela 7 - Números de sequências classificadas e não classificadas de acordo com o nível taxonômico.....	45
Tabela 8- PERMANOVA gene nifH.....	53

Lista de Quadros

Quadro 1- Papéis microbianos em ciclos elementares	11
Quadro 2- A severidade do fogo considerando os combustíveis consumidos e os efeitos.	17
Quadro 3 - Organização dos grupos de amostragem do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC).....	25

LISTA DE SIGLAS

BPCP	Bactérias promotoras de crescimento de plantas
DNA	ácido desoxirribonucleico
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IEF	Instituto Estadual de Florestas
IFMG	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
MIF	Manejo Integrado do Fogo
nifH	Nitrogenase reductase
ONG	Organização Não Governamental
OTUs	Unidades Taxonômicas Operacionais
PCoA	Análise de Coordenadas Principais
PCA	Análise dos Componentes Principais
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PERMANOVA	Análise de variância multivariada permutacional
pH	Potencial Hidrogeniônico
PICRUST	<i>Phylogenetic Investigation of Communities through Reconstruction of Unobserved States</i>
PNSC	Parque Nacional da Serra da Canastra
PROFERT-MG	Programa Interlaboratorial de Controle de Qualidade de Análise de Solo de Minas Gerais
rDNA	DNA ribossomal
rRNA	RNA ribossomal
ROIs	Relatórios de Ocorrência de Incêndios
UC	Unidade de Conservação

LISTA DE SIGLAS DE ELEMENTOS QUÍMICOS

Ag	Prata
Al	Alumínio
As	Arsênio
Au	Ouro
Br	Bromo
C	Carbono
Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
Cl	Cloro
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cs	Césio
Cu	Cobre
Fe	Ferro
Hg	Mercúrio
I	Iodo
K	Potássio
Mn	Manganês
N	Nitrogênio
Na	Sódio
NH₃	Amônia
Ni	Níquel
P	Fósforo
Pb	Chumbo
S	Enxofre
Se	Selênio
Si	Silício
Sn	Estanho

Sr	Estrôncio
Te	Telúrio
Tc	Tecnécio
Th	Tório
U	Urânio
V	Vanádio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	8
2.1 Objetivo geral	8
2.2 Objetivos específicos	8
3. REFERENCIAL TEÓRICO	9
3.1 Diversidade microbiana do solo	9
3.2 Funções microbianas no solo	10
3.3 Abordagem metagenômica	13
3.4 Perturbação antrópica por meio de incêndios florestais: impactos sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo	15
3.5 Causas e impactos de queimadas e incêndios florestais no Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC).....	18
3.6 Histórico de ocorrências de fogo no Parque Nacional da Serra da Canastra... 20	
3.7 O Plano de Manejo Integrado do Fogo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC).....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Área de estudo	23
4.2 Pontos de coleta	25
4.3 Amostragem para análises físico-químicas.....	26
4.4 Amostragem para análises de microbioma	26
4.5 Extração de DNA da microbiota do solo	27
4.6 Análise da integridade e quantificação do DNA ambiental.....	27
4.7 Extração do DNA do genoma	27
4.8 Geração Amplicon	27
4.9 Parâmetros de PCR para sequenciamento.....	28
4.10 Preparação e sequenciamento de bibliotecas	28
4.11 Montagem da sequência.....	28
4.12 Filtragem de Dados	28
4.13 Remoção de quimera	29
4.14 Produção de OTUs.....	29
4.15 Anotação de espécies	29
4.16 Construção de Relação filogenética.....	29
4.17 Diversidade Alpha	29
4.18 Diversidade Beta.....	30

4.19	Análise funcional de comunidades bacterianas que possuem o gene marcador <i>nifH</i> (K02588) a partir do gene 16S rRNA.....	30
4.20	Análises estatísticas	31
5.	RESULTADOS	32
5.1	Características químicas e físicas do solo.....	32
5.2	Análises de bioinformática	38
5.2.1	Resultados gerais	38
5.2.2	Diversidade alfa	38
5.2.3	Diversidade Beta.....	42
5.2.3.1	Ordenação (PCoA).....	42
5.2.3.2	Composição da comunidade microbiana.....	45
5.2.3.1	Análise de Heatmap	50
5.2.4	Diversidade funcional	52
5.2.4.1	Abundância de OTUs que possuem o gene <i>nifH</i>	52
6.	DISCUSSÃO	54
6.1	As propriedades físico-químicas do solo após o fogo e as modificações no perfil das comunidades microbianas.....	54
6.2	Os diferentes históricos de queimadas no PNSC e os efeitos na diversidade e composição da microbiota do solo.....	55
6.3	Mudanças na composição do solo após o fogo, e as alterações em traços funcionais da comunidade microbiana relacionados à qualidade do solo	61
7.	CONCLUSÕES	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
8.1	Anexo A – Fotos de coleta das amostras no PNSC	80
8.1	Execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC	81
8.2	Autorização SISBio e autorização de entrada no PNSC.....	84

1. INTRODUÇÃO

Todos os anos as áreas nativas do Cerrado do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) localizado no estado de Minas Gerais - Brasil, sofrem perdas significativas da sua biodiversidade devido a ocorrência de queimadas, seja por causas naturais devido a descargas elétricas naturais, seja por causas antrópicas devido às queimadas intencionais (ICMBio, 2016). Segundo Medeiros e Fiedler (2004), o Parque tem sofrido incêndios florestais de grandes dimensões em uma frequência anual/bienal, de forma que entre 1984 e 1996, apenas 1% da área do PNSC não foi queimada e 92% foram queimadas pelo menos duas vezes.

De forma geral o fogo é utilizado como estratégia de manejo como, por exemplo: (a) limpeza de áreas tanto agrícolas como florestais, (b) renovar pastagens, melhorando a oferta e qualidade das pastagens, (c) abrir novas fronteiras agrícolas, (d) melhorar o manejo de pré-colheita de diversas culturas e controlar pragas e doenças em culturas (anuais e perenes), em manejo pós-colheita, entre outras (REDIN *et al.*, 2011).

Após a ocorrência do fogo, pode-se alterar as trajetórias sucessionais das comunidades vegetais e da biota do solo e transformar as propriedades físicas, químicas e estruturais deste. Muitas dessas mudanças são sinérgicas, muitas vezes irreversíveis, e podem impactar os processos climáticos e hidrológicos locais e em grande escala (MASSMAN *et al.*, 2010).

As populações microbianas influenciam os sistemas naturais e agrícolas, estando responsáveis por uma série de mecanismos (SOUZA *et al.*, 2016) como decomposição da matéria orgânica e liberação de nutrientes em frações disponíveis às plantas (KENNEDY; DORAN, 2002), sendo assim consideradas peças chave para o equilíbrio da biosfera (AMARAL *et al.*, 2012).

A composição das comunidades microbianas é afetada pelas variáveis ambientais como temperatura, umidade, pH, etc. Os processos antropogênicos de manuseio dos recursos ambientais ocasionam alterações químicas e físicas nestes e, conseqüentemente, podem afetar diretamente a dinâmica microbiana (QUADROS, 2013).

No entanto, a degradação ambiental associada aos incêndios florestais podem alterar a dinâmica das populações microbianas e a estrutura taxonômica (COSTA *et al.*, 2012; GRIMALDI *et al.*, 2014).

Diante dessa problemática o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), juntamente com uma equipe de brigadistas colocou em prática

nos dias 20 a 23 de maio de 2017 a primeira execução do plano de manejo integrado do fogo no PNSC. Onde foram confeccionados aceiros negros, estes aceiros têm como finalidade a redução da quantidade de combustível (vegetação seca) e estimulação do brotamento, além de permitir ter uma faixa de vegetação verde que barre o avanço das chamas ou que reduza sua intensidade e velocidade permitindo o combate direto. Dessa forma, a execução destes aceiros teve a finalidade de dividir a maior área regularizada do PNSC no sentido Leste-Oeste e logo a seguir executar os aceiros transversais, no formato de espinha de peixe, servindo de proteção para que incêndios tenham sua área de impacto reduzida (ICMBio, 2016).

Embora o solo seja habitado por populações que incluem a macrofauna, mesofauna, microfauna e microflora, estima-se que 80-90% dos processos que ocorrem no solo, incluindo a reciclagem de nutrientes, sejam mediados por microrganismos (NANNIPIERI *et al.*, 2003). Dessa forma, é de extrema importância analisar como as queimadas afetam a microbiota do solo uma vez que estes são responsáveis pelos ciclos biogeoquímicos, como os fluxos dentro do ciclo do N que são principalmente impulsionados pela fixação de N (conversão do N atmosférico para N microbiano); mineralização (amonificação + nitrificação) de N orgânico proveniente de fontes, como serapilheira e outros materiais vegetais ou animais (MORRIS *et al.*, 2015). Sendo a comunidade microbiana condutora de quase todos os processos-chave neste ciclo. Porém, estima-se que apenas 1-5% dos microrganismos existentes possam ser identificados por serem passíveis de cultivo (TORSVIK; OVREAS, 2002).

Nas últimas décadas, tem crescido os estudos referentes a caracterização da diversidade e conservação de microrganismos em busca da compreensão da ecologia microbiana e suas funções na manutenção dos ecossistemas (QUADROS, 2013).

O conhecimento da heterogeneidade microbiana é fundamental pois, maximiza o entendimento dos fatores da variedade genética de um grupo, possibilita a compreensão sobre os modelos de organização dos microrganismos, acrescenta informações acerca dessa biodiversidade e compreende os ajustes e a ligação da diversidade no desenvolvimento e sustentabilidade (LAMBAIS *et al.*, 2005; OVREAS, 2000). Dessa forma, os estudos metagenômicos comparativos por meio do gene 16S rRNA de comunidades microbiológicas de ambientes naturais tem mostrado avanços ao conhecimento sobre essa grande diversidade, revelando alterações taxonômicas e funcionais entre vários ecossistemas sob interferências antrópicas (FERREIRA, 2016).

Diante da importância de compreender as respostas das comunidades microbianas do solo de cerrado frente às mudanças em seu habitat, os aspectos ecológicos e as consequências das queimadas no solo, este trabalho traz como questionamentos norteadores: 1- Os diferentes históricos de queimadas no PNSC causa efeito na diversidade e composição da microbiota do solo? 2- As propriedades físico-químicas do solo após a ocorrência de queimadas resultam em modificações no perfil das comunidades microbianas? 3- Mudanças na composição do solo devido a ocorrência de queimadas, levam a alterações em traços funcionais da comunidade microbiana relacionadas a qualidade do solo?

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar de acordo com o histórico de queimadas em determinadas áreas no PNSC, as variações de diversidade nas comunidades bacterianas do solo impactados e não impactados por queimadas , durante o 1º Manejo Integrado do Fogo no Parque Nacional da Serra da Canastra.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar a composição (abundância e estrutura) das comunidades bacterianas nas amostras de solos;
2. Caracterizar em diferentes áreas, com períodos distintos de ocorrência de queimadas, os atributos físico-químicos e suas relações com as comunidades bacterianas;
3. Inferir os principais parâmetros ecológicos que determinam a composição taxonômica e funcional das comunidades bacterianas de diferentes áreas, com períodos distintos de ocorrência de queimadas .

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Diversidade microbiana do solo

O solo é um conjunto complexo que comporta membros bióticos ativos na decomposição de resíduos orgânicos, fornecendo nutrientes e água, organizando suas partículas e propiciando o desenvolvimento das plantas e animais que dependem direta ou indiretamente dele (SILVA *et al.*, 2016). Quanto a diversidade microbiana, esta é resultante da interação de fatores como pH, conteúdo de água, estrutura do solo, variação climática e atividade biótica (ROBE *et al.*, 2003).

Além disso, a diversidade biológica encontrada no solo interfere na atuação da distribuição do material orgânico e movimentação mecânica do solo, mobilização de nutrientes através de enzimas e a ativação dos microrganismos presentes nele (REZENDE *et al.*, 2017). A diversidade de microrganismos é primordial para um solo de qualidade, uma vez que estes desempenham muitas funções de grande importância como remoção de toxinas, participação nos ciclos biogeoquímicos (BORNEMAN *et al.*, 1996).

O solo favorece a proliferação de microrganismos e, dessa forma, o número de microrganismos no solo é, normalmente, mais abundante em relação ao ecossistema de aquático, onde pode ser encontrado, uma taxa de 10^6 a 10^9 microrganismos por grama de solo. Além disso, as concentrações de matéria orgânica no solo tendem a ser mais altas se comparadas às de outros ecossistemas (ATLAS; BARTHA, 1998; DROZDOWICZ, 1997). Os microrganismos desempenham papel fundamental na regulação da fertilidade do solo, na saúde vegetal e na ciclagem de elementos essenciais (FIERER *et al.*, 2012). Além disso, os microrganismos apresentam funções importantes sobre os ciclos biogeoquímicos (FALKOWSKI; FENCHEL; DELONG, 2008) e na funcionalidade de ecossistemas do solo (WAGG *et al.*, 2014), tais como decomposição e ciclagem de nutrientes e relações de simbiose entre microrganismos e plantas (SUBRAMANIAN; SMITH, 2015).

O conhecimento sobre a diversidade microbiana do solo possibilita uma melhor compreensão sobre a dinâmica ecológica local (HARRIS, 2003; ANDERSON, 2007; NIEPCERON *et al.*, 2013), bem como utilizá-lo como ferramentas bioindicadoras e de monitoramento da qualidade do solo (HARRIS, 2003; ANDERSON, 2007; NIEPCERON *et al.*, 2013).

Por técnicas tradicionais, são encontradas no solo geralmente bactérias do gênero: *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Caulobacter*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Xanthomonas* (ATLAS; BARTHA, 1998).

3.2 Funções microbianas no solo

Os microrganismos exercem muitas funções importantes em diversos processos ecológicos, como decomposição de matéria orgânica (LEJON *et al.*, 2005; GOULART, 2013); ciclagem de nutrientes e fertilidade dos solos (MARSCHNER; CROWLEY; YANG, 2004; BONONI, 2016); desenvolvimento da vegetação, fixação biológica de nitrogênio (FBN), produção de fitormônios e da solubilização de fosfatos indiretamente através do aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos e do controle biológico de fitopatógenos entre outros (BULGARELLI *et al.*, 2013).

Como exemplos das funções importantes nos processos ecológicos realizados por procariontos podemos citar, a conversão de dióxido de carbono em metano (metanogênese) e a conversão de nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis (fixação biológica), sendo essenciais para 2 dos ciclos mais importantes: C e N (SONI, 2007).

Porém, um dos elementos que mais se destaca devida sua importância e abundância na atmosfera é o nitrogênio. Esse elemento é constituinte essencial de aminoácidos, bases nitrogenadas, ácidos nucleicos, hormônios e clorofila, entre outras moléculas (CRAWFORD *et al.*, 2000) e está entre o quarto elemento mais abundante nos seres vivos.

O ciclo biogeoquímico do N permite sua incorporação através de processos naturais como fixação atmosférica e deposição pela chuva ou a FBN (ARAÚJO *et al.*, 2006). Nos sistemas biológicos, este elemento apresenta o mais complexo dos ciclos devido à diversidade das maneiras que o elemento pode aparecer na biosfera onde, os microrganismos são os únicos seres capazes de remover o N₂ da atmosfera e transformá-lo em formas assimiláveis como a amônia (NH₃) (SONI, 2007).

Alguns grupos específicos de bactérias podem realizar este processo, seja em vida livre ou em simbiose com determinados vegetais. Bactérias do gênero *Clostridium sp.*, *Azotobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Cianobactérias sp.*, entre outros são capazes de fixar N₂ em vida-livre, outros como *Rhizobium sp.*, *Bradyrhizobium sp.*, *Frankia sp.*, etc, se

associam simbioticamente com as raízes de diversos vegetais formando nódulos característicos (ZILLI *et al.*, 2005).

Entretanto, todos os grupos microbianos podem mediar formação por mecanismos diretos e indiretos (GADD, 2010). Alguns dos importantes papéis e atividades microbianas nos processos biogeoquímicos, acabam levando a distribuições de metais alterados e especiação (Quadro1).

Quadro 1- Papéis microbianos em ciclos elementares

Elementos	Papéis microbianos em ciclos elementares
C, H, O	Absorção, assimilação, degradação e metabolismo de compostos orgânicos e inorgânicos; respiração (produção de CO ₂); fotossíntese; fotorrespiração; Fixação de CO ₂ ; biossíntese de polímeros, excreção de metabólitos orgânicos e inorgânicos; formação de húmus; Produção CN ₂ ; formação de carbonato; formação de oxalato; ciclo oxalato-carbonato; dissolução de carbonatos; metanotrofia; metanogênese (archaea); degradadores de hidrocarbonetos; degradação organometálica (baixa); biometilação e desmetilação do metal (loid); oxidação xenobiótica; Utilização de CO; absorção de água; transporte de água, translocação e condução (micélio fúngico); oxidação e produção de hidrogênio.
N	Decomposição de compostos nitrogenados; assimilação e transformações de compostos N orgânicos e inorgânicos; N ₂ fixação (apenas procariotos); nitrificação e desnitrificação; oxidação de amônia e nitrito; nitrificação anaeróbica; biossíntese de biopolímeros contendo N, e. quitina; produção de metabolitos e gases contendo N, p. N ₂ O; fermentação de amônia sob condições anaeróbicas; transferência de N micorrizal para plantas (fungos); transferência fixa de N para plantas (fixadores simbióticos de N ₂).
P	Dissolução de fosfatos inorgânicos e minerais contendo P em solos e rochas; decomposição de orgânicos contendo P compostos; formação de P insolúvel, p. polifosfato, minerais fosfato secundios; liberação de P organicamente ligado por fosfatases; assimilação e transformação de espécies P inorgânicas; oxidação de formas reduzidas de fosfato, e. fosfato; transformações do solo orgânico P; produção de difosfatos e fosfonatos; P transferência para plantas (micorrizas).
S	Degradação de compostos orgânicos contendo S; transformações S orgânico-inorgânicas; absorção e assimilação de compostos S orgânicos e inorgânicos; sulfidogênese; S (0) acumulação; SO ₂ {4 redução e assimilação; S (0) redução; oxidação de compostos S reduzidos, p. S (0), tiosulfato, tetrionato; oxidação de H ₂ S a S (0); redução de S (0) para H ₂ S; dissolução de minerais contendo S em solos e rochas, e. sulfetos, sulfatos.
Fe	Biointemperismo de minerais contendo Fe em rochas e solos; Solubilização de Fe por sideróforos, ácidos orgânicos, metabólitos etc .; Redução de Fe (III) para Fe (II); Fe (II) oxidação para Fe (III); Biomineralização de Fe, p. óxidos, hidróxidos, carbonatos, sulfuretos; sorção de metais para óxidos de Fe.
Mn	Oxidação e imobilização de Mn (II) como óxidos de Mn (IV); Redução de Mn (IV); redução indireta de O ₂ (IV) por metabólitos, por exemplo. oxalato; bioacumulação de óxidos de Mn a superfícies e exopolímeros; contribuição para a formação de verniz no deserto; bioissorção; acumulação; precipitação intracelular; Mn biomineralization, e. óxidos, carbonatos, sulfuretos, oxalatos; sorção de metais para óxidos de Mn.
Cr	Redução de Cr (VI) para Cr (III); Oxidação de Cr (III); acumulação de oxianíons Cr.
Mn, Ca, Co, Ni, Zn, Cd, Sr	Bio intemperismo de minerais em rochas e solo; adsorção; absorção e acumulação; de precipitação, i.n. oxalatos sulfuretos, fosfatos, carbonato; Redução Co (III)
Ag	Redução de Ag (I) para Ag (0); bioissorção; acumulação.
K, Na, Cs	Captção e acumulação; translocação através de micélio (fungos); concentração em corpos frutíferos (fungos); mobilização de minerais no solo

Cu	Mobilização de minerais contendo Cu em rochas e solos; Formação de CuS; bioissorção; absorção e acumulação; bioprecipitação, e. oxalatos.
Se	Transformação redutiva de oxiones de Se, e. Se (VI) para Se (IV) a Se (0); Se (0) oxidação; biometilação e desmetilação de compostos de Se; assimilação de compostos orgânicos e inorgânicos do Se.
Te	Transformação redutora de The oxyanions, e. Te (VI) para Te (IV) para O (0); biometilação; assimilação de orgânicos e compostos Te inorgânicos.
Pb	Bioissorção; formação de oxalato de chumbo; biometilação
Cl,Br, I	Dehalorrespiração; biometilação; acumulação em biomassa
Sn	Organotindegradation; sorptionandaccumulationofsoluble Sn species; biomethylation
Au	Redução de espécies de Au solúveis para Au (0); Dispersão mineral e solubilização
As	Biometilação de espécies As, p. arsenito a trimetilarsina; redução de oxianiões As, p. arsenato a arsenito; oxidação de As oxianiões, p. arsenito para arsenato
Hg	Biometilação de Hg; redução de Hg (II) para Hg (0); oxidação de Hg (0) a Hg (II); Volatilização de Hg como Hg (0); degradação de organomercuriais; bioissorção; acumulação
Al	Al mobilização de minerais contendo Al em solos e rochas; dissolução de aluminossilicatos; Precipitação de Al como óxidos (estágio inicial de bauxitização); bioissorção
Si	Captação de espécies de Si solúvel; formação de complexo orgânico de Si a partir de silicatos inorgânicos; formação orgânica de siloxano; sílica, degradação de silicatos e aluminossilicatos; Mobilização de Si através da produção de quelantes, ácidos, bases, exopolímeros; silicificação; biomineralização estrutural (algumas algas e protozoários)
U,Th	Bioissorção; deposição de produtos de hidrólise; precipitação intracelular; Redução de U (VI) para U (IV); Oxidação U (IV) para U (VI); U biomineralização, e. fosfatos; Formação de UO ₂
Tc	Acumulação de pertecnetato; Redução de Tc (VII) para Tc (IV); formação de óxido.
V	Acumulação de vanadato;

Fonte: (GADD, 2006).

Tais atividades podem ocorrer em ecossistemas aquáticos e terrestres, bem como em sistemas artificiais e sistemas antrópicos, sua importância relativa depende das populações presentes e dos fatores físico-químicos que afetam a atividade (GADD, 2006).

A maioria destas funções estão interligadas, direta ou indiretamente dependendo do modo de crescimento, unicelular, filamentosos, biofilme colonial, e incluindo parcerias simbióticas, e modo de metabolismo, sendo este dependente de nutrientes e fonte (s) de energia para a biossíntese, tais como C, N, O, P, S e muitos metais, para estruturas e componentes celulares (GADD, 2008a). Os microrganismos estão intimamente associados à ciclagem biogeoquímica, onde suas atividades podem resultar em mobilização e imobilização, dependendo do mecanismo envolvido e o microambiente onde o (s) organismo (s) é (são) localizado (s) (GADD, 2004; 2007; VIOLANTE *et al.*, 2008; EHRLICH; NEWMAN, 2009).

Outras propriedades microbianas levam à solubilização de metais a partir de fontes inorgânicas (GADD, 2007). Tais transformações metálicas são fundamentais para a biogeoquímica dos metais, podendo enfatizar a ligação entre respostas microbianas e ciclos geoquímicos (EHRLICH, 1997; GILMOUR; RIEDEL, 2009). As interações metal-mineral-microrganismos são primordiais na chamada "zona crítica" terrestre, definida

como "o ambiente heterogêneo e próximo da superfície em que interações complexas envolvendo rochas, solo, água, ar e organismos vivos regulam o habitat natural e determinam a disponibilidade de recursos que sustentam a vida" (CHOROVER *et al.*, 2007).

3.3 Abordagem metagenômica

A partir da década de 1980, houve um grande número de novas metodologias moleculares, dessa forma ocorreu o desenvolvimento de tecnologias que utilizam o DNA ambiental, extraído diretamente do meio ambiente e ampliações via PCR, clonagem e sequenciamento do gene codificado do RNA 16S, tornando possível a identificação dos microrganismos ainda desconhecidos e não cultivados (BORNEMAN *et al.*, 1996; CANHOS *et al.*, 1997; DROZDOWICZ, 1997, VALADARES-INGLIS ; MELO, 1998; DOJKA *et al.*, 1996; MACRAE, 2000; KENT; TRIPLETT, 2002).

Além disso, os sequenciadores de nova geração permitem desvendar o vasto potencial dos microrganismos, cultiváveis e não cultiváveis, incluindo os mais raros, possibilitando a descoberta de mais genes biotecnologicamente interessantes e novas vias metabólicas (CHISTOSERDOVA, 2010). O estudo a partir de tecnologias que utilizam o DNA genômico obtido de um habitat recebeu o nome de metagenoma (BORNEMAN *et al.*, 1996; LUDWIG *et al.*, 1997; RONDON *et al.*, 2000).

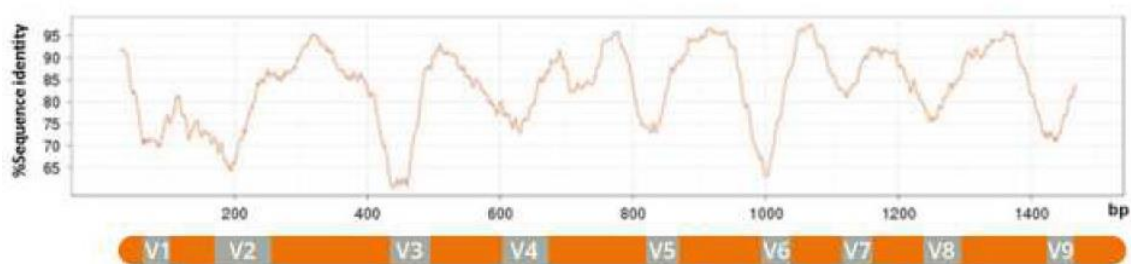
A facilidade de se obter sequências de DNA e o florescimento da Era da Metagenômica Ambiental tornaram possível a obtenção de milhares de sequências de DNA de qualquer bactéria presente numa amostra de qualquer material: água, solo, alimentos, efluentes, etc. (SCHMEISSER; STEELE; STREIT, 2007). Os estudos pioneiros baseados nestas técnicas, tornou possível analisar a estruturas de comunidades microbianas, utilizando as informações da sequência de nucleotídeos do gene codificado do RNA 16S (rDNA) (BENLLOCH *et al.*, 1995). Dessa maneira, a metagenômica tem se apresentado como uma ferramenta promissora no estudo de comunidades microbianas, da diversidade de genes individuais e de seus produtos, bem como *operons* que codificam vias de síntese ou degradação de compostos (SCHMEISSER; STEELE; STREIT, 2007).

