

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

GISELY MOREIRA VITALINO

**COMUNIDADE BACTERIANA CULTIVÁVEL DE UMA
CRONOSSEQUÊNCIA DE TECNOSSOLOS NO SEMIÁRIDO
TROPICAL**

RECIFE

2025

Gisely Moreira Vitalino
Bacharela em Agronomia

Comunidade bacteriana cultivável de uma cronossequência de Technossolos no semiárido tropical

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior

Coorientadora: Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto

Recife

2025

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecária Suely Manzi – CRB/4 - 809

V837c Vitalino, Gisely Moreira
Comunidade bacteriana cultivável de uma cronosequência de
Tecnossolos no semiárido tropical / Gisely Moreira Vitalino. – 2025.
67 f. : il.

Orientador: Mario de Andrade Lira Junior.
Coorientadora: Giselle Gomes Monteiro Fracetto.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo,
Recife, BR-PE, 2025.
Inclui bibliografia.

1. Ciência do solo 2. Natureza – Influência do homem
3. Diversidade genética 4. Fixação de nitrogênio 5. Solubilização
6. Tratamento térmico 7. Mineral 8. Sequências do solo I. Lira Junior,
Mario de Andrade, orient. II. Fracetto, Giselle Gomes Monteiro,
coorient. III. Título

CDD 631.4

GISELY MOREIRA VITALINO

Comunidade bacteriana cultivável de uma cronosequência de Tecnossolos no semiárido tropical

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Aprovada em 31 de julho de 2025

Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior

Orientador

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dr. Felipe Martins do Rêgo Barros

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP

Aos meus pais Gersildo e Cilda, e meus
irmãos Gabrielly e Gabriel dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, que tem sido misericordioso e bondoso para mim. Agradeço por renovar todos os dias as minhas forças e o prazer de realizar este trabalho, se há algum mérito seja exclusivamente dEle pois, sem ele nada posso fazer. Que toda honra e glória sejam dedicados a ti meu Senhor.

Agradeço a minha família por todo incentivo e apoio, meus pais, irmãos, cunhados e meus queridos sobrinhos que me proporcionam momentos de alegria.

Ao meu namorado, agradeço por me encorajar e apoiar, você tem sido uma benção na minha vida.

Aos meus queridos amigos, e não poderia deixar de citar Paulo Marques, que me incentivou a fazer o mestrado, quando saiu o edital, logo me avisou, assim como me ajudou em vários momentos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Mario de Andrade Lira Junior, por quem tenho grande respeito e apreço, desde a graduação tenho aprendido com o senhor, obrigada por sua compreensão e sinceridade.

A minha coorientadora, Profa. Dra. Giselle Gomes Monteiro Fracetto, que é uma inspiração de profissional, dedicada, mesmo muito ocupada, se dispõe a ajudar.

Aos queridos amigos do Laboratório de Microbiologia, Ariane, Paulo Dias, Pablo, Midouin, Cíntia, Leo, Duda, as Gabys, Diogo, Júlia, e tantos outros que convivi e tive o prazer de conhecer.

Agradeço aos graduandos Jéssica e Eduardo que estiveram junto comigo no desenvolvimento desse trabalho, vocês foram importantes para que eu chegasse até aqui.

Agradeço ao Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA pela utilização da estrutura e equipamentos, em especial a José de Paula, Eric, Júnior e Carol que se disponibilizaram e ajudaram em etapas importantes desse trabalho.

A todos os amigos do Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo.

Aos docentes do Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo que tive o privilégio de receber um pouco da grande experiência e conhecimento desses profissionais.

Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco, que se tornou minha segunda casa (desde o ensino médio, técnico, graduação até a pós-graduação), da qual tenho orgulho de fazer parte.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa.

“Tudo o que vier às suas mãos para fazer, faça-o conforme as suas forças, porque na sepultura, que é para onde você vai, não há obra, nem projetos, nem conhecimento, nem sabedoria alguma.” Eclesiastes 9:10

Comunidade bacteriana cultivável de uma cronosequência de Technossolos no semiárido tropical

Resumo

As atividades agrícolas, industriais e a mineração promovem a retirada de camadas e a deposição de resíduos no solo, os quais passam por alterações resultando na formação de solo. Na mineração de scheelita, bacias são construídas para deposição de rejeitos, que ao longo do tempo são revegetadas, formando Technossolos, com características diferenciadas dos solos naturais. Os Technossolos da mineração de scheelita apresentam reserva de nutrientes e aumento progressivo de carbono orgânico, cujo estoque pode ser superior ao encontrado em outras classes de solos. Portanto, a construção de Technossolos pode favorecer a agricultura, a recuperação de pastagens degradadas e a fixação de carbono. Além disso, com a bioprospecção, a obtenção de microrganismos que promovem o desenvolvimento do solo e beneficiam cultivos pode ser possível, principalmente na região semiárida tropical. Assim, essa pesquisa teve os seguintes objetivos: i - isolar bactérias a partir de uma cronosequência de Technossolos, em diferentes meios de cultura; ii - avaliar a diversidade genética dos isolados obtidos dos diferentes tempos de formação dos Technossolos por meio do gene 16S rRNA. A coleta de amostras de solo foi realizada em junho de 2022, na Mina Brejuí, Rio Grande do Norte, Brasil, a região está inserida no clima semiárido quente (BSH). Perfis de solo foram selecionados em cronosequência de 2, 5, 10 e 40 anos e o rejeito foi considerado como tempo zero. Foram coletadas três amostras do rejeito e em cada tempo houve coleta de amostras de solo em três horizontes representativos do perfil de solo. As bactérias foram isoladas em diferentes meios seletivos, para obtenção de potenciais solubilizadores de fosfato, produtores de celulases, fixadores de carbono e nitrogênio, sendo estimado o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de solo e NMPo Número Mais Provável. Em seguida, todas as estirpes tiveram o DNA extraído por meio de kit de extração HiYield™ Genomic DNA Mini Kit da RBC, seguindo o protocolo do fabricante, e foram caracterizadas genotipicamente por BOX-PCR. Os isolados que amplificaram o BOX foram selecionados para identificação molecular por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA. Para a anotação das sequências, a análise de similaridade foi realizada pelo BLAST, utilizando o banco de dados NCBI. O isolamento resultou na obtenção de 378 bactérias de todos os meios e tempos, sendo obtidos valores elevados de UFC g⁻¹ de solo, com o Carbono Orgânico (CO) sendo o atributo que mais explicou a variação das populações. O agrupamento por meio da amplificação do BOX-A1R apresentou 97,33% dos grupos compostos por um isolado, o que pode demonstrar a alta diversidade de bactérias cultiváveis nesses solos. A identificação por meio do gene 16S rRNA resultou nos filos mais abundantes em todos os tempos *Pseudomonadota*, *Actinomycetota* e *Bacillota*, respectivamente. Os gêneros mais abundantes foram *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Stenotrophomonas*, *Pantoea*, *Priestia* e *Bacillus*, que estão associados a ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica do solo e solubilização de minerais. Estes resultados demonstram que as comunidades bacterianas cultiváveis podem ter contribuído na formação dos Technossolos, pois elas apresentam elevada diversidade genética e estão associadas a diferentes funções. Além disso, essas bactérias podem ser fontes de insumos promissores para a agricultura, sendo capazes de dar suporte para os cultivos da região semiárida tropical, assim como na biotecnologia e indústria. Entretanto, mais pesquisas sobre esta coleção de isolados com a finalidade de obtenção dos seus potenciais de aplicação nestes setores são necessárias.

Palavras-chave: Solos antropogênicos. FBN. Diversidade genética. Solubilização de minerais.

Cultivable bacterial community of a Technosols chronosequence in the tropical semi-arid region.