Para identificação de grupos específicos de bactérias, o gene codificado do RNA 16S é o marcador gênico filogenético mais utilizado (SCHMEISSER; STEELE; STREIT, 2007). Os RNA ribossomais estão entre as macromoléculas mais conservadas evolutivamente em todos os seres vivos. Esses genes, em todos os organismos partem de

um ancestral comum e eles não parecem submeter-se à transferência lateral de gene entre espécies (SILVEIRA, 2004). O rRNA possui características fundamentais para um bom marcador molecular, como: regiões conservadas intercaladas por regiões variáveis, tamanho da sequência considerado satisfatório e viável para o sequenciamento (cerca de 1.500 nucleotídeos) e baixa frequência de transferência horizontal de genes (MORAIS, 2008).

A região codificadora do 16S rRNA apresenta diversas porções, dentre elas algumas conservadas e outras hipervariáveis numeradas de 1 a 9 (V1 a V9) (Figura 1) sendo diversificadas entre as espécies bacterianas, desse modo, essas sequências se tornaram padrão na determinação de relações filogenéticas (LIU; STAHL, 2002). O comprimento dessas regiões hipervariáveis varia aproximadamente de 50pb a 100pb (PETROSINO *et al.*; 2009).

Figura 1- Regiões conservadas e hipervariáveis do gene ribossomal 16S.

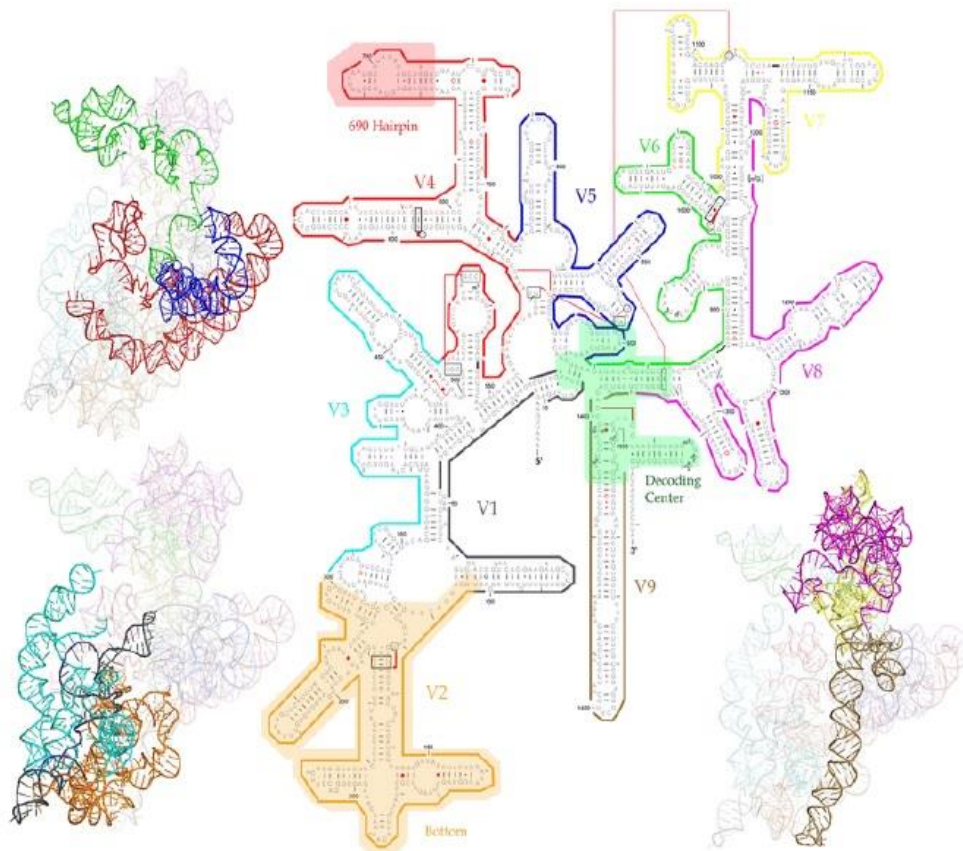


Nota: Eixo x: posição dos nucleotídeos no gene 16S do rRNA ; Eixo y: % de identidade entre as sequências do gene 16S de rRNA. Em laranja, regiões conservadas. Em cinza, regiões hipervariáveis (V1 a V9).

Fonte: GATC Biotech (disponível em: <http://www.gatc-biotech.com/>).

Estudos a partir de análises filogenéticas do gene 16S do rRNA indicaram que as regiões V4-V6 são as regiões que apresentam maior confiabilidade e resolução para a representação bacteriana em nível de filo (Figura 2) (GUIMA, 2016). Entretanto, as causas da correlação de diferenças entre sub-regiões e a resolução filogenética ainda permanecem desconhecidas (YANG *et al.*, 2016).

Figura 2- Conformação 2D e 3D do RNA ribossomal 16S. Regiões correspondentes estão identificadas pelas mesmas cores em ambas as estruturas 2D e 3D.



Fonte: YANG, WANG, QIAN ,2016.

3.4 Perturbação antrópica por meio de incêndios florestais: impactos sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo

A matéria orgânica, a atividade da fauna do solo e condições do meio ambiente, em especial, temperatura e umidade, contribuem para a qualidade do solo, onde as condições de mineralização se processa diretamente nos efeitos da atividade microbiana do solo (OUÉDRAOGO *et al.*, 2001). Dentre os benefícios gerados pela matéria orgânica do solo, destacam-se a melhoria das condições físicas do solo e o fornecimento de energia para o crescimento microbiano (SILVA; RESCK, 1997).

Dessa forma, a qualidade física do solo exerce grande influência sobre os processos químicos, físicos e biológicos do mesmo (STRECK, 2007). De acordo com Marchão *et al.* (2007), as propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos são importantes componentes de sua produtividade, dessa forma, as plantas necessitam de

solos bem estruturados, assim a seleção e a utilização adequadas de cada tipo de solo é crucial para a manutenção da qualidade e da produtividade do sistema.

De acordo com o uso e manejo, os solos se diferenciam em seu estado de agregação, textura, teor de água, matéria orgânica e possíveis tensões que receberam no passado (LLANILLO *et al.*, 2006). O manejo do solo por determinado período de tempo pode alterar negativamente algumas de suas características físicas, devido ao uso de mecanização agrícola e outras técnicas de manejo, que podem ocasionar sua degradação em menor ou em maior proporção (BERTOL *et al.*, 2010). Contudo, a perda do solo por erosão, a redução da matéria orgânica e a compactação são alguns dos fatores que colaboram para a sua degradação física (BLAINSKI *et al.*, 2008). Desse modo, é notório a importância da avaliação das características do solo após a intervenção antrópica, devido ao fato de ela ser capaz de promover a perda da sua qualidade estrutural e aumentar a suscetibilidade à erosão (BERTOL *et al.*, 2001).

De acordo com Neary *et al.* (2005), o fogo é um distúrbio natural que ocorre na maioria dos ecossistemas terrestres. No entanto, historicamente o regime natural do fogo foi sendo modificado pela presença do homem e de suas atividades (BOWMAN *et al.*, 2011). No Brasil, ainda é muito comum o uso da prática da queimada como uma “ferramenta” de preparo das áreas agrícolas voltadas para o cultivo de lavouras, renovação de pastagens, controle/ combate de pragas e doenças de plantas, de criações de gado, além de plantas invasoras e, ainda, na limpeza e redução de fontes de material combustível presente na superfície do solo, na silvicultura (CAPECHE *et al.*, 2012).

Entretanto, vale ressaltar que a ação do fogo pode provocar uma série de modificações físicas do solo (GALANG *et al.*, 2010), como as características físicas, químicas, morfológicas e biológicas dos solos, como o pH, teor de nutrientes e carbono, biodiversidade da micro, meso e macrofauna, temperatura, porosidade e densidade (CAPECHE *et al.*, 2012).

Além disso, o solo desprotegido oferece uma maior possibilidade de lixiviação, percolação de nutrientes, exposição das superfícies minerais e pode aumentar a erosão do solo (CROMACK *et al.*, 2000). Uma grande acumulação de biomassa seca combinada com clima seco resulta em fogo intenso que pode expor as superfícies dos minerais. Isso foi demonstrado através de fogos no sul da Geórgia e norte da Flórida nos Estados Unidos (GEORGIA FORESTRY COMMISSION, 2010).

Pesquisas mostram que, após uma queimada, aumenta-se a disponibilidade de teores de nutrientes, como Ca, Mg, P, K, e o pH, para as plantas imediatamente após a

passagem do fogo (NUNES *et al.*, 2006; NUNES *et al.*, 2009; MELO *et al.*, 2006). Como as plantas somente absorvem nutrientes mineralizados, dessa forma torna-se natural que ocorra um crescimento mais rápido da flora em áreas queimadas. Entretanto, esses efeitos tendem a desaparecer através da lixiviação dos nutrientes pela ação de chuvas, o que resulta em concentrações que podem ser até inferiores às observadas em solos que não sofreram ação do fogo (KNICKER, 2007).

Nesse contexto, o comportamento humano desempenha um papel primordial na evolução dos regimes do fogo (FERREIRA-LEITE *et al.*, 2013). O processo do regime de incêndios é enigmático, sendo que a sua caracterização é baseada na periodicidade, na sazonalidade, na frequência e nos efeitos sobre ecossistemas (principalmente sobre a vegetação) (FROST, 2000; SOMMERS *et al.*, 2011).

Neste sentido, alguns estudos defendem uma escala da severidade do fogo tendo em conta a destruição da vegetação e do solo (Quadro 2).

Quadro 2- A severidade do fogo considerando os combustíveis consumidos e os efeitos.

Severidade do fogo	Descrição
Não queimado	Não se verifica alteração do solo e da vegetação provocada por efeitos do fogo;
Chamuscado	Plantas intactas mas com perda de algumas folhas por radiação calórica.
Pouco queimado	Copas das árvores com folhas verdes mas com ramos queimados; vegetação rasteira, ervas e musgos carbonizados ou consumidos; Horizonte O do solo intacto, ou parcialmente afetado nos primeiros milímetros.
Moderado ou severo	Árvores com parte das copas destruídas, mas com folhas não consumidas; Ramos finos mortos na superfície do solo e troncos queimados; Horizonte O do solo quase consumido;
Muito severo	Copas das árvores mortas e folhas consumidas; Horizonte O do solo completamente inapto; Deposição de cinzas brancas e matéria orgânica carbonizada a vários centímetros de profundidade.

Fonte: LOZANO; JIMÉNEZ-PINILLA, 2013.

Rocha (2016) ressalta que, a severidade do fogo depende das características e condições do solo. Dessa forma, a intensidade do fogo é avaliada por fatores como o combustível, a topografia e as condições climáticas, que interferem na sua severidade.

No que diz respeito aos efeitos do fogo sobre os microrganismos do solo, estes são condicionados pela umidade do solo antes do incêndio e pela duração e intensidade do fogo, que resulta numa alteração do perfil do solo, sendo que estes efeitos podem ser imediatos ou a curto, médio ou longo prazo. Um dos efeitos imediatos do fogo sobre o solo, letal para os microrganismos é quando as temperaturas são superiores a 120°C (BÁRCENAS; DIAZ, 2013).

A curto prazo, os microrganismos sobreviventes ao impacto direto do fogo proliferam rapidamente ocupando novos nichos que favorecem as trocas de substâncias induzidas pelo fogo nas propriedades do solo (BÁRCENAS; DIAZ, 2013).

No entanto, já a médio e longo prazo ocorrem valores mais baixos de biomassa e diminuição dos nutrientes, sendo que o impacto do fogo pode apenas desaparecer após um ou dois anos, quando ocorre uma severidade baixa ou moderada (MATAIX-SOLERA *et al.*, 2011). Contudo, quando se verifica uma elevada severidade do fogo, conjugada com uma regeneração lenta da cobertura vegetal e/ou com as áreas suscetíveis à erosão (CARBALLAS *et al.*, 2009) ocorre um impacto negativo do fogo sobre a microbiota edáfica, que pode prevalecer inclusive de cinco a dez anos após ocorrência do incêndio (BÁRCENAS; DIAZ, 2013).

3.5 Causas e impactos de queimadas e incêndios florestais no Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC)

Os raios são uma das principais fontes de ignição em savanas, nas quais a extensão da estação seca transforma o componente herbáceo propenso ao fogo (STOCKS; TROLLOPE, 1993). As queimadas provocadas por raios têm sido consideradas tanto um distúrbio que pode auxiliar na conservação da biodiversidade quanto natural em alguns ecossistemas propensos ao fogo (KOMAREK, 1972; MIDDLETON *et al.*, 1997).

Os registros sobre a ocorrência de incêndios na região da Serra da Canastra são antigos, através desses registros pode-se observar que a ocorrência de fogo na região é frequente e, provavelmente, antes da colonização europeia já havia uso do fogo por grupos indígenas. Segundo Medeiros (2001), a partir de 1987, a maior parte das causas de incêndios na região do PNSC já eram de origem antrópica, apesar de existir um grande número de incêndios causados por descargas elétricas (chamados incêndios naturais). Estes dados são esporádicos apresentando, portanto, apenas indicativos de que sua ocorrência torna as comunidades herbáceas mais heterogêneas (RAMOS-NETO, 2000).

Diante dos benefícios provocados pela ação do fogo na vegetação dessas áreas, os incêndios dessa natureza no PNSC são combatidos apenas se a chuva não extinguir os focos, sendo realizado o combate direto se os incêndios atingirem grandes dimensões, ameaçando as áreas de proteção onde se encontram fitofisionomias florestais, locais de pesquisas e áreas de refúgios de espécies (ICMBio, 2016).

Dentre estas causas antrópicas se destacam duas: (1) a prática de incêndios criminosos e (2) a prática de queimadas de pastagens em áreas limítrofes ao PNSC que, acidentalmente, atingem as áreas nativas preservadas do parque. Segundo Vieira (2001), o número de incêndios criminosos no PNSC são um problema de grande complexidade, devido aos motivos que podem levar o indivíduo a cometer estes atos. Dessa forma suspeita-se que tais motivos podem estar relacionados, por exemplo com: a insatisfação com a Unidade de Conservação devido a problemas fundiários; limitação de atividades danosas ao ambiente no entorno da área protegida; desinformação sobre a importância da conservação dos recursos naturais.

Enumeradas as principais causas dos incêndios no PNSC, quanto ao aspecto da distribuição de classes de área atingida por tipo de incêndio florestal, os dados do trabalho realizado por Medeiros (2004), mostram um padrão conhecido em que as descargas elétricas causam pequenos incêndios (menos de 500 hectares) e os incêndios de causa antrópica são responsáveis pelos incêndios de grande magnitude, chegando a 50 mil hectares.

A vegetação de campo predominante no Parque, na estação seca é propensa ao fogo, visto que, a maior parte da fitofisionomia de Cerrado classificada no Parque é de campo limpo, transformando em uma camada de material morto acima do solo. Abaixo do solo, os tecidos vivos das plantas herbáceas ficam protegidos das chamas, caracterizando uma vegetação bastante adaptada aos incêndios (ROSA, 1990). Por outro lado, existe pouco conhecimento a respeito da resiliência da vegetação de matas de galeria a distúrbios como o fogo. Algumas observações de campo indicam que o fogo beneficia a invasão por gramíneas, bambus e lianas (MENDONÇA *et al.*, 1998). O fogo também impacta negativamente as bordas das matas de galeria influenciando na sua extensão (RAMOS-NETO, 1997).

De maneira geral, as fitofisionomias fechadas de cerrado, assim como matas de galeria devem ter proteção máxima contra o fogo devido a maior sensibilidade dos elementos lenhosos. As fitofisionomias abertas como campo-limpo e campo-sujo podem se beneficiar da ocorrência do fogo em regimes de queima causados por descargas elétricas ou quando se é necessário um regime de queima controlada. Para o cerrado típico, fitofisionomia intermediária entre áreas abertas e fechadas, ainda não há um consenso sobre um possível regime de queima adequado devido ao elevado número de espécies lenhosas e também do estrato herbáceo nesta fisionomia (MEDEIROS, 2002).

3.6 Histórico de ocorrências de fogo no Parque Nacional da Serra da Canastra

Os dados de ocorrência de incêndios na região são coletados desde 1978 por funcionários do Ibama e atualmente pelos funcionários do ICMBio. Como visto, incêndios naturais e de origem humana são os mais recorrentes.

Desde antes da criação do PNSC, a principal atividade desenvolvida no seu entorno é a agropecuária e, devido ao manejo, se faz necessária a queima das pastagens para sua renovação. Como consequência, esse manejo tornou-se a principal fonte de incêndios na UC. Embora, a queima controlada seja permitida nessas áreas, os moradores que residem nas zonas de amortecimento necessitam de uma autorização prévia do Instituto Estadual de Florestas – IEF para realização da queimada (MOURA, 2011).

Devido a proximidade destas áreas de produção das áreas de conservação, algumas ainda não regularizadas, os incêndios criminosos têm impactado a área protegida do parque. Segundo Medeiros & Fiedler (2004), esses impactos provavelmente impactam negativamente a biota na UC, que já se encontra fragilizada por outros impactos provenientes do entorno, como por exemplo: alteração da qualidade da água dos rios, desmatamentos e urbanização.

O ICMBio (2016) ressalta que em virtude destes fatos e com a expansão do número de incêndios ao decorrer dos anos, houve uma mobilização maior no sentido de buscar soluções imediatas para estes problemas, tendo como elementos norteadores uma preocupação com a conservação da biodiversidade e dos recursos naturais do Parque.

Nesse contexto, vale ressaltar uma série histórica de impactos de incêndios no PNSC, como forma de buscar compreender e mensurar o problema do fogo e sua evolução na última década e o cenário atual. Conforme dados coletados pelo ICMBio junto ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, a série histórica de focos de calor no PNSC indica um aumento de incêndios, considerando o período de 1998 até o ano de 2016, como mostra o Figura3:

Figura 3 - Levantamento de focos de calor no período de 1998 a 2016. Os focos foram contabilizados e categorizados de acordo com a época de ocorrência em cada ano.



Fonte: INPE (2016).

Diante dos acontecimentos históricos do parque, inúmeros fatores podem ter contribuído para esta maior incidência de incêndios na região do PNSC. Contudo, a utilização de novas ferramentas tecnológicas de detecção e medição de focos de calor contribuíram para uma amostragem maior devido à precisão dos instrumentos adotados para monitoramento de incêndios (ICMBio, 2016).

3.7 O Plano de Manejo Integrado do Fogo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC)

A partir de 2010, houve a implementação do sistema de levantamento de imagens via satélite da ocorrência de queimadas e a área atingida (cicatrizes) com a parceria entre Inpe, Ibama e ICMBio (INPE, 2016). A obtenção de informações precisas permitiu compor Relatórios de Ocorrência de Incêndios com informações de maior peculiaridade através da elaboração de mapas detalhados das cicatrizes de incêndio, servindo como base norteadora no planejamento do manejo integrado do fogo (MIF) (ICMBio,2016).

O Manejo Integrado do Fogo é uma abordagem que considera aspectos ecológicos, culturais e de manejo para propor uso de queimadas controladas, resultando como a prevenção e combate a incêndios, proporcionando a garantia da conservação e uso sustentável de ecossistemas (SCHMIDT *et al.*, 2016).

A partir de dados e dos relatórios apresentados pela UC, pôde-se notar que as ações de prevenção e combate a incêndios florestais, não tem surtido o efeito de

controle/redução dos incêndios, principalmente aos incêndios tardios (ocorridos no final da estação seca), causando grande prejuízo à biodiversidade (ICMBio,2016).

Neste sentido, foi implementado a partir de 2017, o Primeiro Plano de Manejo Integrado do Fogo do PNSC. Para sua implementação, são analisados e avaliados aspectos como a experiência de campo, os levantamentos e os estudos de biomassa, zoneamento e proteção são executáveis e de extrema importância para a implementação do plano de manejo nas demais áreas regularizadas da UC (SOUZA, 2017). Além disso foi estabelecido no PNSC a criação de aceiros para controlar e conseqüentemente minimizar a ação dos incêndios controlados.

Ressaltando-se que sejam realizadas queimas controladas em setores alternados, sendo que: (i) a área queimada somente seja objeto de queima dois anos após a primeira; (ii) a queima deve ocorrer nos meses de março, abril e maio, de acordo com o regime climático, evitando-se veranicos; (iii) os setores a serem objetos de queima serão delimitados pelos aceiros, sendo que não será queimado todo o talhão de uma vez, iniciando-se, por uma lateral, passando para outros setores e após certo período de tempo (quanto maior, melhor), será colocada outra frente de fogo em outra lateral e assim sucessivamente até se queimar todos os limites (ICMBio, 2016).

Esse roteiro de queima proposto por Souza (2017) juntamente com o ICMBio, permitirá que os animais não sejam ameaçados em função do fogo, como acontece em queimadas prescritas tradicionais, em que os quatro lados são queimados ao mesmo tempo. Além disso, o período de retorno ao talhão permite que haja brotamento de vegetação servindo de alimento e atraindo a fauna para a área já queimada, reduzindo o risco de mortes de fauna (ICMBio, 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

Este trabalho foi efetuado durante a 1ª execução do plano de manejo integrado do fogo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC) localizado na área rural do município de São Roque de Minas, com área de aproximadamente de 197.971,96 hectares. Efetuado nos dias 20 a 23 de maio de 2017 pelo ICMBio, juntamente com uma equipe de brigadistas do ICMBio e uma equipe de brigadistas do PRÓ-FOGO Brasília.

O PNSC abriga formações vegetais do domínio do Cerrado e se destaca por proteger um dos últimos maiores remanescentes de campos da região sul do Cerrado (SANO *et al.*, 2010). A região do PNSC é caracterizada por relevo montanhoso com vales, serras e chapadões (atingindo altitudes entre 1000 e 1500 m) (IBAMA, 2005).

Em todos os chapadões da região, em especial no Chapadão da Canastra, marco geográfico e maior área, predominam as formações vegetais campestres, como os campos limpos, campos sujos, campos rupestres e os campos de murundus. Mas também se destacam na paisagem, em menor proporção, os capões de mata e as matas ripárias em geral (mata galeria, mata ciliar) (IBAMA, 2005).

Em menor quantidade, também se encontram campos cerrados, cerrado *stricto sensu* e parque cerrado. Nos vales, as formações florestais, como o cerrado *stricto sensu* denso, o cerradão e as florestas mesófilas, são mais abundantes e nas depressões, são encontradas dezenas de olhos d'água perenes distribuídas ao longo dos paredões de arenito (IBAMA, 2005).

O clima predominante na região do PNSC é do tipo Cwb, segundo classificação de Köppen, que corresponde ao clima subtropical de altitude, com inverno frio e seco, e verão ameno, com temperatura média de até 22°C (GOLFARI *et al.*, 1978). A precipitação anual varia de 1200mm até 1800mm (IBAMA, 2005).

A precipitação média mensal concentra-se nos meses de primavera e verão (outubro a março). Curtos períodos de seca (veranicos), podem ocorrer em meio a esta estação, criando sérios problemas à agricultura e aumentando o risco de incêndios (IBAMA, 2005).

A região denominada de Planaltos da Canastra é constituída por cristas, barras e vales. As rochas na área são componentes do grupo Canastra, com filitos sericita-xistos,

quartzitos, micaxistos e xistos calcíferos. Referente ao solo do PNSC foram identificadas seis classes de solos: solos latossólicos; solos medianamente profundos; solos cambisólicos medianamente profundos com ou sem cascalho; solos poucos profundos cambisólicos; solos pouco profundos litossólicos (classificação atual neossolos); e afloramentos rochosos (IBAMA, 2005).

Quanto à fauna, o PNSC está localizado na província zoogeográfica Cariribororó, abrigando espécies típicas do bioma do cerrado e demais formações abertas do Brasil Central, sendo muitas delas ameaçadas de extinção. No que se refere às espécies da avifauna já foram registradas no Parque e área de entorno, 354 espécies de aves, dentre as espécies de aves ameaçadas de extinção, raras ou vulneráveis, o pato-mergulhão (*Mergus octosetaceus*) merece especial destaque por ser uma espécie rara, citada pelos especialistas como globalmente ameaçada (IBAMA, 2005).

Para a mastofauna, nota-se a significativa diversidade de mamíferos no Parque, ao ser registrada a ocorrência de 38 espécies terrestres, quando comparado com o número de espécies (em equivalente biomassa) para todo o cerrado – 46 táxons, retratando a importância do PNSC como local de alimentação, refúgio e reprodução (IBAMA, 2005).

Diante de uma visão panorâmica dos fatores abióticos e bióticos do PNSC, pode-se observar a significância de manejos que contribuem com a proteção e conservação dos recursos naturais (IBAMA, 2005). O Plano de Manejo Integrado do Fogo tem como objetivo a confecção de aceiros negros, que ocasionam a redução da quantidade de combustível (vegetação seca) e estimulação do brotamento, além de permitir ter uma faixa de vegetação verde que barre o avanço das chamas ou que reduza sua intensidade e velocidade permitindo o combate direto. Dessa forma, a execução destes aceiros tem a finalidade de dividir a maior área regularizada do PNSC no sentido Leste-Oeste e logo a seguir executar os aceiros transversais, no formato de espinha de peixe, servindo de proteção para que incêndios tenham sua área de impacto reduzida (ICMBio, 2016).