Abstract

Agricultural, industrial, and mining activities promote the removal of layers and the deposition of residues in the soil, which undergo changes resulting in soil formation. In scheelite mining, basins are constructed for the deposition of tailings, which, over time, are revegetated, forming Technosols with characteristics that differ from those of natural soils. Technosols from scheelite mining have nutrient reserves and a progressive increase in organic carbon, whose stock may be higher than that found in other soil classes. Therefore, the construction of Technosols can benefit agriculture, aid in the recovery of degraded pastures, and facilitate carbon fixation. Additionally, bioprospecting may enable the identification of microorganisms that promote soil development and benefit crops, particularly in tropical semiarid regions. Thus, this research had the following objectives: i - to isolate bacteria from a chronosequence of Technosols in different culture media; ii - to evaluate the genetic diversity of isolates obtained from different formation times of Technosols using the 16S rRNA gene. Soil samples were collected in June 2022 at the Brejuí Mine, Rio Grande do Norte, Brazil, a region with a hot semi-arid climate (BSh). Soil profiles were selected from chronosequences of 2, 5, 10, and 40 years, and the tailings were considered as time zero. Three samples were collected from the tailings, and at each time, soil samples were collected from three horizons representative of the soil profile. Bacteria were isolated in different selective media to obtain potential phosphate solubilizers, cellulase producers, and carbon and nitrogen fixers, estimating the number of Colony Forming Units (CFU) per gram of soil and the Most Probable Number (MPN). Next, DNA was extracted from all strains using RBC's HiYield™ Genomic DNA Mini Kit, following the manufacturer's protocol, and they were genotypically characterized by BOX-PCR. Isolates that amplified the BOX were selected for molecular identification by sequencing the 16S rRNA gene. For sequence annotation, similarity analysis was performed using BLAST with the NCBI database. The isolation resulted in the recovery of 378 bacteria from all media and times, with high values of CFU g⁻¹ of soil. Organic Carbon (OC) was the attribute that best explained the variation in populations. Clustering using BOX-A1R amplification revealed that 97.33% of the groups consisted of a single isolate, indicating the high diversity of cultivable bacteria in these soils. Identification using the 16S rRNA gene revealed that the most abundant phyla at all times were Pseudomonadota, Actinomycetota, and Bacillota, respectively. The most abundant genera were *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Stenotrophomonas*, *Pantoea*, *Priestia*, and *Bacillus*, which are associated with nutrient cycling, decomposition of soil organic matter, and mineral solubilization. These results demonstrate that cultivable bacterial communities may have contributed to the formation of Technosols, as they exhibit high genetic diversity and are associated with different functions. In addition, these bacteria may be promising sources of inputs for agriculture, capable of supporting crops in the tropical semiarid region, as well as in biotechnology and industry. However, further research on this collection of isolates is needed to determine their potential applications in these sectors.

Keywords: Anthropogenic soils. BNF. Genetic diversity. Mineral solubilization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa da área de estudo, localizada na Mina Brejuí no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte, com a imagem de satélite da área e dos perfis de solo. Fonte: Adaptado de Silva (2023).....23
- Figura 2** - Isolados obtidos de diferentes perfis de Technossolos, horizontes e meios semi-seletivos.....30
- Figura 3** - Gráficos das regressões em função do tempo e população de bactérias de cada horizonte de Technossolos de uma região semiárida. **a**, **b** e **c**, regressões Log10 UFC em função do tempo para os horizontes superficiais, subsuperficiais e profundos, respectivamente, para os meios NBRIP, CMC e BG-11; $Pr > F$: Probabilidade do valor F ao nível de significância de 5%.....32
- Figura 4** - Distribuição dos isolados obtidos de diferentes perfis e horizontes de uma cronosequência de Technossolos. **a**. porcentagem de isolados obtidos em cada meio seletivo; **b**. distribuição de isolados por horizonte e tempo (perfil).....34
- Figura 5** - Agrupamento BOX-PCR dos 308 isolados de Technossolos construídos por rejeito de mineração de scheelita em uma região semiárida.....36
- Figura 6** - Abundância relativa de Filos (a), Classes (b) e Gêneros (c) das 216 sequências do gene 16S rRNA de isolados bacterianos de quatro perfis (tempo) de Technossolos e amostra de rejeito, e Abundância de Gêneros em relação aos horizontes de cada tempo da cronosequência (d).....46
- Figura 7** - Árvore Filogenética formada a partir do método Neighbour-Joining utilizando o modelo Kimura 2-parametros e teste de bootstrap com 1000 repetições das sequências de referência obtidas no banco de dados do NCBI.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atributos físicos dos horizontes representativos dos tecnossolos formados por rejeitos de mineração de scheelita.....	24
Tabela 2 - Atributos químicos dos horizontes representativos de tecnossolos formados a partir de rejeitos de mineração de scheelita.....	25
Tabela 3 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC g ⁻¹ de solo) para diluição 4 ⁻³ de quatro perfis de tecnossolos, dispostos em cronosequência, no semiárido tropical.....	31
Tabela 4 - Probabilidade do qui-quadrado para tempo e horizontes de cada meio utilizado para isolamento de bactérias dos tecnossolos.....	31
Tabela 5 - Correlação de Pearson e probabilidade para as variáveis UFC g ⁻¹ de solo e atributos físicos e químicos dos tecnossolos.....	33
Tabela 6 - Regressão Linear Múltipla (RLM) realizada para UFC g ⁻¹ de solo e Carbono Orgânico (CO) para os meios NBRIP e CMC, e CO mais H+Al para o meio BG-11.....	34
Tabela 7 - Grupos de estirpes formados pela amplificação do BOX-A1R a 100% de similaridade, ao longo da cronosequência de tecnossolos formados por rejeitos de mineração de scheelita.....	37
Tabela 8 - Índices de diversidade (H'), Dominância (D) e Riqueza (Margalef) estimados a partir dos grupos a 100% de similaridade do BOX-PCR e teste qui-quadrado para os índices ao longo do tempo e horizontes.....	38
Tabela 9 - Identidade molecular dos isolados (SEQ_SIMILAR) de Tecnossolos, obtida por meio do NCBI e análise das sequências parciais do 16S rRNA no programa BLAST com a identificação da sequência de referência (ID_SIMILAR). O acesso as sequências depositadas estão disponíveis na coluna ID_ISOLADO no banco de dados GenBank.....	38
Tabela 10 - Teste qui-quadrado em relação as quantidades de isolados de cada táxon ao longo dos tempos (0, 2, 5, 10 e 40 anos) e horizontes (superficial, subsuperficial e profundo).....	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Hipóteses	14
1.2 Objetivos	14
1.2.1 Objetivo Geral	14
1.2.2 Objetivos Específicos.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Tecnoossosol.....	14
2.2 Mecanismos associados as bactérias	17
2.3 Diversidade da comunidade bacteriana do solo.....	19
2.4 Técnicas de avaliação da diversidade genética de bactérias	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Área de estudo	22
3.2 Isolamento de bactérias	26
3.3 Extração de DNA	27
3.4 BOX-PCR	27
3.5 Sequenciamento do gene 16S rRNA.....	29
3.6 Análise estatística	30
4 RESULTADOS.....	30
5 DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÃO.....	53
7 REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O solo assegura a sobrevivência de diversos seres vivos, como as plantas, a fauna e os microrganismos que obtêm água e nutrientes para o seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, muitos processos e interações entre plantas, fauna e microrganismos ocorrem no solo. Portanto, o solo é um recurso fundamental, a partir do qual são obtidos alimentos e insumos por meio de atividades antrópicas como a agricultura, mineração, indústria e construção, possibilitando a manutenção do crescimento populacional e o avanço tecnológico da sociedade.

Entretanto, as atividades antrópicas também geram impactos negativos ao ambiente, como a contaminação de águas e a redução da biodiversidade, que culminam na degradação do solo. Desta forma, são necessárias alternativas que reduzam esses impactos e que tragam benefícios a sociedade.

A mineração gera muitos resíduos que podem ser depositados no solo. Por exemplo, no beneficiamento do mineral scheelita para a obtenção do tungstênio, apesar de não serem utilizados produtos químicos durante o processo, o volume de rejeitos é elevado e são depositados em bacias construídas que, ao longo do tempo, são revegetadas naturalmente e dão origem a um novo solo com características distintas.