Dessa forma, foi usado como base norteadora para a definição das áreas de pesquisa deste trabalho, o mapa de execução do Plano de Manejo do Fogo do PNSC e as orientações da equipe de brigadistas e funcionários do ICMBio através das ferramentas de monitoramento de queimadas e regime de queimadas obtidos pelo trabalho de Souza (2017) (Figura 3).

Figura 3- Mapa operativo PNSC. Local da primeira execução do Plano de Mnejo Integrado do Fogo do PNSC circulado em vermelho.

Escala 1:2.350.000.

Fonte: BRASIL, 2007, p. 19.



4.2 Pontos de coleta

Foram coletadas amostras de oito áreas distintas: (1) maior histórico de queimadas; (2) menor histórico de queimadas; (3) queimada no último ano; (4) queimada há dois anos; (5) antes da queimada - MIF; (6) após a queimada (a favor do vento - coletada 30-40 minutos aproximadamente após a queimada); (7) antes da queimada - MIF; (8) após a queimada (contra o vento – coletada imediatamente após a queimada) (Quadro 3). Em cada ponto de amostragem foram coletadas aproximadamente 300g de solo de duas profundidades distintas: 0-10cm (região de rizosfera) de 10-20cm para análise metagenômica e uma amostra composta de aproximadamente 1000g de cada uma das áreas de 0-20cm para análise físico-química. Para determinação das áreas foi utilizado como base o mapeamento do plano de ação do manejo integrado do fogo utilizado pelo ICMBio, que consta do histórico das áreas queimadas do PNSC.

Quadro 3- Organização dos grupos de amostragem do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC).

Áreas de coleta (Tratamentos)	Grupos de amostragem
----------------------------------	----------------------

(Rizosfera da planta (RP: 0-10cm) e Solo (S: 10-20cm))	
1. Maior histórico de queimadas	T1RP e T1S
2. Menor histórico de queimadas	T2RP e T2S
3. Queimada no último ano	T3RP e T3S
4. Queimada há dois anos	T4RP e T4S
5. Antes da queimada (Queimada há dois anos) (MIF)	T5RP e T5S
6. Após a queimada (aprox. 40min) (Queimada há dois anos)(MIF)	T6RP e T6S
7. Antes da queimada (Queimada há dois anos)(MIF)	T7RP e T7S
8. Imediatamente após a queimada(Queimada há dois anos)(MIF)	T8RP e T8S

4.3 Amostragem para análises físico-químicas

Em cada ponto de coleta definido foram retiradas cerca de 300g de solo com o auxílio de um trado pedológico (amostra simples) na profundidade de 0-20cm. As amostras simples foram misturadas em um balde limpo, sendo transformadas em uma amostra composta para cada uma das áreas em estudo. Para cada área com tempos distintos de queimadas, foram coletadas três amostras, estabelecendo-se aproximadamente a distância de 30 m uma da outra feita em zigue-zague, totalizando-se 8 amostras compostas (ARRUDA *et al.*, 2014).

Aproximadamente 1000g de cada amostra foram destinadas para análises físico-químicas, no laboratório de solos, do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - Câmpus Bambuí, conforme Profert-MG (2005). Foram avaliadas as concentrações de potássio (K), fósforo (P), alumínio (Al), magnésio (Mg) e matéria orgânica (MO), além de pH, hidrogênio + alumínio (H + Al), cálculo de bases intercambiáveis (SB), textura do solo e análises granulométricas.

4.4 Amostragem para análises de microbioma

Em cada ponto de coleta definido (próximo aos pontos de coletas das amostras para análise físico-química) foram abertas covas com o auxílio de enxada e sacho. Para cada área distinta, foram coletadas três amostras. Dessa forma, totalizaram-se 48 amostras (8 pontos de coleta x 3 repetições x 2 profundidades). Da parede de cada cova, com o auxílio de uma faca previamente desinfetada com álcool 70% e, posteriormente, flambada foram retiradas amostras de cerca de 50 gramas de solo, sendo transferidas para sacos

plásticos esterilizados e condicionadas em caixa de isopor à temperaturas ambiente e posteriormente transportadas para o laboratório de Biologia Molecular do IFMG - Campus Bambuí e condicionadas em geladeira com temperatura aproximada de 10°C.

4.5 Extração de DNA da microbiota do solo

A extração do DNA ambiental total presente nas amostras dos solos, foi realizada utilizando o Kit Fast DNA[®] SPIN *Kit for Soil* (BIO 101 - *MP Biomedicals*) - Catálogo n.º (#6560-200) de acordo com instruções fornecidas pelo fabricante. O material extraído foi utilizado para construção de bibliotecas de rDNA16S para análise de diversidade e outros estudos.

4.6 Análise da integridade e quantificação do DNA ambiental

A integridade do DNA ambiental extraído das amostras foi avaliada em gel de agarose a 1%, em tampão TBE 10%. Com a preparação de alíquotas de 5 µL do DNA obtido de cada amostra, mais 2 µL de tampão de corrida 5X foi submetido a uma eletroforese. Para controle de leitura foi preparada uma alíquota de 5 µL DNA padrão, também foram submetidas a eletroforese. A eletroforese foi realizada em uma cuba e tampão TBE, durante aproximadamente 2h, à voltagem constante de 80V. Os géis foram visualizados sob luz ultravioleta (SAMBROOK e RUSSEL, 2001).

4.7 Extração do DNA do genoma

O DNA total do genoma das amostras foi extraído pelo método CTAB / SDS. A concentração e pureza do DNA foram monitoradas em géis de agarose a 1%. De acordo com a concentração, o DNA foi diluído para 1 ng / mL usando água estéril.

4.8 Geração Amplicon

Os genes 16S rRNA / 18SrRNA / ITS de regiões distintas (16SV4 / 16SV3 / 16SV3-V4 / 16SV4-V5, 18S V4 / 18S V9, ITS1 / ITS2, Arco V4) foram amplificados, utilizando o iniciador específico usado (por exemplo, 16S V4: 515F-806R, 18S V4: 528F-706R,

18S V9: 1380F-1510R, et al.) Com o código de barras. Todas as reações de PCR foram realizadas com Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs).

4.9 Parâmetros de PCR para sequenciamento

Um fragmento de 466 pb do rDNA 16S foi amplificado usando os iniciadores: 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) e 806R (GGACTACNNGGGTATCTAAT) flanqueando as regiões V3 e V4 (YOUNGSEOB *et al.*, 2005) com o código de barras. A amplificação por PCR foi feita utilizando 1xPhusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs), 0,5µM de cada um dos primer 341F e 806R e 100ng de amostra de DNA ambiental. As condições de incubação por PCR foram: 98°C durante 30s, seguidas de 35 ciclos a 98°C durante 5s, 56°C durante 20s e 72°C durante 20s e um tempo de extensão final de 72°C durante 5 minutos.

4.10 Preparação e sequenciamento de bibliotecas

As bibliotecas de sequenciamento foram geradas usando TruSeq® DNA PCR-FreeSamplePreparation Kit (Illumina, EUA), seguindo as recomendações do fabricante e os códigos de índice foram adicionados. A qualidade da biblioteca foi avaliada no sistema de FluorômetroQubit@2.0 (ThermoScientific) e AgilentBioanalyzer 2100. Por fim, a biblioteca foi sequenciada em uma plataforma IlluminaHiSeq 2500 e foram geradas as reads de 250 pares de bits pareadas.

4.11 Montagem da sequência

As leituras de extremidade pareada foram mescladas usando o FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) [1], uma ferramenta de análise muito rápida e precisa, projetada para mesclar leituras de extremidade pareada quando pelo menos algumas das leituras se sobrepõem à leitura gerada a partir da extremidade oposta do mesmo fragmento de DNA, e as sequências de junção foram chamadas de tags brutas.

4.12 Filtragem de Dados

A filtragem de qualidade nas tags brutas foi realizada sob condições de filtragem específicas para obter as tags limpas de alta qualidade [2], de acordo com o QIIME (V1.7.0, <http://qiime.org/index.html>).

4.13 Remoção de quimera

As tags foram comparadas com o banco de dados de referência (banco de dados Gold, http://drive5.com/uchime/uchime_download.html) usando o algoritmo UCHIME (UCHIME Algorithm, http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html) para detectar sequências quiméricas e, em seguida, as sequências quiméricas foram removidas [5]. Em seguida, as tags efetivas finalmente foram obtidas.

4.14 Produção de OTUs

A análise das sequências foi realizada pelo software Uparse (Uparse v7.0.1001, <http://drive5.com/uparse/>). Sequências com similaridade $\geq 97\%$ foram atribuídas às mesmas OTUs. A sequência representativa para cada OTU foi rastreada para anotações adicionais.

4.15 Anotação de espécies

Para cada sequência representativa, o Banco de Dados GreenGene (<http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-index.cgi>) foi usado com base no RDP classificador (Versão 2.2, <http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>) 8galgorithm para anotar informações taxonômicas.

4.16 Construção de Relação filogenética

Para estudar a relação filogenética de diferentes OTUs e a diferença de espécies dominantes em diferentes amostras (grupos), foi realizado o alinhamento de múltiplas sequências usando o software PyNAST (Versão 1.2) em relação ao conjunto de dados "Core Set" no Green Gene base de dados.

4.17 Diversidade Alpha

A diversidade alfa é aplicada na análise da complexidade da diversidade de espécies para uma amostra através de 6 índices, incluindo espécies observadas, Chao1, Shannon, Simpson, ACE e boa cobertura. Todos esses índices em nossas amostras foram calculados com QIIME (Versão 1.7.0) e exibidos com o software R (Versão 2.15.3).

Dois índices foram selecionados para identificar a riqueza da Comunidade:

Chao - o estimador Chao1 (<http://www.mothur.org/wiki/Chao>);

ACE - o estimador da ACE (<http://www.mothur.org/wiki/Ace>);

Foram utilizados dois índices para identificar a diversidade comunitária:

Shannon - o índice Shannon (<http://www.mothur.org/wiki/Shannon>);

Simpson - o índice Simpson (<http://www.mothur.org/wiki/Simpson>);

Um índice para a profundidade de sequenciamento caracterizada:

Cobertura - a cobertura do Bem (<http://www.mothur.org/wiki/Coverage>)

4.18 Diversidade Beta

A análise da diversidade beta foi usada para avaliar as diferenças das amostras na complexidade das espécies; a diversidade beta nos unifrac ponderados e não ponderados foi calculada pelo software QIIME (Versão 1.7.0).

A análise de cluster foi precedida pela análise de componente principal (PCA), que foi aplicada para reduzir a dimensão das variáveis originais usando o pacote FactoMine R e o pacote ggplot2 no software R (versão 2.15.3).

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi realizada para obter coordenadas principais e visualizar dados complexos e multidimensionais. Uma matriz de distância de unifrac ponderado ou não ponderado entre as amostras obtidas anteriormente foi transformada em um novo conjunto de eixos ortogonais, pelo qual o fator de variação máximo é demonstrado pela primeira coordenada principal e o segundo máximo pela segunda coordenada principal, e assim por diante. A análise de PCoA foi exibida pelos pacotes WGCNA, stat e ggplot2 no software R (versão 2.15.3).

4.19 Análise funcional de comunidades bacterianas que possuem o gene marcador *nifH* (K02588) a partir do gene 16S rRNA

A ferramenta PICRUST (investigação filogenética de comunidades por reconstrução de estados não observados) (LANGILLE *et al.*, 2013), foi utilizada para predição do metagenoma funcional de cada área estudada. PICRUST é um software de bioinformática utilizado para realizar predições de potenciais funções metabólicas de metagenomas a partir de sequências de genes marcadores como o 16S rRNA, e usando como referência os bancos de dados IMG (Integrated Microbial Genomes) (MARKOWITZ *et al.*, 2012) e Greengenes (DESANTIS *et al.*, 2006; LANGILLE *et al.*, 2013). Esses bancos de dados servem como base para inferir o potencial codificador de um metagenoma a partir de cada

UTO (Unidade Taxonômica Operacional) identificada (LANGILLE *et al.*, 2013). Para a classificação funcional, o PICRUS_t utiliza os bancos de dados como KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) ou COG (Clusters of Orthologous Groups of Proteins) (LANGILLE *et al.*, 2013). As UTOS geradas através do programa QIIME versão 1.8.0, contendo as informações dos táxons presentes no consórcio bacteriano, foram utilizadas como entradas do software PICRUS_t versão 1.1.0. Para testar a similaridade de composição da abundância relativa foi realizado uma PERMANOVA (BUSSAB, 2003).

4.20 Análises estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas na plataforma R (versão 2.15.3) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012) com os pacotes States (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012), Vegan (OKSANEN *et al.*, 2011) e Indicspecies (DE CACERES; LEGENDRE, 2009; DE CACERES; LEGENDRE; MORETI, 2010).

A análise de similaridade (ANOSIM) (CLARKE, 1993) foi utilizada na checagem dos perfis das comunidades. Sendo empregadas matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis para calcular a estatística R, que compreende valores de 0 a 1. Quanto maior for o valor de R, maior a diferença entre as comunidades. A significância foi testada por permutação, recalculando o valor de R 999 vezes. Comparações pareadas foram feitas e os valores de *p* foram ajustados devido aos múltiplos testes realizados, aplicando-se a correção de Bonferroni.

Foi realizada a análise de agrupamento (“*clustering*”) considerando a abundância das comunidades microbianas em cada uma delas. Para isso, as sondas foram agrupadas, somando as intensidades de abundância. Com os valores de abundância, foi construído um “*heatmap*”, utilizando a função *heatmap* disponível no pacote “*stats*” do programa R 2.12.1, onde a intensidade de cor é proporcional à abundância. Os valores foram normalizados para cada processo funcional, com média zero e desvio padrão igual a um.

Para verificar a correlação do fogo com variáveis ambientais correspondentes (físico- química do solo vs microbiota), foi utilizado o teste de correlação (*envfit*) das variáveis físico-químicas que mostram as médias dos níveis dos fatores com os eixos da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (OKSANEN, 2015). Para testar a similaridade de composição foi realizado uma PERMANOVA (BUSSAB, 2003).

Para verificar diferenças de riqueza de espécies entre as áreas submetidas a queimadas em tempos distintos e pelo manejo do fogo foi utilizado o Test – T pareado (BUSSAB, 2003).

5. RESULTADOS

5.1 Características químicas e físicas do solo

De acordo com as distribuições granulométricas as amostras coletadas foram classificadas conforme a Tabela 1:

Tabela 1- Classificação granulométrica de amostras extraídas do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.

Amostras	Argila	Silte	Areia total	Classificação textural
T1	50,7%	38,9%	10,4%	Argilosa
T2	8,6%	15,4%	76%	Arenosa
T3	39,6%	37,8%	22,6%	Argilosa
T4	45,9%	33,5%	20,5%	Argilosa
T5	9,5%	5,3%	85,1%	Arenosa
T6	11,5%	6,4%	82,1%	Arenosa
T7	10,6%	6,8%	82,6%	Arenosa
T8	12,8%	20,9%	66,3%	Arenosa

As análises das propriedades químicas do solo mostraram que o pH nas áreas de estudo variaram entre 4,7 a 5,4. As concentrações de nutrientes apresentaram valores diferentes entre as áreas após as queimadas (T6 e T8) para fósforo (P), potássio (K), ferro (Fe), zinco (Zn) e boro (B). Os teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e manganês (Mn) e as concentrações de alumínio (Al) aparentemente apresentaram variações distintas entre as áreas submetidas a queimadas pelo manejo integrado do fogo do PNSC (Tabela 2).

Amostragem/ pH/ Elementos químicos								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
pH	5,2	5,0	5,5	5,4	5,4	5,4	5,1	4,7

Tabela 2- Comparativo de análises químicas das amostragens do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra

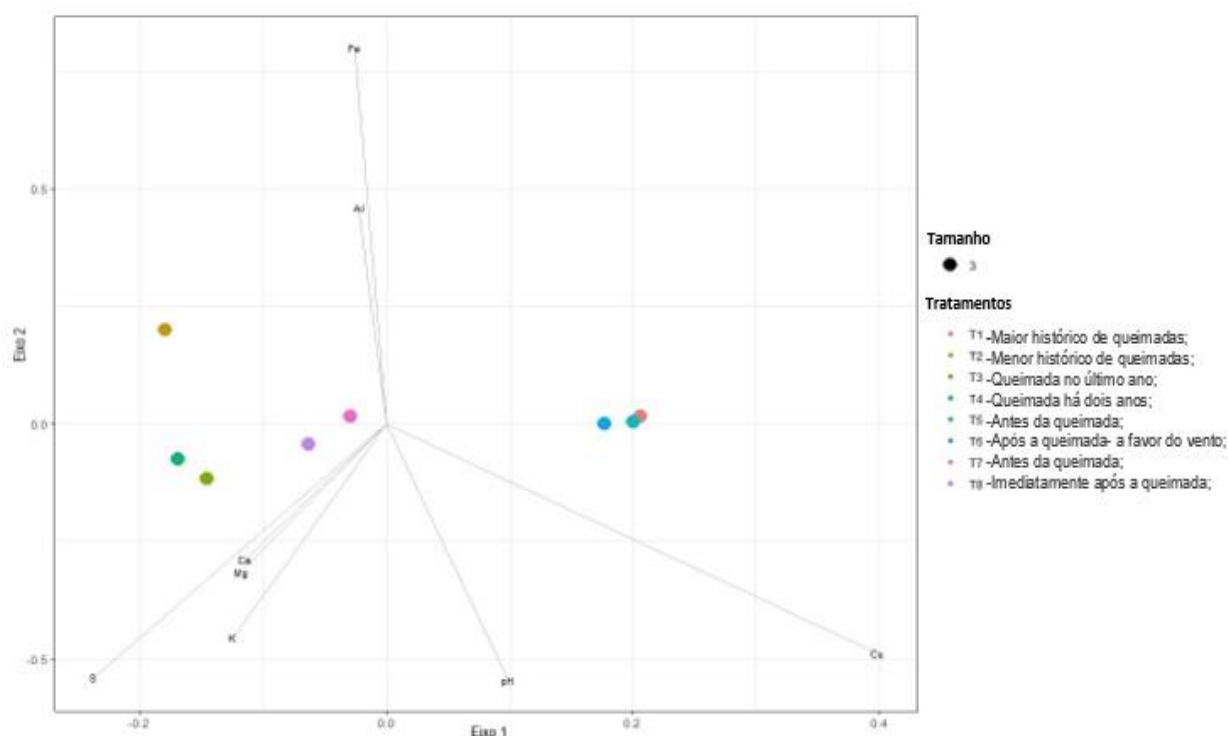
	P	2,3	1,1	0,8	3,7	1,6	2,1	2,6
K	42,0	19,0	43,0	45,0	49,0	19,0	13,0	40,0
Fe	50,5	211,0	58,4	61,20	121,5	139,0	68,6	57,6
Zn	1,07	0,49	0,93	0,53	1,59	0,93	0,37	0,57
B	0,45	1,02	0,54	0,58	1,33	0,39	0,53	0,79
Ca	0,28	0,26	0,37	0,31	0,31	0,26	1,39	0,32
Mg	0,11	0,07	0,13	0,11	0,08	0,07	0,55	0,10
Mn	1,40	0,30	2,10	0,80	0,30	0,30	0,60	0,60
Al	0,05	0,30	0,00	0,00	0,20	0,15	0,25	0,60
S	2,63	0,93	4,18	3,27	0,32	0,00	0,13	0,00

No entanto, o teste de Correlação (envfit) das variáveis físico-químicas com os eixos da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) revelou que, dentre todos os parâmetros físico-químicos analisados não houve diferença significativas entre os elementos de todas as áreas estudadas (Tabela 3) (Figura 4).

Tabela 3- Teste de Correlação (envfit) para verificar a correlação do fogo com variáveis ambientais correspondentes (físico- química do solo).

Elementos	Eixo 1	Eixo 2	R ²	P Value
Ph	0.17833	-0.98397	0,3059	0,390
K	-0.26331	-0.96471	0,2224	0,518
Ca	-0.36889	-0.92947	0,0965	0,755
Mg	-0.35100	-0.93638	0,1130	0,745
Al	-0.04934	0.99878	0,2131	0,519
Cu	0.63229	-0.77473	0,3977	0,308
Fe	-0.03231	0.99948	0,6411	0,129
S	-0.40233	-0.91550	0,3473	0,321

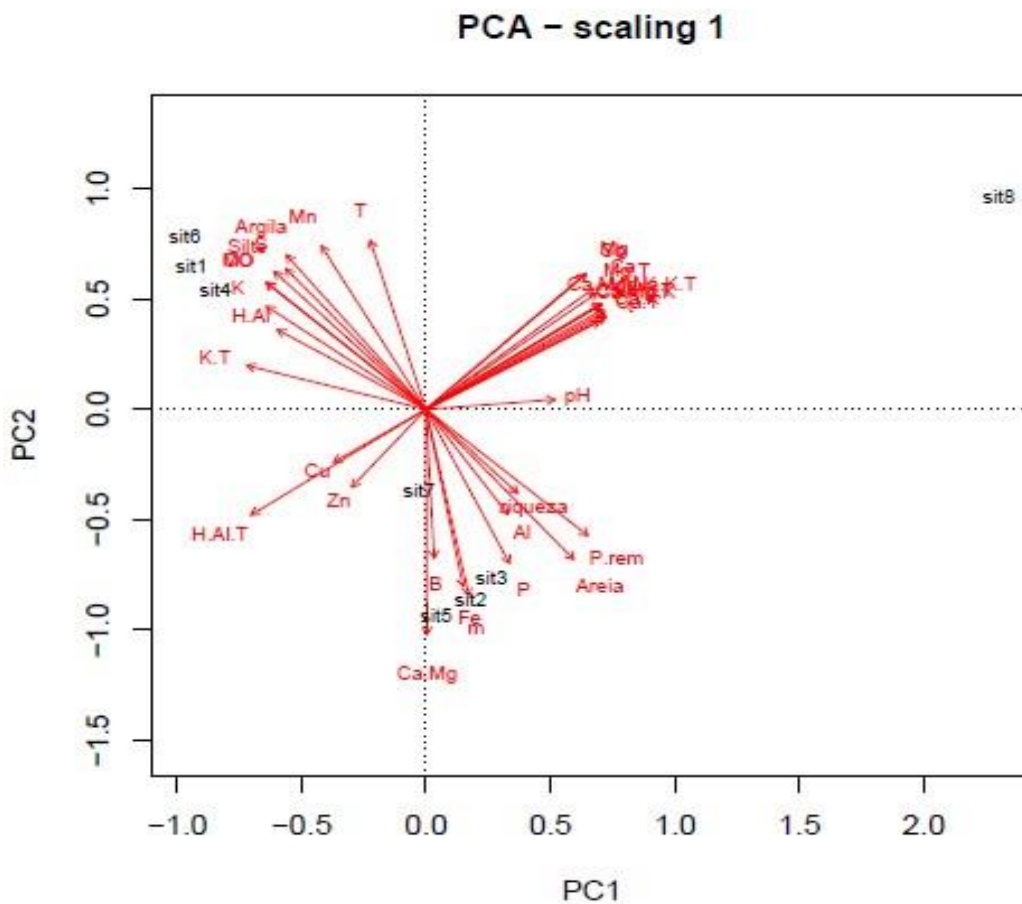
Figura 4- PCoA (*envfit*) Correlação das variáveis físico-química com os eixos da Pcoa.



Legenda: A correlação dos parâmetros físico-químicos do solo do PNSC. foram avaliados através da função *envfit* que encontra vetores ou médias fatoriais de variáveis ambientais. Através da função *envfit* obteve-se o valor *n* de correlação de cada variável físico-química com as comunidades bacterianas gerais e valor *p* de cada correlação entre cada OTU e todas as variáveis físico-químicas do solo do PNSC, a saída impressa de variáveis contínuas (vetores) fornece a direção cossenos, que são as coordenadas das cabeças dos vetores de comprimento unitário. Os *plots* são dimensionados por sua correlação (raiz quadrada da coluna r^2), de modo que “fraco” preditores têm setas mais curtas do que preditores “fortes”. Os dados foram obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos das áreas de Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. No entanto, embora seja possível observar no gráfico que alguns elementos químicos possuem preditores fortes, não se obteve correlações estatisticamente significativas uma vez que o valor de *p* de correlação de cada variável físico-químicas com as comunidades bacterianas apresentaram $p > 0,05$.

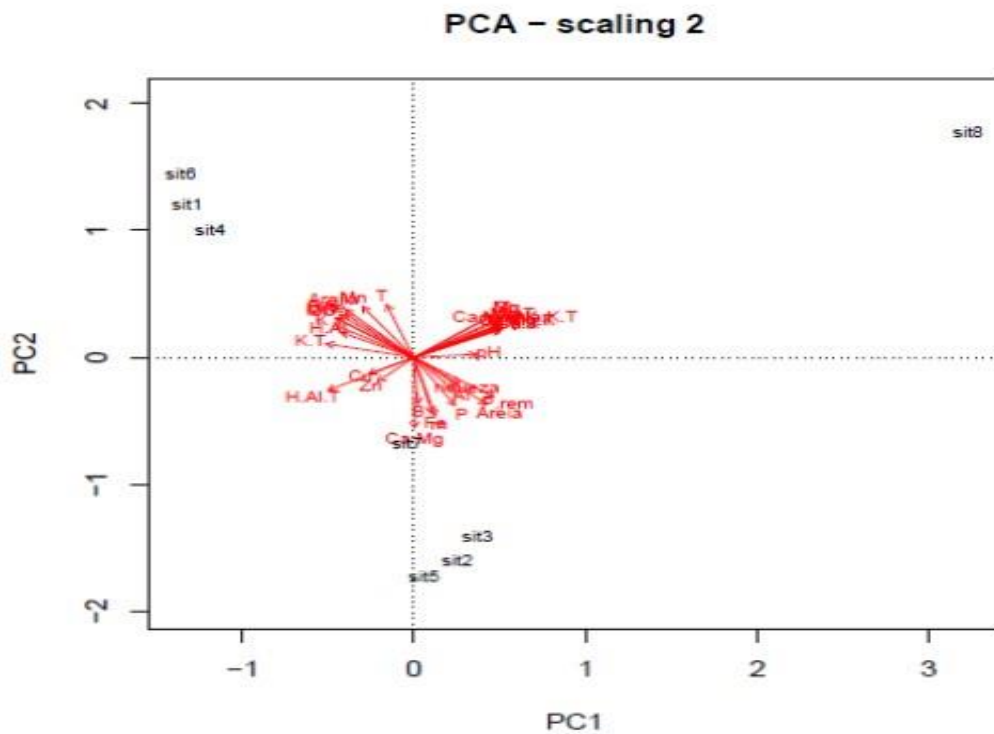
Como análise visual sobre a similaridade das variáveis físico-químicas do solo das áreas estudadas, os dados foram testados na ordenação dos atributos do solo por análise de componentes principais (PCA), que indica como as variáveis físico-químicas agrupam-se de acordo com as suas propriedades do solo, no entanto não mostra uma influência significativa sobre o agrupamento da comunidade bacteriana nas áreas estudadas, uma vez que pode-se perceber uma sobreposição entre a variação das características físico-químicas do solo, mostrando similaridade entre ambas áreas estudadas. (Figura 5 e Figura 6).