Esses tipos de solos são classificados, como Tecnossolos segundo a *World Reference Base for Soil Resources* (WRB), e podem fornecer serviços ecossistêmicos os quais têm demonstrado um grande potencial para o sequestro de carbono. Além disso, os Tecnossolos também podem apresentar níveis de fertilidade satisfatórios para o cultivo agrícola e de pastagens, sendo os microrganismos um dos fatores que contribuem para o seu desenvolvimento, pois integram processos importantes e estão associados à sucessão da paisagem, viabilizando a evolução dos solos.

A variedade de minerais dos rejeitos depositados que formam os Tecnossolos promove o desenvolvimento de plantas e microrganismos, e estes incrementam biomassa no solo que, ao longo do tempo, eleva os teores de matéria orgânica, favorecendo a biodiversidade e o desenvolvimento do solo. Portanto, as plantas, os microrganismos e a fauna edáfica exercem um papel importante ao longo da formação dos Tecnossolos. Esses solos podem apresentar teores de carbono orgânico consideráveis, com estoques de carbono que podem superar aqueles encontrados em solos naturais.

Além disso, os Tecnossolos podem apresentar uma diversidade singular de microrganismos que atuam em processos diversificados no solo. A construção dos Tecnossolos em áreas degradadas na região semiárida pode permitir a obtenção de estirpes microbianas associadas a mecanismos que promovem o desenvolvimento desses solos e o crescimento de plantas.

As estirpes obtidas de Tecnossolos também podem ser utilizadas na recuperação de áreas degradadas, contribuindo para o cumprimento dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2, 13 e 15, os quais visam proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, além de reverter a degradação da terra e a perda de sua biodiversidade, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU).

Dentre os mecanismos em que os microrganismos podem promover o desenvolvimento do solo e disponibilização de nutrientes para plantas, estão a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), fixação de Carbono, solubilização de fosfatos e atividade celulolítica. A FBN é o processo em que as bactérias disponibilizam nitrogênio em forma assimilável para as plantas, a partir da transformação do N_2 em amônia (NH_3), promovendo o crescimento vegetal e, conseqüentemente, o desenvolvimento do solo. A utilização de CO_2 como fonte de carbono por autotróficos promove o incremento desse elemento nos solos, contribuindo para o estoque de carbono.

A solubilização de fosfatos é outro mecanismo importante, principalmente para solos tropicais ácidos, devido a fixação de fósforo na superfície de minerais, o que tornam o fósforo indisponível para plantas. Neste contexto, bactérias solubilizadoras de fosfato são aliadas na transformação de minerais no solo e na disponibilização de fósforo para as plantas. A síntese de celulases por bactérias celulolíticas é o mecanismo que promove a degradação da biomassa vegetal, conseqüentemente, resultando na disponibilização de nutrientes para o desenvolvimento de plantas.

Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi estudar a comunidade bacteriana cultivável de Tecnossolos formados a partir de rejeitos de mineração de scheelita, localizados na Mina Brejuí-RN, no semiárido brasileiro, relacionando as comunidades bacterianas com os atributos químicos e físicos dos Tecnossolos, avaliando possíveis mudanças nas populações e diversidades ao longo de uma cronossequência (0, 2, 5, 10 e 40 anos). Além disso, criar uma coleção de microrganismos que futuramente possam dar origem a um produto biológico para regiões semiáridas.

1.1 Hipóteses

Os Tecnossolos contêm bactérias cultiváveis capazes de serem isoladas em diferentes meios seletivos para a fixação biológica de nitrogênio, fixação de carbono, solubilização de fosfatos e produção de celulasas;

Tecnossolos mais desenvolvidos e horizontes mais profundos apresentam maior diversidade genética e funcional da comunidade bacteriana cultivável quando comparados aos solos mais jovens e horizontes mais superficiais.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a comunidade cultivável de bactérias de Tecnossolos construídos a partir de rejeitos da mineração de scheelita e caracterizar geneticamente os isolados.

1.2.2 Objetivos Específicos

Isolar bactérias de horizontes representativos superficiais, subsuperficiais e profundos de quatro perfis de Tecnossolos, com 2, 5, 10 e 40 anos de formação, e do rejeito recém depositado, em diferentes meios de cultivo;

Avaliar a diversidade genética das bactérias por meio da amplificação do BOX-A1R e do sequenciamento do gene 16S rRNA;

Relacionar as abundâncias das comunidades bacterianas cultiváveis com os atributos químicos e físicos dos Tecnossolos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tecnossolos

O solo é definido como um corpo natural, tridimensional, contendo parte sólida, líquida e gasosa, ocupando a maior parte da superfície do planeta e ainda pode apresentar modificações antrópicas (EMBRAPA, 2025). O solo é um recurso não renovável, fundamental

para a sobrevivência das espécies. Entretanto, a interferência do homem tem modificado a face do pedon, o perfil do solo (MARAVILLA et al., 2025). Essas modificações podem incluir a retirada de camadas e ou inserção de resíduos no solo, que ao longo do tempo, formam horizontes com características diferenciadas dos solos naturais. Estes solos são denominados de antropossolos, característicos da época geológica do Antropoceno (LEGUÉDOIS et al., 2016).

Segundo a WRB, *World Reference Base for Soil Resources*, os solos que possuem uma grande influência do homem, são subdivididos em duas classes, os Antrossolos (AT), que possuem utilização agrícola longa e intensiva e, os Tecnossolos (TC), que são formados por quantidades definidas de artefatos (WRB, 2022). Os solos que possuem volume $\geq 20\%$ de artefatos, nos 100 cm superiores, com geomembrana ou material técnico duro, podem ser considerados Tecnossolos, obedecendo também a outros critérios propostos (SCHAD, 2018).

Oliveira Filho e Pereira (2023) demonstraram em sua pesquisa que os trabalhos sobre Tecnossolos tiveram crescimento exponencial nos últimos anos, que em sua maioria envolvem os temas de contaminação por metais pesados e remediação, com demanda por trabalhos que envolvam Tecnossolos e a microbiota. Os autores concluíram ainda que a maior concentração de trabalhos sobre esses solos está na Europa, e o Brasil apresenta cerca de 5% do total de publicações, o que demonstra a necessidade de pesquisas sobre Tecnossolos serem mais exploradas no País.

No Brasil, foi publicado pela Embrapa uma proposta de inclusão da ordem dos Antropossolos (CURCIO et al., 2004), porém, até o momento, o Sistema de Classificação de Solos Brasileiro (SIBCs), em sua versão mais atualizada de 2025, ainda não o fez. Nesse contexto, a investigação sobre aspectos físicos, químicos e biológicos desses solos é importante, para que sejam formulados critérios para a classificação e potencialidades no cenário brasileiro.

Em estudos recentes sobre Tecnossolos foram relatados que estes possuem potencial de promover o desenvolvimento sustentável, capazes de sustentar vida, e são reserva de biodiversidade (SANTORUFO et al., 2021), pois apresentam níveis de fertilidade satisfatórios, com índices de qualidade do solo propícios para pastagens, inclusive para o cultivo de alimentos (RUIZ et al., 2020b; ZOCHE et al., 2023).

A construção desses solos é uma alternativa ideal para gestão de resíduos sólidos e na reabilitação de áreas degradadas de minas, pois apresentam rápida recuperação, a depender do

manejo utilizado (COLOMBINI et al., 2022; SORIA et al., 2022). Ademais, novos insumos biológicos também podem ser encontrados nesses solos, como microrganismos adaptados a condições adversas de salinidade e sodicidade, que promovem a melhoria do ambiente para o desenvolvimento de plantas (HUANG et al., 2019).