Figura 5- Análise dos componentes principais (PCA) com os parâmetros químicos dos solos analisados do Parque Nacional da Serra da Canastra.



Legenda: A correlação dos parâmetros físico-químicos do solo do PNSC, foram avaliados através da análise de componentes principais (PCA), que indica como as unidades fisiográficas agrupam-se de acordo com as suas propriedades físico-químicas do solo, a saída impressa de variáveis contínuas (vetores) fornece a direção cossenos, que são as coordenadas das cabeças dos vetores de comprimento unitário. Os *plots* são dimensionados por sua correlação (raiz quadrada da coluna r^2), de modo que “fraco” preditores têm setas mais curtas do que preditores “fortes”. Os dados foram obtidos através do rDNA 16S, as áreas estudadas foram agrupadas em sítios para melhor visualização, o Sit 1 corresponde o tratamento da área de Maior histórico de queimadas; Sit 2: Menor histórico de queimadas; Sit 3: Queimada no último ano queimadas; Sit 4: Queimada há dois anos; Sit 5: Antes da queimada; Sit 6: Após a queimada (a favor do vento); Sit 7: Antes da queimada; Sit 8: Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF). No entanto, embora seja possível observar que a maioria dos elementos físico-químicos exercem preditores fortes, ambos se sobrepõem apresentando uma similaridade entre os componentes físico químico dos solos das áreas estudadas, dessa forma não apresentam uma influência significativa sobre o agrupamento das comunidades bacterianas.

Figura 6- Análise dos componentes principais (PCA) com os parâmetros químicos dos solos analisados do Parque Nacional da Serra da Canastra.



Legenda: A correlação dos parâmetros físico-químicos do solo do PNSC, foram avaliados através da análise de componentes principais (PCA), que indica como as unidades fisiográficas agrupam-se de acordo com as suas propriedades físico-químicas do solo, a saída impressa de variáveis contínuas (vetores) fornece a direção cossenos, que são as coordenadas das cabeças dos vetores de comprimento unitário. Os *plots* são dimensionados por sua correlação (raiz quadrada da coluna r^2), de modo que “fraco” preditores têm setas mais curtas do que preditores “fortes”. Os dados foram obtidos através do rDNA 16S, as áreas estudadas foram agrupadas em sítios para melhor visualização, o Sit 1 corresponde o tratamento da área de Maior histórico de queimadas; Sit 2: Menor histórico de queimadas; Sit 3: Queimada no último ano queimadas; Sit 4: Queimada há dois anos; Sit 5: Antes da queimada; Sit 6: Após a queimada (a favor do vento); Sit 7: Antes da queimada; Sit 8: Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF). No entanto, embora seja possível observar que a maioria dos elementos físico-químicos exercem preditores fortes, ambos se sobrepõem apresentando uma similaridade entre os componentes físico químico dos solos das áreas estudadas, dessa forma não apresentam uma influência significativa sobre o agrupamento das comunidades bacterianas.

Tabela 4- Análise química de amostras extraídas do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.

Descrição	pH	P meh- 1	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	t	T	V	m	M.O	C.O.	P rem	B	Cu	Fe	Mn	Zn	S	Relações entre bases:				Relações entre bases e T (%):						
	(água)	mg dm ³						cmolc dm ³			%		dag Kg		mg L								Ca/M g	Ca/K	Mg/K	Ca+ Mg/K	Ca/T	Mg/T	K/T	H+Al/T	Ca+Mg/ T	Ca+Mg+ Na+K/T
TRATAMENTO -01	5.20	1.00	42.00	0.28	0.1	0.0	4.57	0.5	0.5	5.0	9.90	9.10	3.70	2.15	6.10	0.45	0.90	50.50	1.40	0.07	2.63	2.50	2.50	1.00	3.50	5.50	2.20	2.20	90.10	7.70	9.90	
TRATAMENTO -02	5.00	2.30	19.00	0.26	0.0	0.3	3.27	0.3	0.6	3.6	10.4	44.1			34.8	1.02	0.20	211.00	0.30	49	0.93	3.70	5.20	1.40	6.60	7.10	1.90	1.40	89.60	9.00	10.40	
TRATAMENTO -03	5.50	1.10	43.00	0.37	0.1	0.0	4.34	0.6	0.6	4.9	12.3	0	0.00	3.92	2.27	5.00	0.54	1.20	58.40	2.10	93	4.18	2.80	3.40	1.20	4.50	7.50	2.60	2.20	87.70	10.10	12.30
TRATAMENTO -04	5.40	0.80	45.00	0.31	0.1	0.0	4.20	0.5	0.5	4.7	11.4	0	0.00	3.54	2.05	5.30	0.58	0.90	61.20	0.80	53	3.27	2.80	2.60	0.90	3.50	6.50	2.30	2.50	88.60	8.90	11.40
TRATAMENTO -05	5.40	3.70	19.00	0.31	0.0	0.2	3.27	0.4	0.6	3.7	11.9	31.2			27.0	1.33	2.00	121.50	0.30	59	0.32	3.90	6.20	1.60	7.80	8.40	2.20	1.30	88.10	10.50	11.90	
TRATAMENTO -06	5.40	1.60	19.00	0.26	0.0	0.1	2.36	0.3	0.5	2.7	13.9	28.3			31.6	0.39	1.00	139.00	0.30	93	0.00	3.70	5.20	1.40	6.60	9.50	2.60	1.80	86.10	12.00	13.90	
TRATAMENTO -07	5.10	2.10	13.00	1.39	0.5	0.2	2.56	1.9	2.2	4.5	43.5	11.3			37.5	0.53	0.10	68.60	0.60	37	0.13	2.50	46.30	18.30	64.70	30.70	12.10	0.70	56.50	42.80	43.50	
TRATAMENTO -08	4.70	2.60	40.00	0.32	0.1	0.6	4.52	0.5	1.1	5.0	10.3	53.6			29.6	0.79	0.30	57.60	0.60	57	0.00	3.20	3.20	1.00	4.20	6.30	2.00	2.00	89.70	8.30	10.30	

5.2 Análises de bioinformática

5.2.1 Resultados gerais

Através do sequenciamento da região rDNA 16S foram gerados 2.727.107 sequências totais após filtragem e remoção das quimeras. Posteriormente, para padronizar o número de sequências em todas as amostras foi realizada uma rarefação em 23.902 sequências por amostra, totalizando 1.147.296 sequências.

5.2.2 Diversidade alfa

A riqueza observada para as oito amostras da Rizosfera da Planta (RP) (0-10cm) e Solo (S) (10-20cm) submetidas às análises de diversidade alfa, variou de 1.479 a 2.096. Os valores obtidos para o estimador de riqueza de ACE variaram de 1.824 a 2.681 e Chao1 de 1.754 a 2.586. O índice de diversidade de Simpson apresentou valores entre 0,984 e 0,994 e o de Shannon entre 7.892 e 8.860. Os valores para cobertura das sequências variaram de 0,974 a 0,984 (Tabela 5).

Tabela 5- Índices de riqueza e diversidade da microbiota do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra

Amostras	Riqueza observada	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	Cobertura	Diversidade Filogenética (PD)
T1RP	1.828	8.127	0,987	2.421	2.500	0,974	126.115
T2RP	2.096	8.860	0,993	2.574	2.681	0,974	142.620
T3RP	1.973	8.826	0,993	2.361	2.434	0,977	141.009
T4RP	1.858	8.847	0,994	2.126	2.196	0,981	132.100
T5RP	1.629	7.911	0,984	1.890	2.042	0,981	115.889
T6RP	1.907	8.420	0,988	2.352	2.389	0,977	131.421
T7RP	2.048	8.735	0,992	2.586	2.651	0,974	142.904
T8RP	1.967	8.790	0,993	2.354	2.433	0,977	131.795
T1S	1.631	7.913	0,985	2.069	2.174	0,978	114.631

T2S	1.901	8.689	0,993	2.342	2.434	0,976	131.843
T3S	1.829	8.658	0,992	2.160	2.247	0,979	131.144
T4S	1.777	8.763	0,994	2.052	2.146	0,981	125.737
T5S	1.593	7.968	0,986	1.953	2.037	0,980	113.971
T6S	1.479	7.892	0,986	1.754	1.824	0,983	105.160
T7S	1.765	8.554	0,992	2.108	2.160	0,981	123.692
T8S	1.789	8.394	0,991	2.377	2.447	0,974	120.953

Legenda: Índices de riqueza (Chao1 e ACE) e de diversidade (Shannon, Simpson) calculados a partir dos dados do sequenciamento da microbiota do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos dos solos com Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm;

Comparando-se os valores do índice Shannon entre as amostras das áreas de estudo, percebe-se que nas áreas antes da queimada, T5RP (Antes da queimada 0-10cm), T7RP (Antes da queimada 0-10cm) e T5S (Antes da queimada 10-20cm), T7S (Antes da queimada 10-20cm) apresentaram um menor índice de Shannon variando de 7.911 a 8.735, porém esses valores não indicam uma menor índice de abundância e riqueza da distribuição entre as principais espécies da comunidade, ou seja, uma menor heterogeneidade da população microbiana rara, uma vez que os índices se encontram próximos e não apresentam diferenças abruptas.

As amostras T6RP (Após a queimada – a favor do vento) e T8RP (Após a queimada – contra o vento) apresentaram uma variação de aumento para o índice de Shannon correspondendo a 8.420 e 8.790 respectivamente, indicando uma tendência maior de abundância e riqueza de distribuição de espécies raras.

No entanto, para as amostras coletadas após a queimada para a camada solo (10-20cm) T6S e T8S houve um declínio do índice de Shannon de 8.394 e 7.892. Nas demais amostras, os índices das áreas não queimadas T2RP (Menor histórico de queimadas camada 0-10cm) e T2S (Menor histórico de queimadas, camada 10-20cm) variou de 8.689 a 8.860 e dos respectivos tempos de queimadas para as amostras T1RP (Maior

histórico de queimadas camada 0-10cm), T3RP (Queimada no último ano, camada 0-10cm), T4RP (Queimada há dois anos, camada 0-10cm), T1S (Maior histórico de queimadas camada 10-20cm), eT3S (Queimada no último ano, camada 10-20cm), T4S (Queimada há dois anos, camada 10-20cm), apresentaram uma variação dos índices de Shannon entre 7.913 a 8.847, mostrando uma tendência de maior abundância e riqueza para as áreas com (Menor histórico de queimadas) T2RP. Já as áreas com maior histórico de queimadas apresentaram um declínio no índice de Shannon mostrando uma tendência de menor abundância e riqueza para as áreas T1RP (Maior histórico de queimadas, camada 0-10cm) e T1S (Maior histórico de queimadas, camada 10-20cm), a T5RP (área antes da queimada, camada 0-10cm) também apresentou um declínio do índice de Shannon .

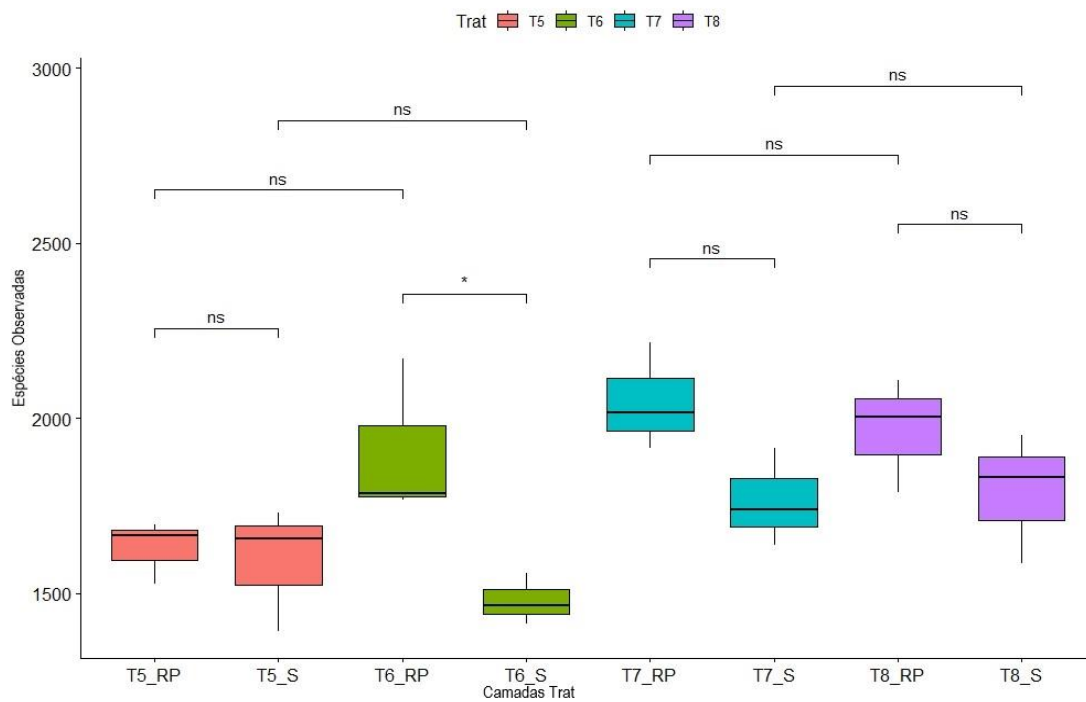
Quanto ao índice de Simpson, todas as amostras estudadas apresentaram valores próximos de 1 variando entre 0,984 e 0,994. Dessa forma, todas as amostras indicaram baixa dissimilaridade amostral, sugerindo que as unidades apresentaram diversidade amostral similar. No índice de riqueza de espécies ACE as sequências são agrupadas em raras e abundantes de acordo com sua frequência de observação. Segundo o estimador ACE, se uma OTU apresenta a ocorrência de mais de 10 sequências do mesmo organismo, este então é considerado abundante (HUGHES *et al.*, 2001). Desse modo, o índice ACE não indicou diferenças nos tratamentos estudados. O índice de CHAO1 usa o número de OTUs para estimar o número de espécies faltantes (CHAO, 1984). O índice CHAO1 variou de 1.754 a 2.586 , dessa maneira, não demonstrou diferenças entre as amostras estudadas.

No entanto, em relação a riqueza de espécies a partir do Teste –T Pareado não foi possível identificar valores significativos para correlações entre as áreas antes e após a queimada e suas camadas RP(0-10) e S(10-20). Apresentando diferença significativa apenas para a área T6 (ápos o fogo a favor do vento) entre suas camadas T6RP (0-10) e T6S (10-20) (Tabela 6) (Figura 7) .

Tabela 6- Teste T- Pareado para comparar riqueza de espécies entre as áreas submetidas a queimada pelo Manejo Integrado do Fogo.

Riqueza de espécies	
Test-T Pareado	
Tratamentos	<i>P</i> Value
(antes e após a queimada)	
T5RP x T5S	$p = 0.60$
T6RP x T6S	$P= 0.045^*$
T7RP x T7S	$P= 0.18$
T8RP x T8S	$P= 0.46$
T5RP x T6RP	$P= 0.26$
T5S x T6S	$P= 0.51$
T7RP x T8RP	$P= 0.61$
T7S x T8S	$P= 0.90$

Figura 7- Box Plot (Teste T-Pareado) - Correlação de riqueza de espécies



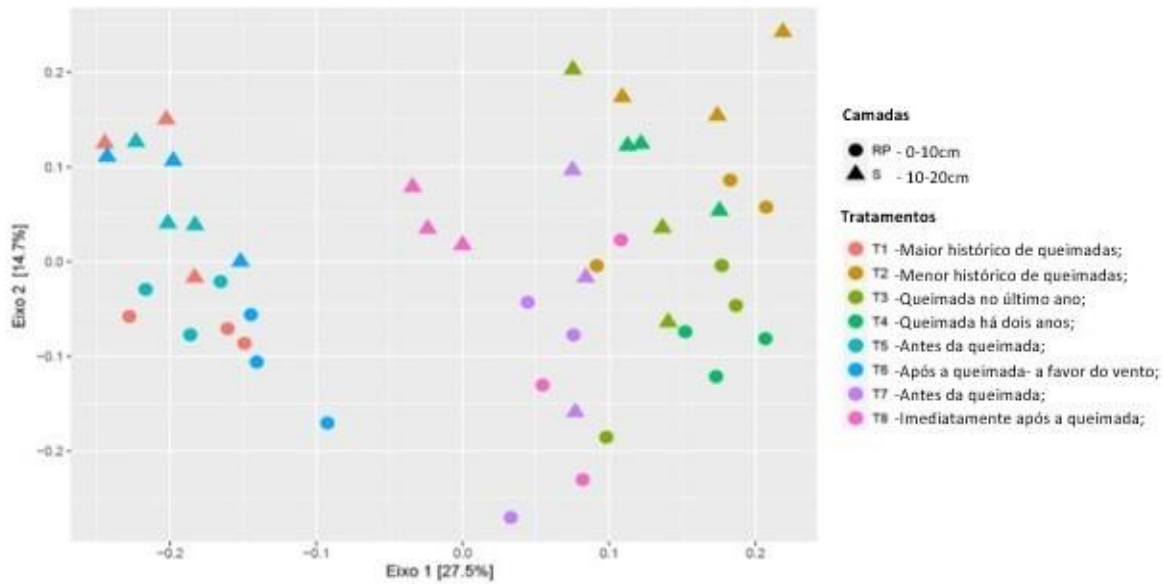
Legenda: Teste t pareado para análise de diferença da riqueza de espécies entre os tratamentos: Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. As barras verticais representam os erros-padrão das médias. Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as áreas analisadas foram identificadas nos gráficos com asteriscos localizados acima da barra de desvio-padrão. Ausências de asteriscos sobre as barras sinalizam inexistência de diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.3 Diversidade Beta

5.2.3.1 Ordenação (PCoA)

Em termos da composição das comunidades, observou-se através da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) utilizando a matriz de distância de Bray-Curtis, que as amostras foram separadas por camadas denominadas Rizosfera da Planta (RP, 0-10cm) e Solo (S, 10-20cm) onde, as camadas S (triângulo) estão na parte superior do gráfico e RP (círculos) na inferior (Figura 8). Os tratamentos T1 (Maior histórico de queimadas), T5 (Antes da queimada) e T6 (Após a queimada- a favor do vento) apresentaram comunidades microbianas mais similares, formando um agrupamento mais próximo. As amostras T7 (Antes da queimada) e T8 (imediatamente após a queimada) foram as que apresentaram menores valores de similaridade entre as demais amostras. A amostra T2 (Menor histórico de queimadas) se encontra mais isolada no canto superior do gráfico. As demais amostras (Queimada no último ano, queimadas (T3), Queimada há dois anos(T4)) se encontram dispersas no meio do gráfico, no entanto, é possível perceber que as amostras de um mesmo grupo apresentam maior similaridade entre si. Foi possível identificar através de análise estatística uma diferença significativa na composição das comunidades entre os diferentes grupos (PERMANOVA, $F=5.754$, $R^2=0.461$ e $P=0,001$) e camadas (PERMANOVA, $F=7.339$, $R^2=0.084$ e $P=0,001$) (Figura 8).

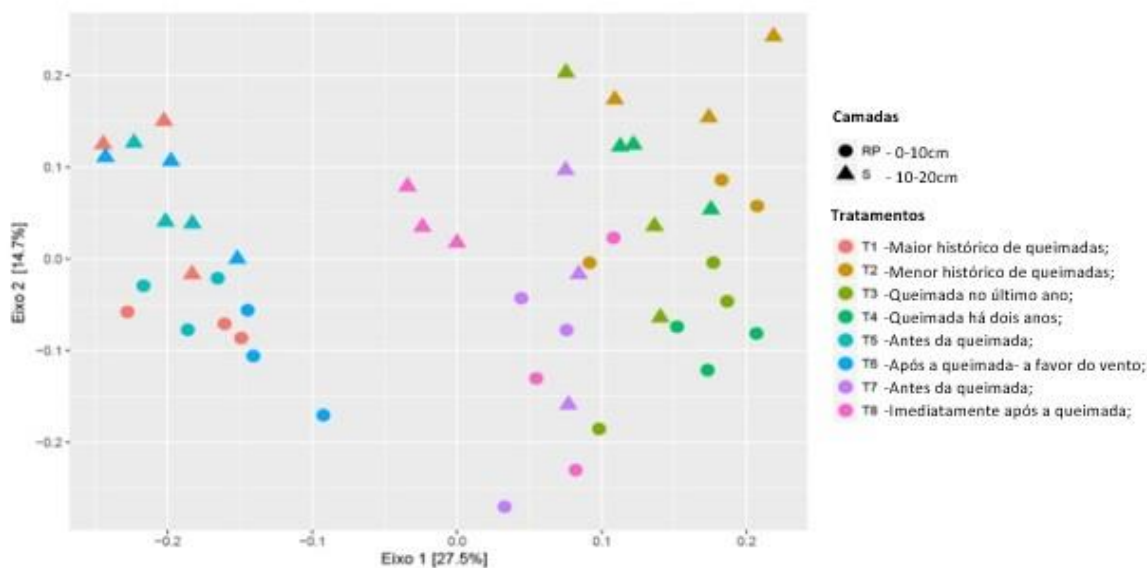
Figura 8- PCoA - Bray Curtis



Legenda: Análise de coordenadas principais (*Principal Coordinates Analysis* - PCoA) usando medidas para geração do escalonamento multidimensional não métrico baseado na dissimilaridade de Bray-Curtis, esta análise não taxonômica permite avaliar a diversidade entre as amostras com base na abundância relativa de cada OTU dentro de cada amostra da microbiota do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra, obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos das áreas de Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Sendo as amostras da camada de (0-10cm) representadas por círculos, e as amostras da camada (10-20cm) representadas por triângulos. Correlações estatisticamente significativas apresentaram $p < 0,05$.

Entretanto, diferente das análises utilizando o Bray Curtis nas análises de coordenadas principais (PcoA) Unifrac não foi possível observar separações evidentes. Os grupos T1(Maior histórico de queimadas), T5 (Antes da queimada) e T6 (Após a queimada- a favor do vento) continuam próximos. Os demais tratamentos T3 (Queimada no último ano queimadas), T4 (Queimada há dois anos) ,T7 (Antes da queimada) e T8 (imediatamente após a queimada) estão dispersos no gráfico e o grupo T2 (Menor histórico de queimadas) não se encontra isolado. As amostras de um mesmo grupo continuam próximas. Mas pode-se observar a separação entre as camadas RP (0-10cm) e S (10-20cm) na parte inferior e superior, respectivamente (Figura 9).

Figura 9- PCoA - Unifrac



Legenda: Análise de coordenadas principais (*Principal Coordinates Analysis* - PCoA) usando medidas Unifrac ponderadas de β -diversidade (medida de dissimilaridade filogenética entre comunidades bacterianas) do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra, obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos das áreas de Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Sendo as amostras da camada RP (0-10cm) representadas por círculos, e as amostras da camada S (10-20cm) representadas por triângulos.

5.2.3.2 Composição da comunidade microbiana

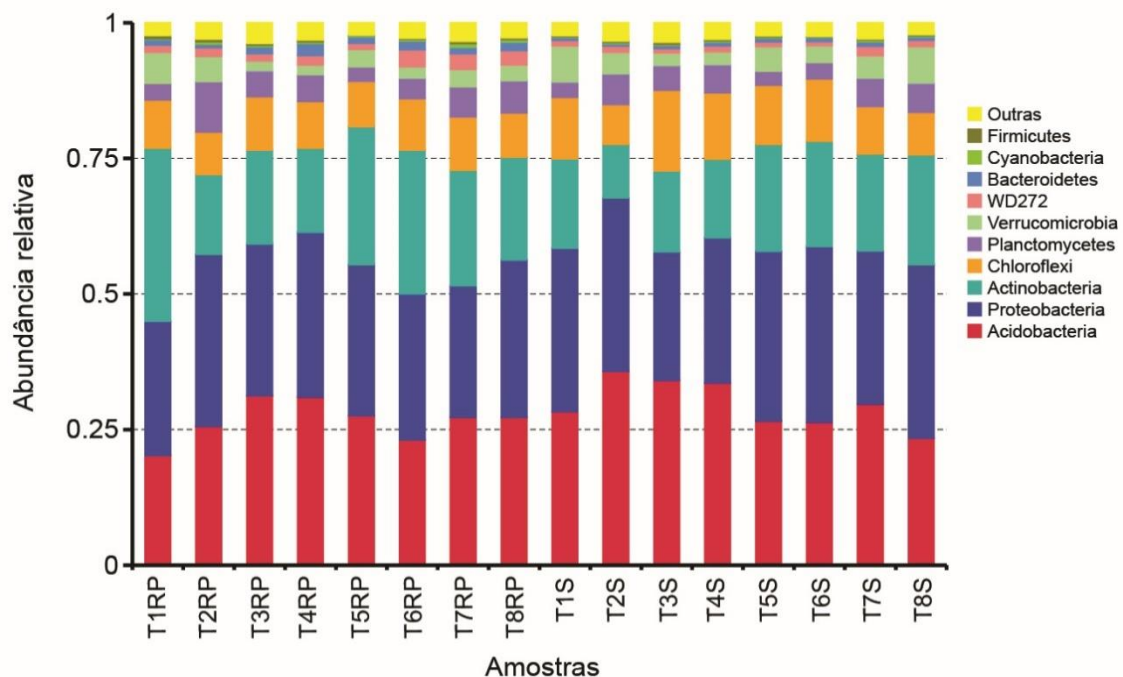
O número de sequências classificadas diminuiu com o aumento da resolução taxonomica, sendo a maioria das sequências classificadas a nível de Filo (97%), ocorrendo um declínio para os demais níveis de táxon: Classe (86%), Ordem (64%), Família (50%). Apresentando uma maior diminuição de sequências classificadas a nível de Gênero (21%) (Tabela 7).

Tabela 7 - Números de sequências classificadas e não classificadas de acordo com o nível taxonômico.

Nível de táxon	Nº Classificados	Nº não Classificados	% Classificada
Filo	1554214	0,021449	97%
Classe	1372445	2275555	86%
Ordem	1023823	5761778	64%
Família	799389	8907614	50%
Gênero	3348499	1265151	21%

Desse modo, os oito Filos mais abundantes foram Acidobacteria (29%), Proteobacteria (28%), Actinobacteria (19%), Chloroflexi (10%), Planctomycetes (6%), Verrucomicrobia (5%), Bacteroidetes (1%), e outros (3%) (Figura 10).

Figura 10 - Abundância relativa a nível de Filos dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.

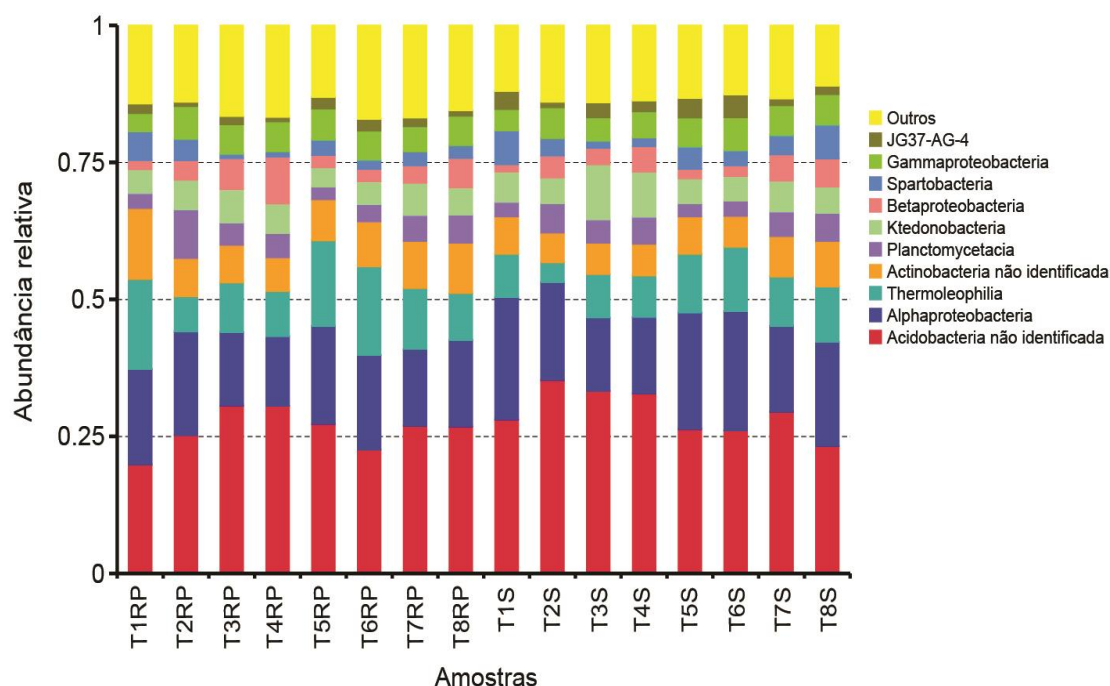


Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferenças em nível de filo na composição da microbiota presente no solo do PNSC. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a

queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre os 8 filis mais abundantes.

A fim de se obter uma melhor compreensão da composição microbiana das áreas de estudo, foram realizadas análises a nível de Classe. As nove Classes identificadas como mais abundantes, são: Acidobacteria (28%), Alphaproteobacteria (17%), Thermolephilia (10%), Actinobacteria (7%), Ktedonobacteria (5%), Gammaproteobacteria (5%), Planctomycetacia (4%), Betaproteobacteria (4%), Spartobacteria (3%), e Outras (15%) (Figura 11).

Figura 11- Abundância relativa a nível de Classe dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.

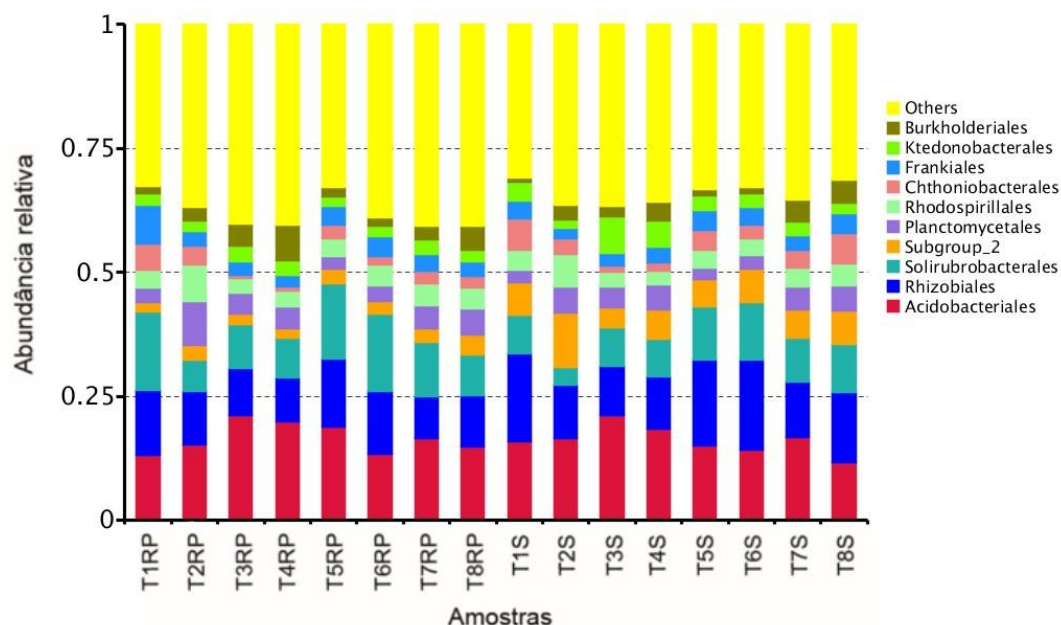


Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferenças em nível de classe na composição da microbiota presente no solo do PNSC. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm.

queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre as 9 classes mais abundantes.

Em nível de Ordem, as nove ordens mais abundantes foram: Acidobacteriales (16%), Rhizobiales (12%), Solirubrobacterales (10%), Planctomycetales (4%), Rhodospirillales (4%), Chthoniobacterales (3%), Frankiales (3%), Ktedonobacterales (3%), Burkholderiales (3%) e Outros (36%) (Figura 12).

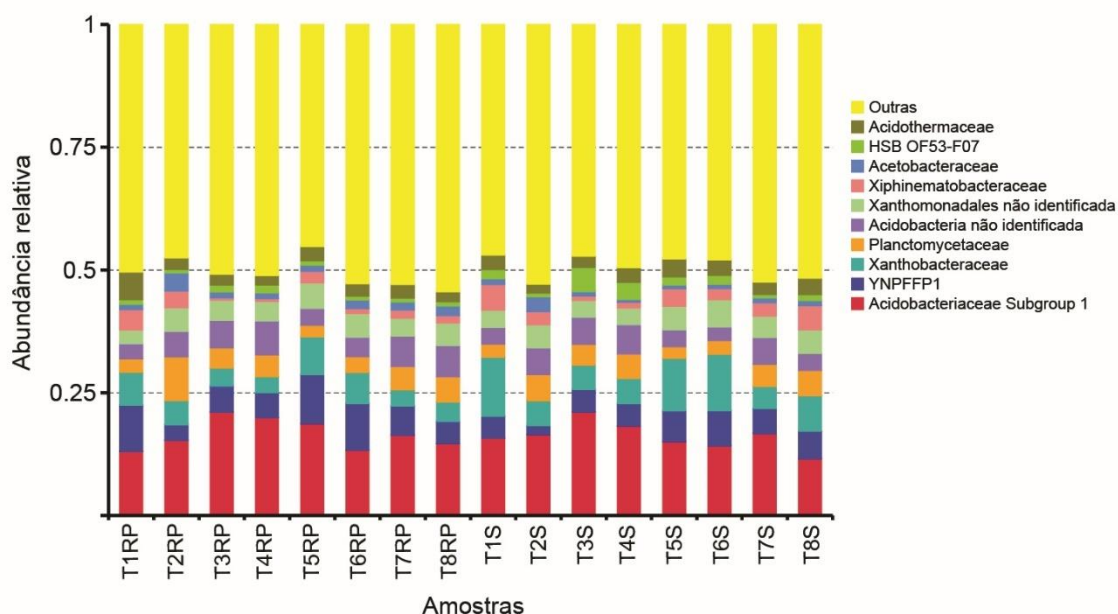
Figura 12- Abundância relativa a nível de Ordem dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.



Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferenças em nível de ordem na composição da microbiota presente no solo do PNSC. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre as 9 ordens mais abundantes.

Realizaram as mesmas análises a nível de Família em que as oito mais abundantes foram Acidobacteriaceae (16%), Xanthobacteraceae (6%), Acidobacteria (5%), Planctomycetaceae (4%), Xanthomonadales (4%), Acidothermaceae (3%), Xiphinematobacteraceae (2%), Acetobacteraceae (1%) e Outras (52%) (Figura 13).

Figura 13- Abundância relativa a nível de Família dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.



Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferenças em nível de família na composição da microbiota presente no solo do PNSC. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre as 9 famílias mais abundantes.

E em nível de gêneros os mais abundantes são *Acidibacter sp.* (4%), *Acidothermus sp.* (3%), *Bryobacter sp.* (3%), *Candidatus Xiphinematobacter sp.* (2%), *Mycobacterium sp.* (2%), *Candidatus Koribacter sp.* (2%), *Bradyrhizobium sp.* (2%), *Burkholderia sp.* (1%), *Isosphaera sp.* (1%), *Telmatobacter sp.* (1%) e Outros (75%) (Figura 9) (Figura 14 e 15).

Figura 14- Abundância relativa a nível de Gêneros dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.

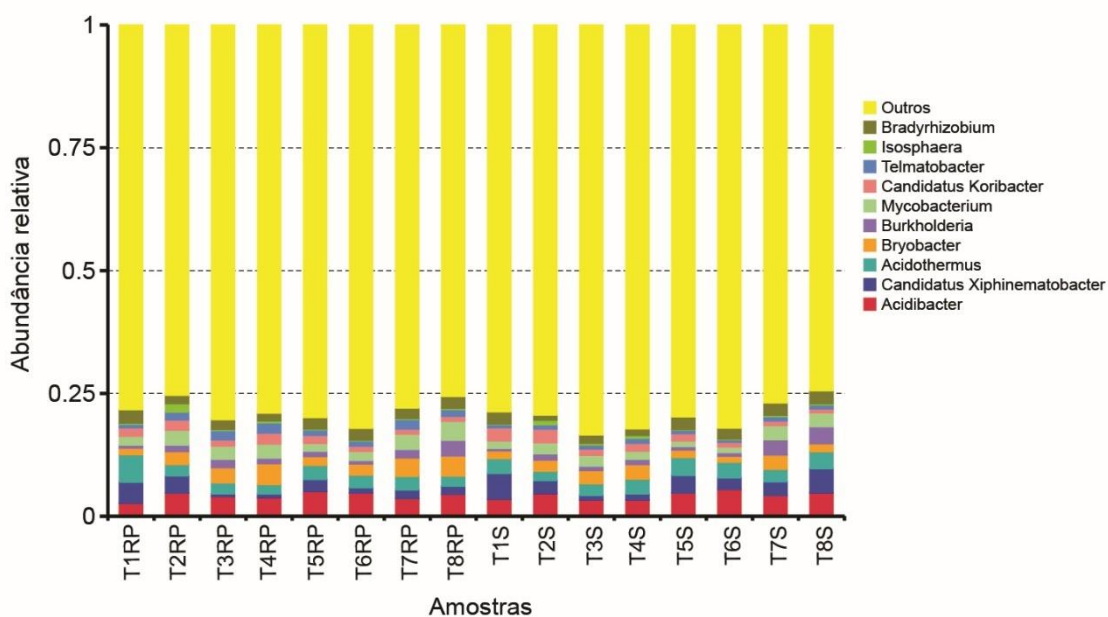
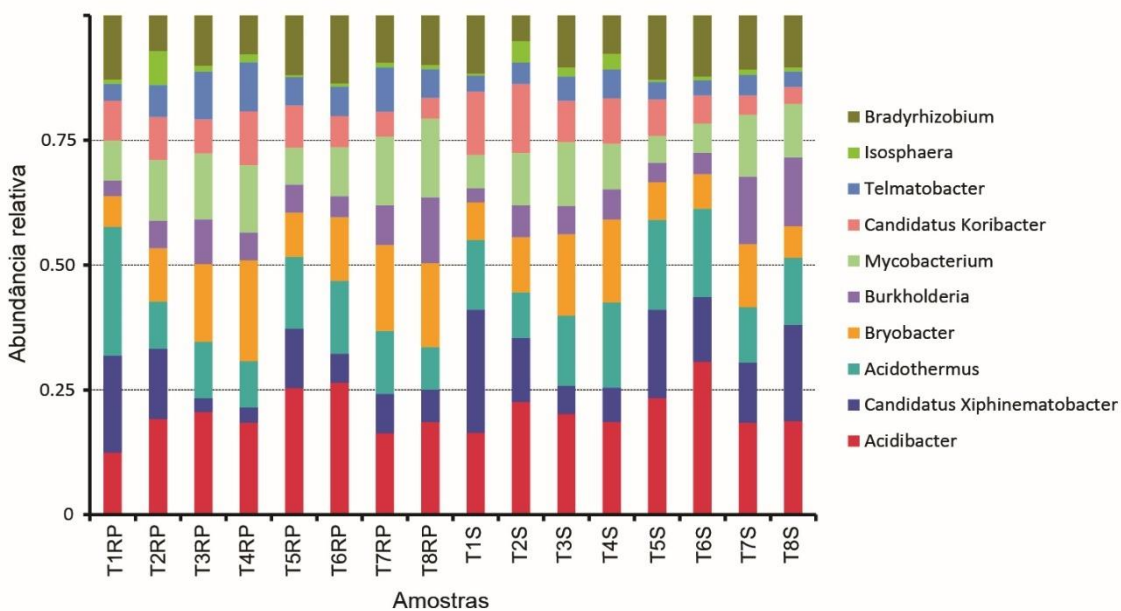


Figura 15- Abundância relativa a nível de Gêneros dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.



Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferenças em nível de gênero na composição da microbiota presente no solo do PNSC. Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min

após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre os dez gêneros mais abundantes.

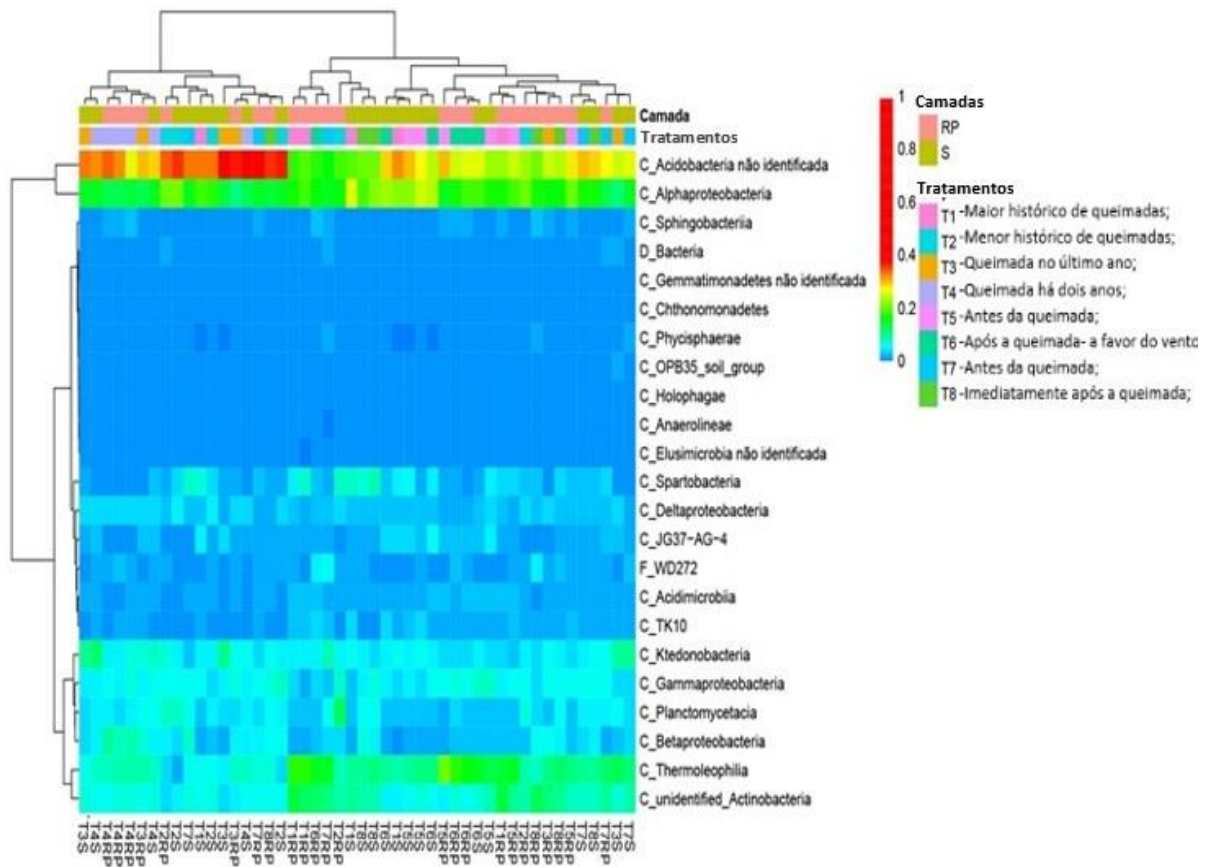
5.2.3.1 Análise de Heatmap

A composição e abundância para níveis de Filo e Classe presente nos tratamentos e suas camadas Rizosfera da planta (RP)(0-10cm) e Solo (S)(10-20cm), foram caracterizadas através de perfis de coloração de um Heatmap onde a intensidade das cores refletem a abundância, conforme a escala de intensidade no canto superior direito. A cor azul expressa menor abundância, e a vermelha, maior. Dessa maneira, na Figura 16 é possível observar que os perfis de intensidade de cor variam de acordo com a abundância dos Filos e Classes nos grupos de amostragem.

Como pode ser visto na parte superior da Figura 16, o Filo Acidobacteria e Classe Acidobacteria apresentam uma abundância superior entre 0,2 a 1 para todas os tratamentos, onde o valor máximo 1 indica maior abundância amostral.

O Filo Proteobacteria e Classe Alphaproteobacteria apresentam uma abundância menor em todas as amostras com intensidade de 0,2. Na parte inferior da Figura 16 pode ser visto o Filo Actinobacteria e a Classe Thermophilia com abundância menor com intensidade de 0,2 para os tratamentos T1 (Maior histórico de queimadas), T5 (Antes da queimada) e T6 (Após a queimada- a favor do vento) sendo mais abundantes na camada RP (0-10cm) dos grupos de amostragem. Ainda na parte inferior da Figura 16, estão o Filo Actinobacteria e Classe indefinida Actinobacteria com abundância menor com intensidade 0,2 para as amostras T6 (Antes da queimada a favor do vento) e T1(Maior histórico de queimadas), sendo mais abundantes na camada RP (0-10cm) dos grupos de amostragem. E os demais Filos e Classes se encontram em menor abundância para os tratamentos T3 (Queimada no último ano queimadas), T4 (Queimada há dois anos) ,T7 (Antes da queimada) e T8 (imediatamen após a queimada) e T2 (Menor histórico de queimadas) e suas camadas RP (0-10cm) e S (10-10cm) com intensidade inferior a 0,2.

Figura 16- Heatmap com abundância a nível de Filos e Classes dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.



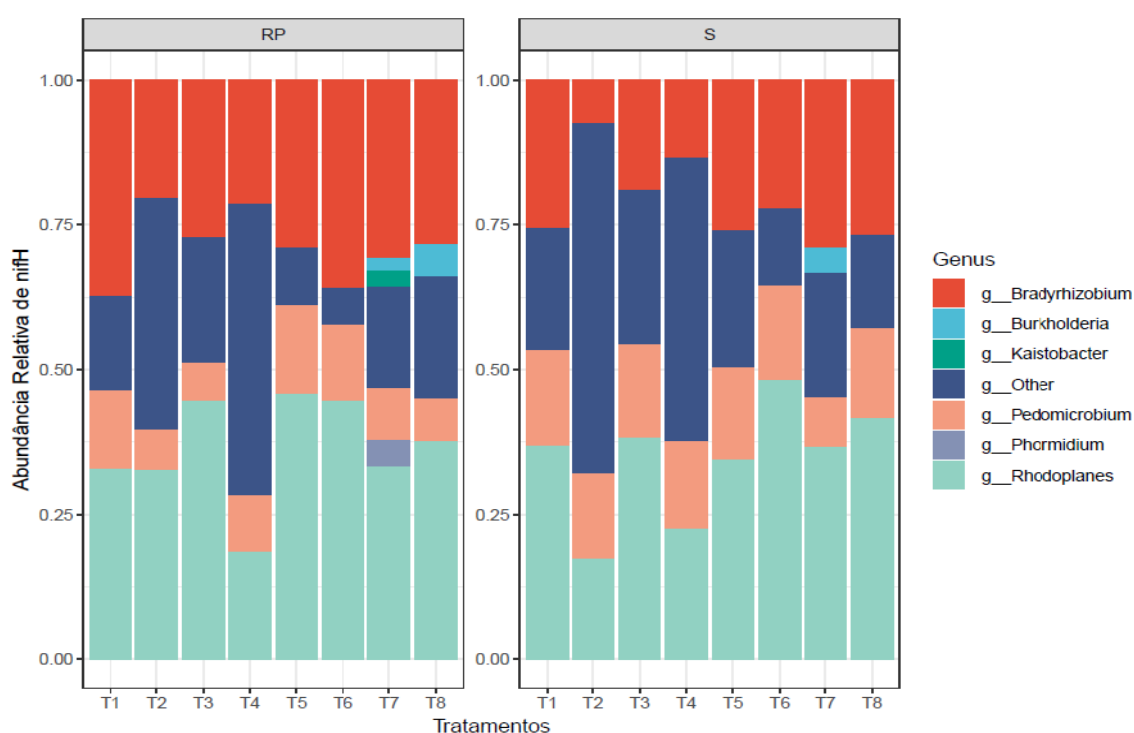
Legenda: *Heatmaps* foram gerados pela análise hierárquica de cluster dos níveis taxonômicos mais prevalentes de Filo e Classe presentes nos tratamentos. A linha superior são as camadas de amostragem RP (0-10cm) e S (10-20cm), e a segunda linha representa os tratamentos: Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. As demais linhas representam a intensidade de abundância dos Filos e Classes nos tratamentos. No canto superior direito mais externo se encontram as legendas de camadas e tratamentos. E a direita mais interna a legenda de intensidade de abundância, onde a cor azul reflete menor abundância e a cor vermelha maior abundância para níveis taxonômicos de Filo e Classe presente nos tratamentos e suas camadas Rizosfera da planta (RP)(0-10cm) e Solo (S)(10-20cm),.

5.2.4 Diversidade funcional

5.2.4.1 Abundância de OTUs que possuem o gene *nifH*

A abundância de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) preditos que possuem o gene *nifH* (K02588) foi menor que 0,001% do total de genes preditos para todas as amostras. A abundância relativa das OTUs classificadas ao nível de gênero que possuem o gene *nifH* está apresentada na Figura 17. Para prever o conteúdo funcional do gene marcador *nifH* (K02588) foi usado o pacote de bioinformática PiCrust e para testar a similaridade de composição da abundância relativa foi realizada uma PERMANOVA, sendo possível identificar através da análise estatística uma diferença significativa na composição das comunidades entre os diferentes tratamentos (PERMANOVA, $F=2.3892$, $R^2=0.25043$ e $P=0,002$) e camadas (PERMANOVA, $F= 5.4973$, $R^2=0.08232$ e $P=0,001$) (Tabela 8)(Figura 18).

Figura 17- Abundância relativa a nível de gêneros de OTUs que possuem o gene *Nitrogenase Redutase (nifH)* dos microrganismos encontrados nas amostras de solo do Parque Nacional da Serra da Canastra.