Além disso, utilizar esses solos para mitigar os impactos das mudanças climáticas e para produção de alimentos é de grande importância, visto que, à medida que a população mundial cresce, a demanda por recursos aumenta, porém o desafio é expandir os recursos reduzindo esses impactos (LEAL FILHO et al., 2022). Sendo assim, os Tecnossolos são uma alternativa para a expansão da agricultura sustentável, aproveitando áreas degradadas e possibilitando o cultivo em poucos anos por apresentarem evolução rápida, com grande potencial para o estoque de carbono, sendo constatado incremento maior que nos solos naturais (ALLORY; SÉRÉ; OUVARD, 2022; CARABASSA et al., 2020; RUIZ et al., 2020c).

A formação de Tecnossolos foi observada na região nordeste brasileira, especificamente, na mina Brejuí localizada no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte (SILVA, 2023), considerada a maior mina de scheelita (CaWO_4) da América do Sul (MINERAÇÃO TOMAZ SALUSTINO, 2023). A etapa de beneficiamento do mineral scheelita gera grande volume de resíduos que são depositados em bacias de rejeitos comumente criadas para comportá-los, a céu aberto. Neste sentido, pilhas de rejeitos são formadas até que a capacidade da bacia é atingida, sendo outras áreas pré-selecionadas para a continuação da deposição (SILVA, 2023).

Normalmente, áreas de depósitos de rejeitos não são aproveitadas para outra atividade econômica, sendo apenas revegetadas, originando Tecnossolos (DOMÍNGUEZ-HAYDAR et al., 2019). Estes depósitos, portanto, passam por modificações promovidas por agentes abióticos, como a precipitação, temperatura e vento, e bióticos, como as plantas, fauna e microrganismos, sendo estes agentes formadores de solo (ZÁDOROVÁ et al., 2025).

Os microrganismos contribuem para o desenvolvimento do solo por meio de vários processos, por exemplo, na formação de agregados, promovida pela liberação de metabólitos, processo que aumenta a porosidade e facilita a infiltração de água no solo (YANG et al., 2022a). Além disso, ácidos orgânicos liberados por esses microrganismos ajudam a solubilizar minerais na rizosfera, tornando os nutrientes disponíveis para as plantas (RUIZ et al., 2020a; RUIZ et al., 2022). Esses processos de alteração físico-química dos solos são fundamentais

para o desenvolvimento acelerado dos Tecnossolos (FROUZ et al., 2013). Deste modo, a pedogênese precoce desses solos, serve de modelo para compreender os efeitos dos organismos na formação do solo, ao longo do tempo (BOUZOUIDJA et al., 2018).

2.2 Mecanismos associados às bactérias

Um dos aspectos que promovem mudanças sucessionais na paisagem e a recuperação de áreas de mineração são os microrganismos do solo. A medida em que há o desenvolvimento da vegetação, é observado maior incremento de matéria orgânica (MO) em solos construídos, assim como, melhores condições de temperatura e umidade, sendo estes fatores associados a elevadas taxas de crescimento de microrganismos (ZHOU et al., 2024a).

Apesar de uma menor atividade microbiana, devido aos estágios de repouso e níveis altos de competição, foi relatado um aumento gradativo no número de bactérias ao longo de 1 a 41 anos de solos formados por pilhas de rejeitos (FROUZ; NOVÁKOVÁ, 2005). No trabalho de Frouz (2001), foi demonstrado que solos jovens de uma cronossequência tiveram maior abundância de algas e cianobactérias em superfície, indicando o desenvolvimento de microrganismos fototróficos, colonizadores primários, que promovem o incremento de nitrogênio e carbono nas camadas mais superficiais do solo. Além disso, a abundância de fototróficos também foi observada em biocrostas de rejeitos de minas, fixando carbono e nitrogênio em solos construídos por rejeitos (XIAO et al., 2022).

Um dos mecanismos mais importantes do planeta é a fixação biológica de nitrogênio (FBN), mediada por microrganismos que proporcionam o incremento desse nutriente nos solos, promovendo o crescimento vegetal e a sustentabilidade na agricultura (AASFAR et al., 2021). Bactérias fixadoras de Nitrogênio podem ser simbióticas, associativas ou de vida livre, sendo críticas para entrada de nitrogênio nos ecossistemas (DAI et al., 2024a). A contribuição global dos diazotróficos de vida livre é estimada em $73,9 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ em ecossistemas terrestres, enquanto em áreas agrícolas a taxa média é de cerca de $372 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, o que demonstra a importância dos diazotróficos no fornecimento de nitrogênio para cultivos (LIAO et al., 2025).