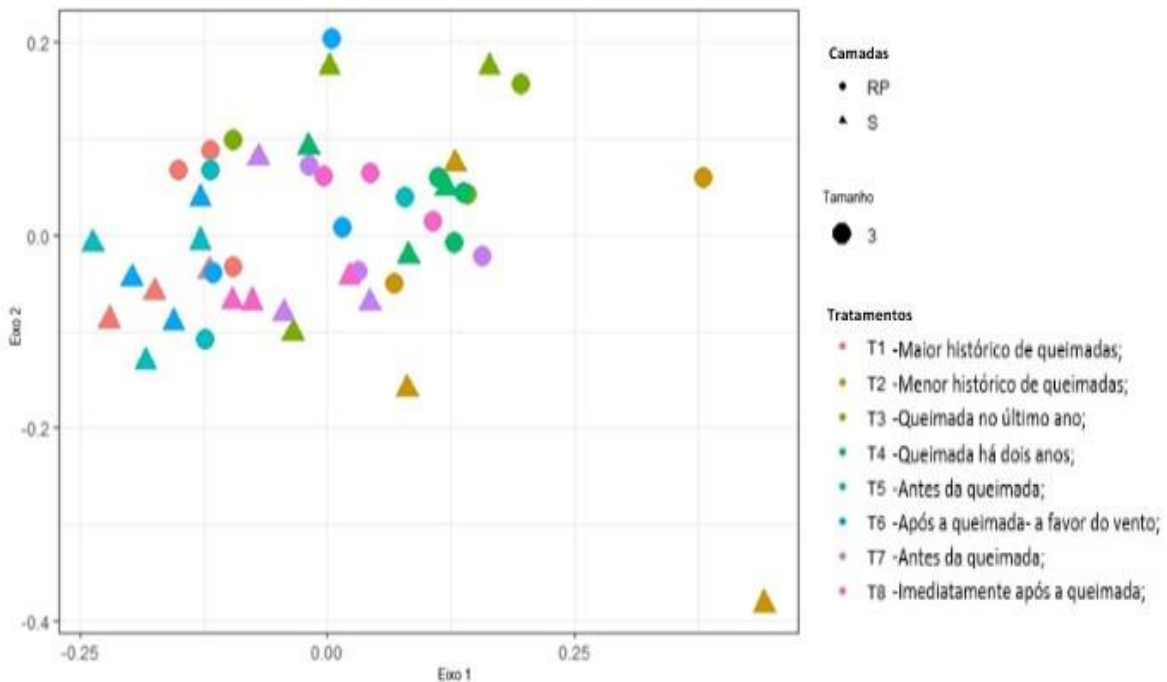
Legenda: Abundância relativa (em percentual -%) diferencas em nível de gêneros na composição da microbiota presente no solo do PNSC que possuem o gene funcional *nifH* (K02588). Obtidos através do rDNA 16S dos tratamentos Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm;

Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm. Os gráficos apresentam a comparação de abundância relativa entre os gêneros mais abundantes, constatando que ambos tratamentos possuem indivíduos com o gene funcional *nifH* (K02588).

Tabela 8- PERMANOVA gene *nifH*

PERMANOVA Gene <i>nifH</i>					
	D	SumOfSqs	R ²	F	P Value
Camadas	1	0.19902	0.08232	5.4973	0.001 ***
Tratamentos	7	0.60547	0.25043	2.3892	0.002 **
Camadas:tratamentos	7	0.45471	0.18807	1.7943	0.024 *
Valor Residual	3	1.15851	0.47918		
	2				
Total	4	2.41771	1.00000		
	7				

Figura 18- PICRUST predição dos gêneros que possuem o gene marcador *nifH* (PERMANOVA).



Legenda: Para a predição de gêneros que possuem o gene marcador *nifH* (K02588) a partir do gene 16S rRNA da microbiota do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra foi utilizado o software PICRUST. Foi identificado correlações estatisticamente significativas quanto a composição das comunidades ($P=0,002$) e camadas ($P=0,001$) entre os diferentes tratamentos : Maior histórico de queimadas (T1RP), camada 0-10cm; Menor histórico de queimadas (T2RP), camada 0-10cm; Queimada no último ano queimadas (T3RP), camada 0-10cm; Queimada há dois anos (T4RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T5RP), camada 0-10cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6RP), camada 0-10cm; Antes da queimada (T7RP), camada 0-10cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8RP), camada 0-10cm; Maior histórico de queimadas (T1S), camada 10-20cm; Menor histórico de queimadas (T2S), camada 10-20cm; Queimada no último ano queimadas (T3S), camada 10-20cm; Queimada há dois anos (T4S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T5S), camada 10-20cm; Após a queimada (a favor do vento – coletada aproximadamente 30-40min após a queimada MIF) (T6S), camada 10-20cm; Antes da queimada (T7S), camada 10-20cm; Imediatamente após a queimada (contra o vento) (MIF) (T8S), camada 10-20cm.

6. DISCUSSÃO

6.1 As propriedades físico-químicas do solo após o fogo e as modificações no perfil das comunidades microbianas

Neste estudo, após o teste de Correlação da função *envfit* do pacote *Vegan* (OKSANEN *et al.*, 2016), *versus* as variáveis físico-químicas com os eixos da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) evidenciou-se que o manejo integrado do fogo não altera a composição dos solos em todas as áreas estudadas, ao qual, dentre todos os parâmetros físico-químicos analisados não houve diferença significativa entre os elementos de todas as áreas estudadas (pH $R^2 = 0,3059$ e $P = 0,390$; K $R^2 = 0,2224$ e $P = 0,518$; Ca $R^2 = 0,0965$ e $P = 0,755$; Mg $R^2 = 0,1130$ e $P = 0,745$; Al $R^2 = 0,2131$ e $P = 0,519$; Cu $R^2 = 0,3977$ e $P = 0,308$; Fe $R^2 = 0,6411$ e $P = 0,129$; S $R^2 = 0,3473$ e $P = 0,321$) (Figura 4) (Tabela 3), que está de acordo com estudos previamente realizados em biomas semelhantes dessa Unidade de Conservação (UC) (MOREIRA, 2000; BELMOK, 2019). Apesar de alterações de curto prazo na disponibilidade de nutrientes no solo após os incêndios terem sido descritos (COUTINHO, 1990; KAUFFMAN *et al.*, 1994), os solos do Cerrado são muito resilientes (COUTINHO, 1990).

A ordenação das bibliotecas com base nos atributos do solo por análise de componentes principais (PCA), indica os agrupamentos que as unidades fisiográficas formam de acordo com as suas propriedades químicas do solo, porém, não indicam uma influência significativa sobre a variação das características químicas sobre o agrupamento da comunidade microbiana nas áreas estudadas (Figura 5 e Figura 6).

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que as propriedades físico-químicas após o manejo integrado do fogo não resultam em modificações no perfil das comunidades microbianas. No entanto, algumas espécies microbianas podem ser sensíveis a altas temperaturas ocasionando mudanças nas características ecológicas (ausência ou presença) de determinados táxons (ADACHI *et al.*, 2006; SNAJDR *et al.*, 2008; SILVA, *et al.*, 2010; HELINGEROVÁ *et al.*, 2010).

Embora, as análises moleculares desse trabalho não tenham apresentado alteração na riqueza das comunidades das diferentes áreas estudadas com tempos distintos de queimadas, o fogo pode ter um impacto acentuado na umidade, temperatura e pH do solo, resultando em mudanças na estrutura da comunidade microbiana metabolicamente ativa. Incêndios com maior intensidade podem diminuir a cobertura do dossel, aumentando a

quantidade de radiação solar na superfície do solo (HART *et al.*, 2005). Além disso, o fogo em um ecossistema florestal resulta na deposição de cinzas e carvão na superfície do solo, diminuindo o albedo, ocasionando o aumento da entrada radiativa solar, resultando a um aumento no aquecimento do solo, o que pode afetar as propriedades biológicas dos solos devido ao limiar para os organismos vivos estarem perto de 100 °C (HAMMAN *et al.*, 2007;).

O teor de água também pode desempenhar um papel no horizonte "O" durante os eventos de incêndio, produzindo calor úmido, efetivamente imitando a “pasteurização”, levando a maior mortalidade microbiana (HART *et al.*, 2005). As comunidades abaixo do solo são resilientes a incêndios de baixa intensidade; no entanto, incêndios mais intensos podem resultar em uma diminuição inicial na biomassa microbiana total (DOOLEY ; TRESEDER, 2011). Imediatamente após um evento de incêndio, a ciclagem biogeoquímica em alguns sistemas pode acelerar. Isso é mediado pelo aumento da biomassa microbiana, atividade e mudanças na estrutura da comunidade bacteriana (GOBERNA *et al.*, 2012). Em um trabalho similar, Goberna *et al.* (2012), utilizando regiões 16S e 18S de rRNA e eletroforese em gel de gradiente desnaturante correlacionaram o fogo com mudanças composicionais de curto prazo nas comunidades bacterianas. Eles mostraram que espécies capazes de formar estruturas resistentes ao calor, como endósporos (bactérias), se recuperaram rapidamente após o incêndio. Dessa forma, podemos sugerir que as comunidades microbianas do solo do PNSC podem ter sofrido uma seleção natural devido aos históricos de queimadas no PNSC ao longo dos anos, se tornando resilientes ao fator fogo.

6.2 Os diferentes históricos de queimadas no PNSC e os efeitos na diversidade e composição da microbiota do solo

Os índices de diversidade CHAO1 variaram de 1.824 a 2.681, e ACE variou de 1.754 a 2.586, Simpson variou de 0.984 a 0.994 (Tabela 5), estes resultados indicam um valor de similaridade entre todas as áreas estudadas (Tabela 5). No entanto, a diversidade pode ter algumas variações em seus índices de espécies raras como mostra um declínio do índice de Shannon variando entre 7.892 a 8.860 (Tabela 5). Estes resultados entram em consonância com trabalhos similares realizados no cerrado, como o de Rachid *et al.* (2013) em que foi comparada a diversidade de comunidades microbianas em tratamentos de cana com queimada e cana verde, com o trabalho de Belmok *et al.* (2019) no qual

analisaram os efeitos a longo prazo de incêndios periódicos em comunidades de Archaeas em solos do cerrado. Em ambos estudos os autores não encontraram diferenças para os estimadores de diversidade de Chao1, Ace e Simpson entre os tratamentos.

Entretanto, para se testar a correlação de riqueza das espécies entre os tratamentos Antes da queimada (T5 e T7) e Após a queimada (T6, T8) e suas camadas (RP 0-10cm e S 10-20cm) foi realizado o Teste -T Pareado, sendo possível identificar valores não significativos para correlações entre as áreas T5RP x T5S ($p = 0.60$); T7RP x T7S ($p = 0.18$); T8RP x T8S ($p = 0.46$); T5RP x T6RP ($p = 0.26$); T5S x T6S ($p = 0.51$); T7RP x T8RP ($p = 0.61$); T7S x T8S ($p = 0.90$) apresentando diferença significativa para a área T6 (após o fogo a favor do vento) entre suas camadas RP (0-10) e S (10-20) Test - T Pareado T6RP x T6S ($p = 0.045$) (Figura 7).

O que pode explicar essa tendência à similaridade entre as comunidades microbianas do solo de Cerrado é o fato que distintos biomas abrigam comunidades bacterianas similares, podendo esta variação ser em grande parte explicada pelos valores de pH dos solos (Bachar *et al.* 2010). A diversidade, abundância e atividade dos microrganismos dependem essencialmente de fatores ambientais fundamentais (nutrientes, temperatura, pH, umidade, etc..), a proporção de recursos que um organismo necessita (por exemplo, a estequiometria dos nutrientes da biomassa) é uma característica funcional importante que determina como o desempenho das espécies varia com a disponibilidade de recursos e excreção de nutrientes (MORRIS *et al.*, 2015).

Portanto, quando o solo sofre impactos que alteram esses fatores ambientais fundamentais reflete na tolerância de grupos taxonômicos à variação nas condições ambientais, sendo essencial na determinação da estrutura e funcionamento de comunidades (KRASHEVSKA *et al.*, 2012), além disso, todos os organismos possuem algum grau de fenotípico ou traço de plasticidade, ou capacidade de alterar sua forma ou fisiologia para se ajustar ao ambiente (MORRIS *et al.*, 2015).

Em microrganismos, uma mudança em uma condição ambiental pode induzir à expressão de fenótipos alternativos (por exemplo, proteínas, fosfolipídios) que são adaptados às novas condições, ampliando a gama de condições aceitáveis para a espécie. Isto pode ser particularmente importante no solo, onde há um grande grau de heterogeneidade espacial e temporal (ETTEMA & WARDLE, 2002).

Em relação à composição filogenética das amostras, foi utilizado um *Heatmap* (com análises de agrupamento), baseado na abundância total dos níveis taxonômicos, mostrando, portanto, a abundância das OTUs nos níveis taxonômicos de Filo e Classe

(Figura 16). A análise de *Heatmap* possui grande relevância, por permitir a observação dos perfis taxonômicos das amostras, sendo reveladas variações de abundância (peso) dos níveis taxonômicos de Filo e Classe entre as amostras. Para o Filo Acidobacteria e Classe Acidobacteria, observa-se uma tendência de dominância pois, apresentam uma abundância superior entre 0,2 a 1 que representam os maiores índices de intensidade de abundância do *Heatmap*, sendo também possível observar que os Filos Proteobacteria e Actinobacteria e as Classes Alphaproteobacteria e Thermophilia também se expressam com uma maior frequência de abundância em todas as áreas estudadas. Segundo pesquisas realizadas por Jonas *et. al.*, (2009) e Percentet *et. al.*, (2008) o que pode explicar a tendência de dominância do filo Acidobacteria em diferentes tipos de solo são as diferenças de pH e por exibirem taxas metabólicas lentas sob condições de baixo teor de nutrientes.

A gestão do fogo (incidência de queimadas) no solo do PNSC sugere que as comunidades microbianas das áreas estudadas da UC, sofreram uma influência de adaptação natural significativa nas comunidades microbianas existentes, o que pode ser explicada através da variabilidade de recursos espaciais (propriedades físico-químicas e biológicas) e temporais (mapeamento das queimadas no decorrer do tempo) ocasionando um crescimento limitado em diferentes tempos e lugares. Como um traço de espécie só pode ser ótimo sob um determinado conjunto de condições, espécies que são concorrentes superiores para um recurso normalmente não são tão competitivas para outros, dessa forma, o número de espécies semelhantes que podem coexistir em um habitat deve ser igual ao número de recursos potencialmente limitantes usados naquele habitat (MORRIS *et al.*, 2015).

Os microrganismos se proliferam em resposta ao tipo de solo, espécies de plantas, ecossistema e uso da terra, influenciando grandemente a composição da comunidade microbiana do solo. (BERG & SMALLA, 2009; LUNDBERG *et al.*, 2012). Segundo Morris *et al.* (2015), a estabilidade do ecossistema é uma propriedade decorrente da composição da comunidade e da função do ecossistema, dessa forma quando um sistema não muda sensivelmente após uma perturbação é considerado resistente, e um sistema que muda, mas retorna ao seu estado de pré-perturbação dentro de um prazo razoável, é dito ser resiliente. O grau em que os ecossistemas são resistentes ou resilientes pode depender inteiramente da biodiversidade e da quantidade de estresse atualmente no sistema (SHADE *et al.*, 2012).

Diante do exposto, pode-se sugerir que as comunidades microbianas se adaptaram ao fator fogo devido ao histórico de anos de queimadas recorrentes no PNSC no decorrer de sua existência, entrando em consonância com um trabalho similar em que Moura (2007), que também observou muitas semelhanças entre a distribuição das comunidades microbianas, inferindo-se que o grupo bacteriano presente nas parcelas estudadas apresentava resiliência ao fator fogo. Neste caso, a ação do fogo, poderia ter acarretado a seleção de alguns grupos microbianos que em geral, se mostram mais competitivos pelos nutrientes disponibilizados, ou também o favorecimento de outros microrganismos mais estáveis que vivem no mesmo perfil do solo (MOURA, 2007).

Dessa forma, pode-se observar a formação de agrupamentos similares pela Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (Figura 8). Para testar o significado de agrupamentos, os testes Bray- Curtis e PERMANOVA foram utilizados. Ambos os testes mostraram diferenças significativas quando todos os tratamentos foram analisados mostrando que amostras de um mesmo grupo apresentam maior similaridade entre si (PERMANOVA, $F=5.754$, $R^2=0.461$ e $P=0,001$) e camadas (PERMANOVA, $F=7.339$, $R^2=0.084$ e $P=0,001$).

Assim sendo, a análise Bray- Curtis, sugere que o histórico de fogo nas amostras analisadas não causa efeito na composição e diversidade da comunidade microbiana uma vez que comparadas às áreas estudadas foi possível observar que a área com maior histórico de queimadas (T1) se mostra similar a área antes da queimada (T5) (sem influência de queimadas por dois anos); da mesma forma, também se mostra similar a área após a queimada (T6) (a favor do vento), formando um agrupamento mais próximo. Além disso, as áreas queimadas há um ano (T3) e há dois anos (T4) também formam grupos mais próximos entre si.

No entanto, a área antes da queimada (T7) (sem influência de queimadas por dois anos) se mostra com uma pequena dissimilaridade da área após a queimada (T8) (contra o vento) sugerindo que essa diferença possa ter ocorrido devido às diferentes influências do fator vento, fatores de composição do solo e até pela deposição de nutrientes no solo após a queimada, formando agrupamentos mais dispersos entre si e das demais áreas, a área (T2) Menor histórico de queimadas encontra-se mais isolada, no canto superior do gráfico, sugerindo uma diferença de riqueza na sua composição amostral. Essa área não tem influências de ocorrências de queimadas, uma vez que se trata da nascente do Rio São Francisco o que sugere que a comunidade microbiana de tal área se difere das demais áreas na diversidade de suas espécies raras.

Entretanto, diferente das análises utilizando o Bray Curtis nas análises de coordenadas principais (PcoA) Unifrac leva-se em conta as correlações filogenéticas, no entanto não foi possível observar separações evidentes. Os grupos T1 (Maior histórico de queimadas), T5 (Antes da queimada) e T6 (Após a queimada- a favor do vento) continuam próximos. Os demais tratamentos T3 (Queimada no último ano), T4 (Queimada há dois anos), T7 (Antes da queimada) e T8 (imediatamente após a queimada) estão dispersos no gráfico e o grupo T2 (Menor histórico de queimadas) não se encontra isolado. As amostras de um mesmo grupo continuam próximas. Mas pode-se observar a separação entre as camadas RP (0-10cm) e S (10-20cm) na parte inferior e superior, respectivamente (Figura 9).

No que diz respeito à composição filogenética das áreas estudadas, foi calculada a abundância relativa em níveis de Filo (97%), Classe (86%), Ordem (64%), Família (50%) e Gênero (21%) (Tabela 7). Vale ressaltar que o valor da abundância relativa (calculada) é uma proporção do total de OTUs de sequências (em %), e não da abundância microbiana real (QUADROS, 2013). Estudos sobre ecologia microbiana vêm trazendo como foco, discussões sobre a classificação taxonômica dos microrganismos através da técnica de metagenômica com 97% de similaridade do gene RNAr 16S (FRASER *et al.*, 2009).

Diversos estudos evidenciam que os solos apresentam uma estruturação das comunidades microbianas com determinada similaridade se analisados em um elevado nível taxonômico (TRINGE *et al.*, 2005; JANSSEN, 2006; PHILIPPOT *et al.*, 2013), ou seja, composta de um *core* microbiano encontrado na grande maioria dos solos.

Nos solos das áreas estudadas, encontra-se em maior abundância relativa os membros dos principais filos bacterianos (Acidobacteria (29%), Proteobacteria (28%), Actinobacteria (19%) (Figura 10)). Esses três filos, de acordo com Bachar *et al.* (2010) estão presentes nos solos dos maiores biomas da Terra. Também foram encontrados em maior abundância os filos Chloroflexi (10%), Planctomycetes (6%), Verrucomicrobia (5%), e Bacteroidetes (1%). De acordo com Youssef & Elshahed (2009), os filos Planctomycetes, Chloroflexi e Verrucomicrobia estão entre os filos bacterianos dominantes em vários tipos de solos no planeta, como: solos de florestas, terras agrícolas, pastos, cerrados, dentre outros. Apesar de contraditório, distintos biomas abrigam comunidades bacterianas similares, podendo esta variação ser em grande parte explicada pelos valores de pH dos solos (BACHAR *et al.* 2010). Estes dados estão de acordo com outros estudos que também encontraram esses filos como os mais abundantes nos solos

(ROESCH *et al.*, 2007; QUIRINO *et al.*, 2009; UROZ *et al.*, 2010; ACOSTA-MARTÍNEZ *et al.*, 2010; ARAUJO *et al.*, 2012; RACHID *et al.*, 2013).

No entanto, a predominância de Acidobacteria em comparação com os outros filos não foi observada em grande parte dos estudos em solos, com exceção de outras pesquisas de solos do Cerrado (QUIRINO *et al.*, 2009; WARD *et al.*, 2009; RACHID *et al.*, 2013) que encontraram Acidobacteria como o grupo mais dominante. Segundo Jones *et al.* (2009), a frequência de Acidobacteria varia de 2,4% a 78,5% em diferentes solos, devido, principalmente, a diferenças de pH, dessa forma solos ácidos apresentam o grupo Acidobactérias como os mais abundantes.

Embora as Acidobacterias sejam abundantes, pouco se sabe sobre as características fisiológicas e ecológicas das diferentes subdivisões, uma vez que a maioria não é cultivada em laboratório e conhecida apenas pelas sequências do gene 16S rRNA (QUAISER *et al.*, 2003). A abundância deste filo indica que estes organismos podem ser componentes importantes das comunidades microbianas do solo, embora mais experimentos para mostrar que eles são ativos precisam ser realizados (ARAÚJO *et al.*, 2012).

Em um estudo conduzido por Ward *et al.*, (2009) em que compararam os genomas completos de três cepas de Acidobacteria evidenciaram que as células desses isolados são heterotróficas versáteis, ou seja, exibem taxas metabólicas lentas sob condições de baixo teor de nutrientes e toleraram as flutuações na hidratação do solo. Essa tolerância a solos distróficos e mudanças na umidade do solo sugerem que a porcentagem de Acidobacteria em solos de Cerrado pode ser um fator importante para adaptação a variações sazonais típicas desses ambientes (WARD *et al.*, 2009). Em nosso estudo, o filo Acidobacteria foi totalmente dominado pela classe Acidobacteria, representando 28% das classes identificadas (Figura 13).

O filo Proteobacteria é o maior e mais diverso grupo de bactérias, sendo extremamente heterogêneo morfológicamente e metabolicamente, sendo subdividido em 5 grupos: Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria e Gammaproteobacteria (MOREIRA, 2013). Os seus representantes são comumente encontrados em solos cultivados e são de grande importância no ciclo global do nitrogênio (Alphaproteobacteria principalmente) e no ciclo do enxofre (Deltaproteobacteria) (NUSSLEIN; TIEDJE, 1999). Segundo Mariano *et al.* (2004), considera-se as bactérias que compõem este filo como promotoras do crescimento vegetal. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte da

população residente das plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas (MOREIRA, 2013). Podem ser utilizadas para tratamento de sementes, mudas, incorporadas ao substrato de plantio, tratamento de estacas, tubérculos e raízes, pulverizações na parte aérea incluindo folhagem e frutos (MARIANO *et al.*, 2004). Nesse estudo, o filo Proteobacteria foi dominado pela classe Alphaproteobacteria, representando 17%, enquanto as classes Gammaproteobacteria e Betaproteobacteria foram encontradas em baixas frequências (Figura 11). Esses dados estão de acordo com o estudo de Rachid *et al.*, (2013).

O filo *Actinobacteria* foi dominado pela classe Thermolephilia representando 10%, seguido da classe Actinobacteria com 7% de abundância relativa (Figura 11). Esse filo é composto por bactérias Gram-positivas, com alto conteúdo de citosina e guanina (C+G) (VENTURA *et al.*, 2007). São degradadoras da matéria orgânica como celulose, lignina e quitina, gerando biomassa proteica ou mesmo servindo como alimento para outros organismos (GAVA *et al.*, 2002). Neste grupo também são encontrados representantes que realizam o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico e patógenos de plantas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

No presente trabalho, um baixo número de sequências foi classificado em nível de gênero (21%) (Figura 14 e Figura 15). Os gêneros mais abundantes foram *Acidibacter sp.* (4%), *Acidothermus sp.* (3%), *Bryobacter sp.* (3%), *Candidatus xiphinematobacter sp.* (2%), *Mycobacterium sp.* (2%), *Candidatus koribacter sp.* (2%), *Bradyrhizobium sp.* (2%), *Burkholderia sp.* (1%), *Isosphaera sp.* (1%), *Telmatobacter sp.* (1%) e Outros (75%). A maioria dos gêneros encontrados pertencem aos Filos mais abundantes identificados nesse estudo: Acidobacteria (29%), Proteobacteria (28%), Actinobacteria (19%).

Em seu trabalho Rodríguez (2015) também relata a presença do gênero *Acidibacter sp.* como mais abundante no solo, e indaga que bactérias desse grupo podem ser capazes de realizar a redução dissimilatória do ferro férrico em condições microaeróbicas e também sob condições anaeróbicas.

6.3 Mudanças na composição do solo após o fogo, e as alterações em traços funcionais da comunidade microbiana relacionados à qualidade do solo

Neste estudo, evidenciou-se que o manejo integrado do fogo pode causar mudanças na composição das comunidades bacterianas (dominância, ausência ou inativação de alguns grupos) do solo de Cerrado do PNSC, no entanto, não causa mudanças em traços funcionais da comunidade microbiana relacionada a qualidade do solo. O que pode explicar que o fator fogo não tenha efeitos drásticos na microbiota do solo é que no Cerrado, o tempo de permanência da frente de incêndio é curto e as mudanças na temperatura do solo são pequenas porque o combustível que se acumula é a gramínea (MIRANDA *et al.*, 1993).

Microrganismos são sensíveis a mudanças ambientais, assim, mudanças na atividade microbiana, na estrutura e função de comunidades podem servir como indicador de impactos antropogênicos e prever o sucesso de planos de recuperação ou manejos de ambientes degradados (ZILLI *et al.*, 2003; WINDING; HUND-RINKEB; RUTGERSC, 2005).

De acordo com Hughes *et al.* (2001), investigações sobre a comunidade bacteriana requerem um grande número de amostras para que seja refletida a “real” diversidade da comunidade em estudo. Estimativas precisas requerem amostragens de aproximadamente 80% de similaridade as quais podem ser impraticáveis devido ao elevado número de microrganismos presentes no ambiente (GANS *et al.*, 2005). Entretanto, a análise de um grupo específico de bactérias, como as bactérias fixadoras de nitrogênio, pode ser consideravelmente facilitada, pois é restrito o número de espécies capazes de fixar nitrogênio (FREITAS ; RODRIGUES, 2010).

Dessa forma, neste estudo foi analisado como grupo chave de bioindicadores de resiliência do solo as bactérias fixadoras de nitrogênio que possuem o gene marcador *nifH* (K02588). Através do programa PICRUSt (phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states) cria-se uma predição da abundância de famílias gênicas a partir de marcadores filogenéticos (LANGILLE *et al.*, 2013). Ele pré contabiliza o número de cópias do 16S rDNA de acordo com os táxons descritos no HMP e ajusta a abundância taxonômica presente nas amostras analisadas de acordo com esse catálogo pré-estabelecido (LANGILLE *et al.*, 2013). A partir das classificações, PICRUSt retorna apenas as funções previamente anotadas para os correspondentes genomas completos que estão depositados em bancos de dados públicos (RABELO, 2016).

A biodiversidade desses microrganismos refere-se tanto ao número (riqueza) de diferentes categorias biológicas (ou unidades taxonômicas) quanto à abundância relativa

(equitabilidade) dessas categorias, desse modo inclui, a totalidade dos recursos vivos, ou biológicos, e os recursos genéticos, e seus componentes (FREITAS & RODRIGUES, 2010). Para a compreensão da biodiversidade das comunidades bacterianas, é necessária a identificação e classificação taxonômica das distintas populações microbianas. Por meio da técnica microbioma do rRNA 16S e a partir do programa PICRUST constatou-se que a abundância de OTUs preditos que possuem o gene *nifH* (K02588) foi menor de 0,001% do total de genes preditos para todas as amostras estudadas, sendo classificada a abundância relativa, em nível de gênero, que possui o gene *nifH* (K02588): *Bradyrhizobium sp.*, *Burkholderia sp.*, *Kaistobacteria sp.*, *Pedomicrobium sp.*, *Phormidium sp.*, *Rhodoplanes sp.* (Figura 17).

Pôde-se observar que, nas amostras estudadas, os gêneros que possuem o gene *nifH* (K02588) são encontrados em todas as áreas, inclusive nas camadas do solo (0-10cm) e (10-20cm), exceto na área antes da queimada (RP7), que apresenta como grupos diferenciados (raros) das demais áreas estudadas os gêneros *Burkholderia sp.*, *Kaistobacteria sp.* e *Phormidium sp.*. No entanto observamos que após a queimada contra o vento (TRP8) houve ausência ou inativação dos gêneros *Kaistobacteria sp.* e *Phormidium sp.* o que sugere que tais gêneros são sensíveis ao fator fogo. Já o gênero *Burkholderia sp.*, apresentou um aumento de abundância sugerindo um aumento de competição devido à deposição de nutrientes. Na camada do solo de 10-20 pôde-se notar na área antes da queimada (TS7) uma predominância do gênero *Burkholderia sp.* em relação aos grupos raros na mesma área na camada do solo de 0-10cm.

Embora ocorra ausência dos gêneros *Kaistobacteria sp.* e *Phormidium sp.*, pode-se dizer que o fator fogo pode não interferir na funcionalidade da comunidade microbiana fixadora de nitrogênio no solo, pois, podemos observar que embora possa ocorrer diminuição ou ausência de certos grupos após a passagem do fogo as comunidades microbianas apresentam um equilíbrio, mostrando aumento de um grupo quando outro diminui (dominância) o que não causa extinção dos grupos fixadores de nitrogênio, desse modo não comprometendo a qualidade do solo.

Os resultados observados nesse trabalho diferem do trabalho realizado por Rachid *et al.*, (2013) em Cerrado, onde os autores observaram um impacto negativo em bioindicadores microbianos no manejo da cana queimada comparado ao manejo da cana verde. Além da biomassa, há registros de que a composição da comunidade bacteriana também pode ser alterada com o aumento de nutrientes nitrogenados no solo em função da passagem do fogo (RODRIGUES, 2012). Um estudo em floresta de Pinus no Novo

México mostrou que, um mês após o fogo, valores de pH e da concentração de N-NO_3 foram maiores nos plots queimados e, através da técnica de T-RFLP, observou aumento na diversidade de bactérias nitrificadoras nas áreas queimadas e alteração na dominância de grupos bacterianos, indicando que queimadas podem alterar a composição e a abundância relativa de taxa em comunidades de bactérias do solo (YEAGER *et al.*, 2005).

Contudo, embora as queimadas possam alterar a composição das comunidades microbianas do solo, não afetam os traços funcionais destas, uma vez que a ação do fogo, poderia ter acarretado a seleção de alguns grupos microbianos que em geral, se mostram mais competitivos pelos nutrientes disponibilizados, ou talvez, o favorecimento de outros microrganismos mais estáveis que vivem no mesmo perfil do solo que tendem a entrar em equilíbrio após estresses sofridos (MOURA, 2007).

Neste trabalho, em relação as bactérias fixadoras de nitrogênio ocorreu uma variação na dominância e abundância relativa de grupos bacterianos que possuem o gene *nifH* (K02588) após a passagem do fogo. Porém não evidencia que houve influência na funcionalidade dessas bactérias no ciclo do nitrogênio. No entanto, para testar a similaridade de composição da abundância relativa em nível de gênero que possuem o gene *nifH* (K02588) foi realizado uma PERMANOVA, sendo possível identificar através da análise estatística uma diferença significativa na composição das comunidades entre os diferentes grupos (PERMANOVA, $F=2.3892$, $R^2=0.25043$ e $P=0,002$) e camadas (PERMANOVA, $F= 5.4973$, $R^2=0.08232$ e $P=0,001$) (Figura 18) .

Dessa forma, o fator fogo para as áreas estudadas, de maneira geral, pode ser considerado uma variável secundária e de menor impacto, não interferindo na composição das espécies.

7. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam que as técnicas de Manejo Integrado do fogo para áreas de fitofisionomias de cerrado de campo limpo são eficazes, não ocasionando impactos significativos na composição físico-química e na microbiota do solo, dessa forma, garantindo a qualidade do solo.

Além de ter um impacto benéfico na prevenção dos incêndios florestais, a técnica permitirá que fitofisionomias de Cerrado mais densas sejam protegidas evitando incêndios de grandes proporções, dessa forma, no Manejo Integrado do Fogo, os aceiros

são realizados em zigue-zague em áreas estratégicas servindo de barreiras contra possíveis incêndios.

Mais do que a apresentação de resultados e informações comprobatórias as questões levantadas e os objetivos de investigação neste trabalho, podem ser vistos como uma contribuição para utilização de técnicas de fogo controlado em áreas com fitofisionomias similares às áreas estudadas de Cerrado do Parque Nacional da Serra da Canastra. Uma vez que os históricos de queimadas das áreas estudadas com tempos distintos de queimadas de 1 ano, 2 anos, maior histórico de queimadas e menor histórico de queimadas não demonstraram modificações na composição e diversidade das comunidades bacterianas do solo do PNSC.

Assim como as amostras das áreas estudadas da ação do manejo integrado do fogo retiradas antes e após a passagem do fogo também não demonstraram mudanças na comunidade e diversidade bacteriana, dessa forma sugere-se que a estratégia do Plano de Manejo Integrado do Fogo executado no PNSC pode ser adotado em outras Unidades de conservação, uma vez que, o presente estudo através da técnica de microbioma mostrou que a composição da microbiota do solo em relação as áreas com históricos distintos de queimadas e antes e após o MIF continuaram similares, dessa forma cabe ressaltar a eficiência da técnica de Manejo integrado do fogo uma vez que se garante a qualidade do solo não ocasionando impactos significativos na comunidade microbiana e não altera significativamente as propriedades físico-químicas, além de ser crucial para a prevenção de incêndios florestais acidentais ou criminosos e preservação de biodiversidade.

Por fim, dentre as contribuições científicas deste estudo realizado através da técnica de microbioma, pôde-se destacar a descrição das comunidades bacterianas do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra o que permitiu traçar as correlações ecológicas entre as propriedades físico-químicas e comunidades bacterianas do solo em relação a variável fogo.

Além disso, o presente trabalho é precursor na caracterização da comunidade microbiana do solo do Parque Nacional da Serra da Canastra, sendo de extrema importância por se tratar de um trabalho de ciência básica que tem por finalidade fornecer dados de características ecológicas, táxons, riqueza e composição de espécies, servindo de base para estudos posteriores sobre as populações bacterianas de solos do Cerrado, assim como ser somado aos dados de base para preservação de áreas nativas, Unidades de Conservação e recuperação de habitats degradados.

No entanto, são necessários mais estudos sobre o real impacto do fogo na microbiota do solo de Cerrado, uma vez que a técnica de microbioma não permite visualizar os grupos de microrganismos metabolicamente ativos, além de nos deparar com os diferentes tipos de solo no bioma Cerrado, o que dificulta nossa comparação.

Como sugestão de estudos futuros com os dados base obtidos através do presente estudo, sugere-se:

- Inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio para avaliação das taxas de abundância antes e após a queimadas, e após tempos distintos de queimadas (um mês , quatro meses, oito meses e um ano) a fim de se obter um parâmetro real da abundância de bactérias metabolicamente ativas após a ocorrência de queimadas estabelecendo-se uma taxa de reestabelecimento da microbiota do solo.
- Propor meios de cultivo dos grupos bacterianos identificados como fixadores de N para utilização na preparação do solo para restauração de áreas degradadas;
- Propor meios de cultivo de grupos de bactérias provedoras de crescimento de plantas (BPCP) para utilização no tratamento de sementes e produção de mudas.
- Isolamento de Actinobacterias para avaliar o potencial biotecnológico desse grupo de bactérias como degradadoras de matéria orgânica ,celulose, lignina e quitina.
- Prospecção e análise de grupos bacterianos com potencial para degradação de agrotóxicos.
- Prospecção e análise de grupos bacterianos com potencial de biomineralização para recuperação de áreas submedidas a processos erosivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ V, DOWD SE, SUN Y, WESTER D, ALLEN V. **Pyrosequencing analysis for characterization of soil bacterial populations as affected by an integrated livestock-cotton production system.** *Applied Soil Ecology* 45: 13–25, 2010.
- ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P.; CARDOSO, E.J. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo.** Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.4, p.43-84., 2005.
- ARAÚJO, E. A.; RIBEIRO, G. A. **Impactos do fogo sobre a entomofauna do solo em ecossistemas florestais.** *Natureza & Desenvolvimento*, v. 1, n. 1, p. 75-85, jan./fev. 2005.
- ARAÚJO, J.F.; CASTRO, A. P.; COSTA, M.M.C.; TOGAWA, R.C.; PAPPAS, G.J.; QUIRINO, B.F.; BUSTAMANTE, M.M.C.; WILLIAMSON, L.; HANDELSMAN, J.; KRÜGER, R. H. **Characterization of soil bacterial assemblies in Brazilian savanna-like vegetation reveals Acidobacteria dominance.** *Microbial Ecology* :760-770, 2012.
- ARAÚJO. E.S.; JANTÁLIA, C.P.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R. **Importância do N das raízes de soja para a produtividade da cultura sucessora e para o balanço do N do sistema.** Circular Técnica, Seropédica, n.14, p.1-4, 2006.
- ATLAS, R.M.; BARTHA, R.. **Microbial Ecology: Fundamentals and Applications.** Menlo Park, California: Addison-Wesley Longman, 1998.
- BACHAR, A.; AL-ASHHAB, A.; SOARES, M.I.M.; SKLARZ, M.Y.; ANGEL, R.; UNGAR, E.D.; GILLOR, O.. **Soil microbial abundance and diversity along a low precipitation gradient.** *Soil Microbiology*, **60**: 453-461, 2010.
- BÁRCENAS-MORENO, G. E DIAZ-RAVINÁ, M. **“Efectos del fuego sobre los microorganismos del suelo”** .Red Temática Nacional Efectos de los Incendios Florestales sobre los Suelos (FUEGORED); Ficha técnica FGR 2013/07, 2013.
- BERG G., SMALLA K. **Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere.** *FEMS Microbiol. Ecol.* 68 1–13.2009.
- BELMOK, ALINE RODRIGUES-OLIVEIRA, THIAGO LOPES, FABYANO A.C. MIRANDA, HELOISA S. KRÜGER, RICARDO H. KYAW, CYNTHIA M. **Long-Term Effects of Periodical Fires on Archaeal Communities from Brazilian Cerrado Soils.** *Journal Hindawi Archaea*, 2019.
- BENLLOCH, S., MARTÍNEZ-MURCIA, A. J., & RODRÍGUEZ-VALERA, F. **Sequencing of Bacterial and Archaeal 16S rRNA Genes Directly Amplified from a**

Hypersaline Environment. Systematic and Applied Microbiology, 574–581. doi:10.1016/s0723-2020(11)80418-2, 1995.

BERTOL, I.; ZOLDAN, W.A.; GONZALEZ, A.P.; BARBOSA, F.T. & WERNER, R.D. **Sediment transport in runoff on rugous soil surface submitted to simulated rainfall.** Sci. Agric., 67:591-597, 2010.

BERTOL, I.; BEUTLER, J.F.; LEITE D. & BATISTELA, O. **Propriedades físicas de um Cambissolo Húmico afetadas pelo tipo de manejo do solo.** Sci. Agric., 58:555-560, 2001.

BLAINSKI, E.; TORMENA, C. A.; FIDALSKI, J.; GUIMARÃES, R. M. L. **Quantificação da degradação física do solo por meio da curva de resistência do solo à penetração.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.32, p.975-983, 2008.

BORNEMAN J, SKROCH PW, O'SULLIVAN KM, PALUS JA, RUMJANEK NG, JANSEN JL, NIENHUIS J, TRIPLETT EW. **Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin.** Appl Environ Microbiol, 1996.

BONONI, LAURA. **Impacto da umidade do solo sobre a estrutura das comunidades bacterianas e sobre as atividades enzimáticas em solos da Caatinga e da Mata Atlântica.** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

BOWMAN, J. S., RASMUSSEN, S., BLOM, N., DEMING, J. W., RYSGAARD, S., & SICHERITZ-PONTEN, T. **Microbial community structure of Arctic multiyear sea ice and surface seawater by 454 sequencing of the 16S RNA gene.** The ISME Journal, 6(1), 11–20, 2011.

BRANTLEY, S. L., GOLDHABER, M. B. & RAGNARSDOTTIR, K. V. **Crossing disciplines and scales to understand the critical zone.** Elements 3, 307–314, 2007.

BRASIL, M. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. **Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do pantanal Sul Matogrossense.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, SP, v. 29, n. 2, p. 179-190, 2005.

BROWN, G. E., TRAINOR, T. P. & CHAKA, A. M. **Geochemistry of mineral surfaces and factors affecting their chemical reactivity.** In Chemical Bonding at Surfaces and Interfaces, pp. 457–509. Edited by A. Nilsson, L. G. M. Pettersson & J. K. Norskov. Amsterdam: Elsevier, 2008.

BULGARELLI, D., SCHLAEPPI, K., SPAEPEN, S., VAN THEMAAT, E. V. L., & SCHULZE-LEFERT, P. **Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants.** Annual Review of Plant Biology, 64, 2013.

BUSSAB, W. DE O. E MORETTIN, P. A. . **Estatística Básica**, 5ª ed. São Paulo: Editora Saraiva, 2003.

CANHOS, V.P.. **Diversidade no domínio bactéria**. In: Joly, C. A.; Bicudo, C. E. M. (orgs). Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. 1 Microorganismos e Vírus. São Paulo: FAPESP, p.1-13, 1997.

CAPECHE, C. L. **Impactos das Queimadas na Qualidade do Solo – Degradação Ambiental e Manejo e Conservação do Solo e Água**. II Encontro Científico do Parque Estadual dos Três Picos. Cachoeiras de Macacu – RJ, 2012.

CARBALLAS T, MARTÍN A, DÍAZ-RAVIÑA M. **Efecto de los incendios forestales sobre los suelos de Galicia**. In: Cerdá A, Mataix-Solera J (Eds.), Efecto de los incendios forestales sobre los suelos en España, Cátedra Divulgación de la Ciencia, Universitat de València, pp. 269-301, 2009.

CHISTOSERDOVA, LUDMILA. **Recent progress and new challenges in metagenomics for biotechnology**. Biotechnology letters, v. 32, n. 10, p. 1351-1359, 2010.

CHOROVER, J., KRETZSCHMAR, R., GARCIA-PICHEL, F. & SPARKS, D. L. **Soil biogeochemical processes within the critical zone**. Elements 3, 321–326, 2007.

CRAWFORD, N.M.; KAHN, M.L.; LEUSTEK, T.; LONG, S.R. **Nitrogen and Sulfur**. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (eds), Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Physiologists, Rockville, p.786, 2000.

CROMACK Jr., K. *et al.* **Assessing the impacts of severe fire on forest ecosystem recovery**. Journal of Sustainable Forestry, Washington, v. 11, n. 1-2, p. 177-228, jan. 2000.

DINESH, R., CHAUDHURI, S. G., GANESHAMURTHY, A. N. AND DEY, C. **Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation in wet tropical forests**. Applied Soil Ecology, 24, 17-23, 2003.

DOCHERTY, KM, BALSER, TC, BOHANNAN, BJM, GUTKNECHT, LM,. **Solo e fogo ao interagir fatores de mudança global em uma pastagem anual da Califórnia**. Biogeoquímica : Respostas Microbianas , 63-83, 2012.

DOJKA, M.A. **Microbial diversity in a Hydrocarbon-and chlorinated-solvent-contaminated aquifer undergoing intrinsic bioremediation**. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v.64, n.10, p. 3869-77, 1998.

DOOLEY, SR, TRESEDER, KK. **O efeito do fogo na biomassa microbiana: uma meta-análise de campo estudos**. Biogeoquímica, 2011.

DROZDOWICZ, A. **Bactérias de solo**. In: VARGAS, M.A.T.; Hungria, M. Biologia dos solos dos cerrados .Planaltina: Embrapa/CPAC,. p. 17 –66, 1997.

EDWARDS, K. J., BACH, W. & MCCOLLOM, T. M. . **Geomicrobiology in oceanography: microbe–mineral interactions at and below the seafloor**. Trends Microbiol 13, 449–456, 2005.

EHRlich, H. L. & NEWMAN, D. K. **Geomicrobiology**, 5th edn. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 2009.

EHRlich, H. L. **Microbes and metals**. *Appl Microbiol Biotechnol* 48, 687–692, 1997.

EHRlich, H. L. **How microbes influence mineral growth and dissolution**. *Chem Geol* 132, 5–9, 1996.

FALKOWSKI, P. G., FENCHEL, T., & DELONG, E. F. **The Microbial Engines That Drive Earth's Biogeochemical Cycles**. *Science*, 320(5879), 1034–1039, 2008.

FERREIRA-LEITE, F.; BENTO-GONÇALVES, A.; LOURENÇO, L.; ÚBEDA, X. E VIEIRA, A. **“Grandes incêndios florestais em Portugal continental como resultado das perturbações nos regime do fogo no mundo mediterrâneo”**. *Sílvia Lusitânia, Especial*, 1-9; Portugal; pág. 129-144, 2013.

FIERER, NOAH; *et.al.* **Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients**. *The ISME Journal* v.6, p.1007-1017, 2012.

FRASER, C. *et.al.* **The bacterial species challenge: making sense of genetic and ecological diversity**. *Science*, v. 323, n.5915.p.741-746, 2009.

FREITAS, ISABEL CRISTINA VINHAL, RODRIGUES, MARIANA BUENO. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho**. *Agropecuária Técnica – v. 31, n. 2*, 2010.

FROST, C. C. **“Studies in Landscape fire ecology and presentment vegetation of the southeastern United States”** (Tese de Douturamento); University of North Carolina, USA, 2000.

GADD, G. M. & RAVEN, J. A.. **Geomicrobiology of eukaryotic microorganisms**. *Geomicrobiol J* (in press), 2010.

GADD, G. M. **Fungi in Biogeochemical Cycles**. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.

GADD, G. M. **Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation**. *Geoderma* 122, 109–119, 2004.

GADD, G. M. **Fungi and their role in the biosphere**. In *Encyclopedia of Ecology*, pp. 1709–1717. Edited by S. E. Jorgensen & B. Fath. Amsterdam: Elsevier, 2008b.

GADD, G. M., BURFORD, E. P., FOMINA, M. & MELVILLE, K. **Mineral transformation and biogeochemical cycles: a geomycological perspective**. In *Fungi in the Environment*, pp. 78–111. Edited by G. M. Gadd, P. Dyer & S. Watkinson. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

GALANG, M. A.; MARKEWITZ, D.; MORRIS, L. A. **Soil phosphorus transformations under forest burning and laboratory heat treatments.** *Geoderma*, Amsterdam, v. 155, n. 3-4, p. 401-408, mar. 2010.

GANS, J.; WOLINSKY, M.; DUNBAR, J. **Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil.** *Science*, Washington, v. 309, n. 5739, p.1387-1390, 2005.

GAVA, C. A. T; PEREIRA, J. C.; FERNANDES, M. C.; NEVES, M. C. P. **Seleção de isolados de estreptomicetos para controle de *Ralstonia solanacearum* em tomateiro.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, p. 1373-1380, 2002.

GLEESON, D., MCDERMOTT, F. & CLIPSON, N. . **Understanding microbially active biogeochemical environments.** *Adv Appl Microbiol* 62, 81–104, 2007.

GILMOUR, C. & RIEDEL, G.. **Biogeochemistry of trace metals and metalloids.** In *Encyclopedia of Inland Waters*, pp. 7–15. Edited by G. E. Likens. Amsterdam: Elsevier, 2009.

GRIMALDI, M.; OSZWALD, J.; DOLÉDEC, S.; HURTADO, M. P.; MIRANDA, I. S.; SARTRE, X. A.; ASSIS, W. S.; CASTAÑEDA, E.; DESJARDINS, T.; DUBS, F.; GUEVARA, E.; GOND, V.; LIMA, T. T. S.; MARICHAL, R.; MICHELOTTI, F.; MITJA, D.; NORONHA, N. C.; OLIVEIRA, M. N. D.; RAMIREZ, B.; RODRIGUEZ, G.; SARRAZIN, M.; SILVA, M. L. S.; COSTA, L. G. S.; SOUZA, S. L.; VEIGA, I.; VELASQUEZ, E.; LAVELLE, P. **Ecosystem services of regulation and support in Amazonian pioneer fronts: searching for landscape drivers.** *Landscape Ecology*, v. 29, p. 311-328, 2014.

GOBERNA, M., GARCÍA, C., INSAM, H., HERNÁNDEZ, M.T., VERDÚ, M., 2012. **Burning fire-prone Mediterranean shrublands: immediate changes in soil microbial community structure and ecosystem functions.** *Microb. Ecol.* 64, 242–255.

GUIMA, Suzana E. S. **Metagenômica do microcosmo de solo sob a aplicação de fipronil.** (Trabalho de conclusão de curso) Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Dourados - MS, 2016.

HAMMAN, ST, BURKE, IC, STROMBERGER, ME. **As relações entre comunidade microbiana estrutura do solo e condições ambientais em um sistema recentemente queimado.** *Biol solo. Biochem.* 39, 1703-1711, 2007.

HART, SC, DELUCA, TH, NEWMAN, GS, MACKENZIE, MD, BOYLE, SI. **Pós-fogo vegetação dinâmica como motoristas de estrutura da comunidade microbiana e função em solos florestais.** *Para. Ecol. Manag.* 220, 166-184, 2005.

HARRIS, J. A. **Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration.** *European Journal of Soil Science*, v. 54, n. 4, p. 801-808, 2003.

HUANG, P. M., WANG, M. C. & WANG, M. K. **Mineral–organic– microbial interactions.** In *Encyclopedia of Soils in the Environment*, pp. 486–499. Sparks & J. Hatfield. Amsterdam: Elsevier, 2004.

HUGHES, J. B.; HELLMANN, J.J.; RICKETTS, T. H.; BOHANNAN B. J. **Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity.** Applied and Environmental Microbiology, Washington, v 67, p.4399-06, 2001.

IBAMA. **Plano de manejo do parque Nacional da Serra da Canastra.** Brasília:Ministério do Meio Ambiente, 2005.

ICMBio. **Manejo Integrado do Fogo - Parque Nacional da Serra da Canastra.** São Roque de Minas: Parque Nacional da Serra da Canastra, 2016.

INPE. **Portal do Monitoramento de Queimadas e Incêndios** , 2016.

JANSSEN, P.H. **Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes.** Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 72, p. 1719–1728, 2006.

JONES RT, ROBESON MS, LAUBER CL, HAMADY M, KNIGHT R, *et al.* **A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses.** The ISME journal 3: 442–453, 2009.

KENNEDY, A.; DORAN, J. **Sustainable agriculture: role of microorganisms.** In: BITTON, G. (Org.) Encyclopedia of Environmental Microbiology. New York: John Wiley e Sons, p. 3116-3126, 2002.

KENT, A. D; TRIPLETT, E. W. **Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems.** Annual Review Microbiology, Pablo Alto, v.56, p. 211-36, 2002.

KOMAREK, E. V. **Lightning and fire ecology in Africa.** In: TALL TIMBERS FIRE ECOLOGY CONFERENCE, 11., 1972.

KNICKER, H. *et al.* **Characteristic alterations of quantity and quality of soil organic matter caused by forest fires in continental Mediterranean ecosystems: A solid-state ¹³C NMR study.** European Journal of Soil Science, Oxford, v. 57, n. 4, p. 558-569, 2007.

KRASHEVSKA, V.; SANDMANN, D.; MARAUN, M.; SCHEU, S.. **Consequences of exclusion of precipitation on microorganisms and microbial consumers in montane tropical rainforests.** Oecologia, pp. 1-10., 2012.

LAMBAIS, M.R.; CURY, J.C.; MALUCHE-BARETTA, C.R.; BÜLL, R.C. **Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas.** In: VIDAL-TORRADO, P., 2005;

LANDA, E. R. **Microbial biogeochemistry of uranium mill tailings.** Adv Appl Microbiol 57, 113–130, 2005.

LANGILLE, M. G. *et al.* **Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences.** Nat Biotechnol, v. 31, n. 9, p. 814- 21, Sep 2013.

LEJON, D.P.H.; CHAUSSOD, R.; RANGER, J. & RANJARD, L. **Microbial community structure and density under different tree species in an acid forest (Morvan, France)**. Microbiol. Ecol., 50:614-625, 2005.

LIAN, B., CHEN, Y., ZHU, L. & YANG, R.. **Effect of microbial weathering on carbonate rocks**. Earth Sci Front 15, 90–99, 2008a.

LIAN, B., WANG, B., PAN, M., LIU, C. & TENG, H. H. **Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus***. Geochim Cosmochim Acta 72, 87–98, 2008b.

LIU W-T, STAHL DA. **Molecular approaches for the measurement of density, diversity, and phylogeny**. In: Manual of Environmental Microbiology (Hurst CJ, Crawford RL, Knudsen GR, McInerney MJ, Stetzenbach LD, eds). 2nd ed. Washington, DC:ASM Press, 114–134, 2002.

LLANILLO, R.F.; RICHART, A.; TAVARES FILHO, J.; GUIMARÃES, M. de F.; FERREIRA, R.R.M. **Evolução de propriedades físicas do solo em função dos sistemas de manejo em culturas anuais**. Semina: Ciências Agrárias, v.27, p.205-220, 2006

LUNDBERG *et al.* **Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome**. Nature 488 86–90, 2012.

LUDWIG, W.; BAUER, S. H.; BAUER, M. *et al.* **Detection and *in situ* identification of representatives of a widely distributed new bacterial phylum**. FEMS Microbiology Letters, n.153 (1), p.181-190, Ago 1997.

MARCHÃO, R.L.; BALBINO, L.C.; SILVA, E.M. da; SANTOS JUNIOR, J. de D.G. dos; SÁ, M.A.C.; VILELA, L.; BECQUER, T. **Qualidade física de um Latossolo Vermelho sob sistemas de integração lavoura-pecuária no Cerrado**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.42, p.873-882, 2007.

MACRAE, ANDREW. **The use of 16s rDNA methods in soil microbial ecology**. Braz. J. Microbiol., São Paulo , v. 31, n. 2, p. 77-82, June 2000 .

MAHAJAN, GIRISH; BALACHANDRAN, Lakshmi. **Antibacterial Agents from Actinomycetes - A Review**. Frontiers in bioscience (Elite edition), 2012.

MARIANO, R.L.R., SILVEIRA, E.B. **Mancha-aquosa: importante bacteriose do meloeiro no Brasil**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica 1:79-88, 2004

MARSCHNER, P., CROWLEY, D. & YANG, C.H. **Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type**. Plant and Soil 261: 199, 2004.

MASSMAN, W.J., J.M. FRANK, AND S.J. MOONEY. **Advancing investigation and physical modeling of first-order fire effects in soils**. Fire Ecology 6(1): 36-54, 2010.

MATAIX-SOLERA J, CERDÀ A, ARCENEGUI V, JORDÁN A, ZAVALA LM. **Fire effects on soil aggregation: a review**. *Earth-Sci Rev.*:109:44-60, 2011.

MEDEIROS, 2002 MEDEIROS, M. B. **Manejo de fogo em unidades de conservação do cerrado**. *Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer*, v. 10, n. 1, p. 76-89, 2002.

MEDEIROS, MARCELO BRILHANTE DE; FIEDLER, NILTON CEZAR. **Incêndios florestais no Parque Nacional da Serra da Canastra: desafios para a conservação da biodiversidade**. *Ciência Florestal*, v. 14, n. 2, p. 157-168, 2004.

MELO, V. F.; SCHAEFER, C. E. G. R.; FONTES, L. E. F.; CHAGAS, A. C.; LEMOS JÚNIOR, J. B.; ANDRADE, R. P. **Caracterização física, química e mineralógica de solos da colônia agrícola do Apiaú (Roraima, Amazônia), sob diferentes usos e após queima**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 30, p. 1039-1050, 2006.

MENDONÇA, R. C. *et al.* **Flora vascular do cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina, DF: Embrapa, . p. 289-556, 1998.

MIDDLETON, B. A. *et al.* **Fire in a tropical dry forest of Central America: a natural part of the disturbance regime?** *Biotropica*, v. 29, n. 4, p. 515-517, 1997.

MIRANDA, A.C.; MIRANDA, H.S.; DIAS, I.D.O. & DIAS, B.F.D. **Soil and air temperatures during prescribed cerrado fires in Central Brazil**. *Journal of Tropical Ecology*, 9: 313-320, 1993.

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

MOREIRA, WELLINGTON MARCELO QUEIXAS. **Estudo da diversidade e atividade bacteriana em solos de floresta e sob cultivo de cana-de-açúcar**. (Tese de doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013.

MORRIS *et al.* / editor, Eldor A. Paul – Fourth edition. **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. Elsevier Inc, 2015.

MOURA, JAMES MORAES DE. **Impacto do fogo sobre a microbiota edáfica em diferentes fitofisionomias do Pantanal em Mato Grosso**. (Dissertação mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Pós-graduação em Agricultura Tropical, 2007

MOURA, 2011- MOURA, L. C.; VIADANA, A. G. **Contextualização do problema de incêndios florestais atribuídos à causa humana no Parque Nacional da Serra da Canastra MG**. In: *Anais XI Seminário de Pós-Graduação em Geografia da UNESP*. Rio Claro, SP, 2011.

NANNIPIERI, P. *et al.* **Microbial diversity and soil functions**. *European Journal of Soil Science*, v. 54, n. 4, p. 655–670, dez. 2003.

NAVARRETE, A. A.; TSAI, S. M.; MENDES, L. W.; FAUST, K.; HOLLANDER, M.; CASSMAN, N. A.; VAN VEEN, J. A.; KURAMAE, E. E. **Soil microbiome responses to the short-term effects of Amazonian deforestation.** *Molecular Ecology*, v. 24, n. 10, p. 2433 – 2448, 2015

NEARY, D. G., RYAN, K. C., AND DEBANO, L. F.: **Wildland Fire in Ecosystems, Effects of Fire on Soil and Water, Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-42-vol.4.**, US Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Ogden, UT, 250 pp., 2005.

NIPECERON, M. *et al.* **GammaProteobacteria as a potential bioindicator of a multiple contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils.** *Environmental pollution*, v. 180, p. 199-205, 2013.

NUSSELEIN, K.; TIEDJE, J.M. **Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in tropical soil.** *Applied and Environmental Microbiology*. Washington, v. 65, n. 8, p. 3622- 26, 1999.

NUNES, L. A. P. L.; ARAÚJO FILHO, J. A.; MENEZES, R. I. Q. **Impacto da queimada e do pousio sobre a qualidade de um solo sob caatinga no semiárido nordestino.** *Revista Caatinga*, Mossoró, v.19, n.2, p.200-208, 2006

NUNES, L.A.P.L.; DIAS, L.E.; JUCKSCH, I.; BARROS, N.F.; KASUYA, M.C.M. & CORREIA, M.E.F. **Impacto do monocultivo de café sobre os indicadores biológicos do solo na zona da mata mineira.** *Ci. Rural*, 39:2.467-2.474, 2009.

OKSANEN J, BLANCHET FG, KINDT R, LEGENDRE P, MINCHIN PR, O'HARA RB, SIMPSON GL, SOLYMOS P, STEVENS HH & WAGNER H. **Vegan: community ecology package.** R package version 1: 8-8, 2016. Disponível em <<https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>>. Acesso em 05 Maio 2019.

OLIVEIRA, DENILSON BARBOSA DE . **Diretrizes Técnicas para restauração de áreas degradadas por fogo em remanescentes de Mata Atlântica da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, 2013.

OVREÅS, L. **Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments.** *Ecology Letters*, Oxford, v. 3, p.236-251, 2000.

OUEDRAOGO E, MANDO A, AND ZOMBRE NP. **Use of compost to improve soil properties and crop productivity under low input agricultural system in West Africa.** *Agric. Ecosyst. Environ.*, 84, 259-266, 2001.

PETROSINO, J. F., HIGHLANDER, S., LUNA, R. A., GIBBS, R. A., & VERSALOVIC, J. (2009). **Metagenomic Pyrosequencing and Microbial Identification.** *Clinical Chemistry*, 55(5), 856–866, 2008.

PHILIPPOT, L. *et al.* **Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere.** *Nature Reviews Microbiology*, New York, v. 11, p. 789–799, 2013.

PROFERT-MG. **Programa Interlaboratorial de Controle de Qualidade de Análise de Solo: Manual do laboratorista.** Minas Gerais, 33p, 2005.

QUADROS, PATRÍCIA DÖRR DE. **Diversidade e composição de comunidades microbianas de solos construídos e de solos sob diferentes manejos agrícolas.** (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, 2013.

QUAISER A, OCHSENREITER T, LANZ C, SCHUSTER SC, TREUSCH AH, ECK J, SCHLEPER C. **Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics.** Mol Microbiol 50(2):563–575, (2003).

QUIRINO, B.F.; PAPPAS, G.J.; TAGLIAFERRO, A.C.; COLLEVATTI, R.G.; NETO, E.L.; DA SILVA, M.R.; BUSTAMANTE, M.M.; KRÜGER, R.H. **Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savannalike Cerrado vegetation.** Microbiology Research 164:59-70, 2009.

RACHID CTCC, SANTOS AL, PICCOLO MC, BALIEIRO FC, COUTINHO HLC, *et al.* **Effect of Sugarcane Burning or Green Harvest Methods on the Brazilian Cerrado Soil Bacterial Community Structure.** PLoS ONE 8(3): e59342. ,201).

RAMOS NETO, M. B. **Avaliação do manejo do fogo no Parque Nacional das Emas.** In: Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, 1. Curitiba: IAP, 1997.

REDIN, M. *et al.* **Impactos da queima sobre atributos químicos, físicos e biológicos do solo.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 21, n. 2, p.381-392, jun. 2011.

REZENDE, L. PEREIRA; PORTELA, G. DE FRANÇA; MACEDO, N. CORDEIRO; DINIZ, K. DOURADO. **Identificação da macrofauna do solo em pastagem de panicum maximum, área submetida à queimada no município de Sambaíba-MA.** Rev. Biodiversidade - V.16, N1, pág. 21, 2017.

ROBE, P., NALIN, R., CAPELLANO, C., VOGEL, T.M., AND SIMONET, P. **Extraction of DNA from soil.** European Journal of Soil Biology 39, 183-190, 2003.

ROCHA, J. M. F. **Incêndios florestais como fator de erodibilidade do solo: aplicação experimental de técnicas de fogo controlado e de parcelas de erosão no município de Santo Tirso.** (Dissertação de Mestrado). Universidade do Minho Instituto de Ciências Sociais, 2016.

RODRIGUES, G.T. **Diversidade em comunidades bacterianas de solos de matas de galeria do cerrado.** (Dissertação de mestrado). Universidade de Brasília- Programa de Pós Graduação em Ecologia, 2012.

RODRÍGUEZ FALAGÁN, M.C. **Geomicrobiology of meromictic, metal-mine pit lakes in the Iberian Pyrite Belt and biotechnological applications.**(Tese de doutorado). Universidad del País Vasco , Espanha, 2015.

ROESCH LFW, FULTHORPE RR, RIVA A, CASELLA G, KM A, *et al.* **Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity**. Soil and Water 1: 283–290, 2007.

RONDON, M. *et al.* **Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms**. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v.66, n. 6, p. 2541-47, 2000.

ROSA, C. M. M. **Recuperação pós-fogo do estrato rasteiro de um campo sujo de cerrado**. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 1990.

SAMBROOK. J.; RUSSEL, D. W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

SCHLOTTER, M.; LEBUHN, M.; HEULIN, T.; HARTMANN, A; **Ecology and evolution of bacterial microdiversity**. FEMS Microbiological Review, v. 24, p.647 – 660, 2000.

SCHMEISSER, C., STEELE, H., & STREIT, W. R. **Metagenomics, biotechnology with non-culturable microbes**. Applied Microbiology and Biotechnology, 75(5), 955–962, 2007.

SCHMIDT, I. B.; FONSECA, C. B.; FERREIRA, M. C. & SAT, M. N. **Experiências Internacionais de Manejo Integrado do Fogo em Áreas Protegidas – Recomendações para Implementação de Manejo Integrado de Fogo no Cerrado**. Revista Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Biodiversidade Brasileira, 6(2): 41-54, 2016.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S. **Matéria orgânica do solo**. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). Biologia dos solos dos cerrados. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997.

SILVA, A.O.; SILVA, W.M; KURIHARA, C.H.; MERCANTE, F.M. **Spectrophotometric method for quantification of soil microbial biomass carbon**. African Journal of Biotechnology, Victoria Island, v. 15, p. 565-570, 2016.

SILVEIRA, ÉRICO LEANDRO DA. **Identificação de comunidades bacterianas de solo por seqüenciamento do gene 16S rRNA**. (Dissertação mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2004.

SOMMERS, W. T.; COLOFF, S. G. E CONARD, S. G. **"Synthesis of Knowledge: Fire History and Climate Change"**. JFSP Synthesis Reports; Paper 19; 2011.

SONI, S.K., RAHI, D.K., SONI, R. **Microbial Ecology and Pollution Management In.: Soni, S.K (ed), Microbes: A source of energy of 21st Century**. New India Publishing Agency, Nova Deli, p.575, 2007.

SOUZA, R.C.; MENDES, I.C.; REIS-JUNIOR, F.B.; CARVALHO, F.M.; NOGUEIRA, M.A.; VASCONCELOS, A.T.R.; VICENTE, V.A.; HUNGRIA, M. **Shifts in taxonomic and functional microbial diversity with agriculture: How fragile is the Brazilian Cerrado?** *Biomed Central Microbiology*, Oxford, v. 16, n.42, p. 1-15, 2016.

SOUZA, ROGÉRIO OLIVEIRA. **Experimentos e Estudos de Manejo Integrado do Fogo em Unidade de Conservação do Cerrado – Parque Nacional da Serra da Canastra.** (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós Graduação em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais (IFMG) Campus Bambuí, 2017.

SPARKS, D. L. **Toxic metals in the environment: the role of surfaces.** *Elements* 1, 193–196, 2005.

STOCKS, B. J.; TROLLOPE, W. S. W. **Fire management: principles and options in the forested and savanna regions of the world.** In: CRUTZEN, P. J.; GOLDAMMER, J. G. (Ed.). *Fire in the environment: the ecological, atmospheric and climate importance of vegetation fires.* New York: John Wiley & Sons Ltd, 1993.

STRECK, C. A. **Índice S e fluxo de água e ar em solos do sul do Brasil.** Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. **Bacteriocins from the rhizosphere microbiome from an agriculture perspective.** *Frontiers in plant science*, v. 6, 2015.

TORSVIK, V.; OVREAS, L. **Microbial diversity and function in soil : from genes to ecosystems.** *Current Opinion in Microbiology* , v. 5, n. 3, p. 240 – 245, 2002.

COSTA JUNIOR, C.; PÍCCOLO, M. D. C.; SIQUEIRA NETO, M.; CAMARGO, P. B. D.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. **Carbono em agregados do solo sob vegetação nativa, pastagem e sistemas agrícolas no Bioma Cerrado.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36, n. 04, p. 1311-1322, 2012.

TRINGE, S.G. et al. **Comparative metagenomics of microbial communities.** *Science*, New York, v. 308, n. 5721, p. 554-557, 2005.

UROZ S, BUE'E M, MURAT C, FREY-KLETT P, MARTIN F. **Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and.** *Environmental Microbiology* 2: 281–288, 2009.

UROZ S, BUE'E M, MURAT C, FREY-KLETT P, MARTIN F. **Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and.** *Environmental Microbiology* 2: 281–288, 2010.

VALADARES-INGLIS, M.C.; MELO, I. S. **Métodos de extração de DNA e sua aplicação em estudos genéticos e ecológicos.** In: MELO, I. S; AZEVEDO, J.L. *Ecologia Microbiana.* Jaguariúna: Embrapa/CNPMA. p. 187-204, 1998.

VENTURA, M.; CANCHAYA, C.; CHANDRA, G.; FITZGERALD, G. F.; CHATER, K. F.; SINDEREN, D. **Genomics of Actinobacteria: Tracing the evolutionary History of an Ancient Phylum**. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, Washington, v. 71, p. 495–548, 2007.

VIEIRA, F. **Avaliação Ecológica Rápida para a Revisão do Plano de Manejo do Parque Nacional da Serra da Canastra, Estado de Minas Gerais - Relatório Técnico Parcial do Componente Ictiofauna**. IBAMA/Terra Brasilis (Relatório Técnico Não Publicado), 2001.

VIOLANTE, A., HUANG, P. M. & GADD, G. M. (editors). **Biophysicochemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments**. Chichester: Wiley, 2008.

WAGG, C. *et al.* **Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, n. 14, p. 5266-5270, 2014.

WARD NL, CHALLACOMBE JF, JANSSEN PH, HENRISSAT B, COUTINHO PM, *et.al.* **Three genomes from the phylum acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils**. *Appl Environ Microbiol* , .75(7):2046–2056, 2009.

WARREN, L. A. & HAACK, E. A. **Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments**. *Earth Sci Rev* 54, 261–320, 2001.

WINDING; HUND-RINKEB; RUTGERSC, 2005).- WINDING, A.; HUND-RINKEB, K.; RUTGERSC, M. **The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, v. 62, n. 2, p. 230-248, Oct. 2005.

YANG Z., WULLSCHLEGER S. D., LIANG L., GRAHAM D. E., GU B. **Effects of warming on the degradation and production of low-molecular-weight labile organic carbon in an Arctic tundra soil**. *Soil Biol. Biochem.* 95, 202–211. 10.1016/j.soilbio.2015.12.022, 2016.

YEAGER CM, NORTHUP DE, GROW CC, BARNS SM, KUSKE CR. **Changes in nitrogen-fixing and ammonia-oxidizing bacterial communities in soil of a mixed conifer forest after wildfire**. *Appl Environ Microbiol* 71:2713–2722, 2005.

YOUSSEF, N., H.; ELSHAHED, M. S. **Diversity rankings among bacterial lineages in soil**. *ISMR Journal*, London, v.3 , n. 3, p. 305-13, 2009.

ZILLI, J. É.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; Da COSTA COUTINHO, H. L., NEVES, M. C. P. **Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo**. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

ZILLI, J.D.; CAMPO, R.J.; RIBEIRO, K. G.; GIANLUPPI, V.; SMIDERLER, O.J.; HUNGRIA, M. **Utilização de Inoculantes de *Bradyrhizobium* no Cultivo de Soja nos Cerrados de Roraima**. *Circular Técnica*, n.2, p.1-9, 2005.

ANEXOS

8.1 Anexo A – Fotos de coleta das amostras no PNSC

Figura 19 - Coleta de amostras de solo para análises físico-químicas.



Fonte: O Autor

Figura 20- Coleta de amostras de solo para extração do DNA da microbiota.



Fonte: O Autor.

8.1 Execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC

Figura 21- Primeira reunião e instruções em campo para a execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC.



Fonte: O Autor.



Figura 22- Equipe de Brigadistas (ICMBio e PRÓ-fogo -DF)



Fonte: O Autor.

Figura 24- Imagem obtida através de drone, para o controle da confecção de aceiro negro do Manejo Integrado do Fogo do PNSC. Fonte : ICMBio, 2017.



Fonte: ICMBio.

Figura 25- Imagem obtida através de drone, para o controle da confecção de aceiro negro do Manejo Integrado do Fogo do PNSC.



Fonte : ICMBio, 2017.

Figura 26- Encerramento da primeira fase da primeira execução do Manejo Integrado do Fogo do PNSC. Fonte: ICMBio, 2017.



Fonte: ICMBio.

8.2 Autorização SISBio e autorização de entrada no PNSC

Figura 27- Autorização para atividades com finalidade científica



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 57661-1	Data da Emissão: 17/03/2017 09:55	Data para Revalidação*: 16/04/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Amanda Avelina Carvalho Silva	CPF: 105.320.326-83
Título do Projeto: Prospecção de Bactérias do Ciclo do Nitrogênio no Solo do Parque Nacional da Serra da Canastra para utilização em Restauração de áreas degradadas por queimadas	
Nome da Instituição : INST FED DE EDUC, CIÊNCIA E TEC DE MINAS GERAIS	CNPJ: 10.626.896/0003-34

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Levantamento dos ponto de coleta e coleta das amostras de solo	03/2017	04/2017
2	Análises físico-químicas e sólidos totais das amostras de solo	04/2017	06/2017
3	Extração do DNA das amostras	07/2017	08/2017
4	Amplificação e sequenciamento do DNA	09/2017	12/2017
5	Análises de bioinformática de identificação dos grupos bacterianos	01/2018	05/2018
6	Identificação das bactérias fixadoras de N	06/2018	07/2018
7	Construção do painel de bactéria x ambiente	07/2018	08/2018
8	Preparação dos manuscritos para publicação dos dados em revistas especializadas	07/2018	11/2018
9	Proposição do meio de cultivo	08/2018	10/2018
10	Preparação de relatórios e prestações de contas finais	12/2018	12/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
5	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	O mapa atualizado do Parque Nacional da Serra da Canastra, com os limites corretos da unidade de conservação, está disponível em: http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/cerrado/unidades-de-conservacao-cerrado/2090-parr-a-da-serra-da-canastra.html#highlight=WYJjYW5hc3RyYSIsIldjYW5hc3RyYSJd O uso de veículos automotores está autorizado apenas nas estradas abertas à visitação. Demais áreas poderão ser acessadas através de caminhadas.
---	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Equipe


Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa n° 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 67784846



Página 1/4

Figura 28- Autorização de entrada no PNSC


MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO
PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA
 R. Presidente Tancredo Neves, nº 498 – CEP 37.928-000, São Roque de Minas/MG / Fone (37) 3433-1324/1326

AUTORIZAÇÃO DE ENTRADA Nº 08 / 2017

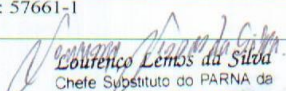
O chefe do Parque Nacional da Serra da Canastra, no uso das atribuições previstas na da Portaria MMA nº 366/2009, Art. 2, parágrafo §1º, autoriza o acesso ao Parque Nacional da Serra da Canastra, **com isenção de pagamento de ingresso:**


() estudante de ensino regular em atividade de educação ambiental (Port. MMA nº 366, Art. 2, III).
 () colaborador ou membro de instituições colaboradoras (Port. MMA nº 366, Art. 2, V).
 () servidor de órgão público em serviços (Port. MMA nº 366, Art. 2, VII).
 (X) pesquisador ou docente em atividade didática de nível superior, com autorização do SISBIO.

Nos termos da IN nº 19/2011, Art. 5, autoriza o acesso ao Parque Nacional da Serra da Canastra para realização de reportagem, nas normas vigentes para entrada de visitantes:
 () Equipe de TV em locais e horário aberto à visitação (IN nº 19/2011, Art. 5, §1º).

Responsável: Amanda Avelina Carvalho Silva	RG: MG-17.095.357 SSP/MG
CPF: 105.320.326-83	Quantidade de acompanhantes: 0
Instituição: IFMG – Campus Bambuí	Cidade: Bambuí/MG
Data de Permanência: 24/03/2017 à 25/03/2017	Contato: (37) 99130-0040
Portarias: I	Condutor (opcional): Não
Uso de alojamento: Sim (Jaguarê)	Nº SISBIO: 57661-1

São Roque de Minas/MG 23/03/2017


Lourenço Lemos da Silva
 Chefe Substituto do PARNA da Serra da Canastra
 Assinatura e carimbo


MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO
PARQUE NACIONAL DA SERRA DA CANASTRA
 R. Presidente Tancredo Neves, nº 498 – CEP 37.928-000, São Roque de Minas/MG / Fone (37) 3433-1324/1326

AUTORIZAÇÃO DE ENTRADA Nº 08 / 2017


O chefe do Parque Nacional da Serra da Canastra, no uso das atribuições previstas na da Portaria MMA nº 366/2009, Art. 2, parágrafo §1º, autoriza o acesso ao Parque Nacional da Serra da Canastra, **com isenção de pagamento de ingresso:**

() estudante de ensino regular em atividade de educação ambiental (Port. MMA nº 366, Art. 2, III).
 () colaborador ou membro de instituições colaboradoras (Port. MMA nº 366, Art. 2, V).
 () servidor de órgão público em serviços (Port. MMA nº 366, Art. 2, VII).
 (X) pesquisador ou docente em atividade didática de nível superior, com autorização do SISBIO.

Nos termos da IN nº 19/2011, Art. 5, autoriza o acesso ao Parque Nacional da Serra da Canastra para realização de reportagem, nas normas vigentes para entrada de visitantes:
 () Equipe de TV em locais e horário aberto à visitação (IN nº 19/2011, Art. 5, §1º).

Responsável: Amanda Avelina Carvalho Silva	RG: MG-17.095.357 SSP/MG
CPF: 105.320.326-83	Quantidade de acompanhantes: 0
Instituição: IFMG – Campus Bambuí	Cidade: Bambuí/MG
Data de Permanência: 24/03/2017 à 25/03/2017	Contato: (37) 99130-0040
Portarias: I	Condutor (opcional): Não
Uso de alojamento: Sim (Jaguarê)	Nº SISBIO: 57661-1

São Roque de Minas/MG 23/03/2017


Lourenço Lemos da Silva
 Chefe Substituto do PARNA da Serra da Canastra
 Assinatura e carimbo
 Portaria ICMBio nº 404 de 04/07/2016