Além de proporcionar economia, pois diminui o custo de aquisição de fertilizantes, a FBN é um processo ambientalmente positivo, reduzindo o uso de adubos químicos que, com a aplicação prolongada ou em alta dose, os quais podem ocasionar a poluição de lagos, rios e lençóis freáticos (CHAI et al., 2023). Entretanto, existem fatores que influenciam as taxas de

fixação de N de vida livre, por exemplo, a disponibilidade de fósforo, sendo a FBN estimulada pelas adições desse nutriente (DYNARSKI; HOULTON, 2018).

Em regiões de clima tropical, a adsorção de fósforo é um problema que limita a disponibilização e absorção desse nutriente pelas plantas (CAMPOS; ANTONANGELO; ALLEONI, 2016). Portanto, altas doses de fertilizantes fosfatados são requeridos, porém o preço deste insumo tem elevado os custos de produção nos últimos anos (SHAHWAR et al., 2023). Alternativamente, existem inoculantes comerciais que combinam estirpes de *Bacillus*, que solubilizam fosfato, disponibilizando o fósforo, por exemplo, na cultura do milho (BRITO et al., 2022; LIMA; BUSO, 2022). Este mecanismo, promovido por bactérias solubilizadoras, promovem a transformação de minerais, principalmente por meio da liberação de ácidos orgânicos, disponibilizando o fósforo estável e insolúvel, ligado ao Fe-P e Al-P, e ao Ca-P, para as plantas (ZHU et al., 2018).

No entanto, outros mecanismos estão associados as solubilizadoras de fosfato, por exemplo, quando disponível NH_4^+ (amônio) as bactérias utilizam esse íon para síntese de aminoácidos e liberam prótons que promovem a acidificação do solo e a solubilização de fosfato insolúvel (CHENG et al., 2023). Outro mecanismo é a liberação de exopolissacarídeos que possuem diversos grupos funcionais aniônicos que podem quelar íons metálicos como o Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} reduzindo cátions fosfatos fixados no solo disponibilizando o íon fosfato (LI et al., 2023).

Além do incremento e disponibilização de nitrogênio e fósforo no solo, as bactérias utilizam diversas fontes de carbono para o seu crescimento, como a celulose, que é degradada por meio de enzimas extracelulares, resultando na liberação de carbono na forma de glicose (LIU et al., 2021). Estas enzimas promovem a degradação da biomassa vegetal, que por sua vez, disponibiliza nutrientes, propiciando o desenvolvimento da vegetação e do solo. Além disso, as enzimas microbianas podem contribuir para a germinação de sementes e na floração (RANJAN et al., 2023).

As celulasas são enzimas responsáveis pela hidrólise da celulose em glicose e compreendem a ação em conjunto da Endoglucanases, Exoglucanase ou Celobiohidrolase e a β -glicosidase, as quais são aplicadas em diversos fins na indústria, sendo ainda necessário a prospecção de microrganismos promissores na produção dessas enzimas (BHARDWAJ et al., 2021). Em um estudo com espécies de *Bacillus* obtidas de regiões hiperáridas, com valores de pH extremos, temperaturas elevadas e salinidade, estas bactérias foram positivas para

produção de celulases e apresentaram maior eficiência do que cepas comerciais (SOUII et al., 2020).

Uma outra fonte de carbono utilizada por bactérias no solo é o dióxido de carbono (CO_2). A assimilação do CO_2 como fonte de carbono por bactérias autotróficas desempenha papel importante no incremento de carbono nos solos. Particularmente, em climas semiáridos e áridos, esse processo é relevante pois as fontes de carbono são escassas, o que contribuiu de forma eficaz para o sequestro de carbono nesses solos (BU et al., 2023; ZHAO et al., 2021).

Portanto, assim como em solos naturais, solos construídos a partir de rejeitos de mineração podem apresentar bactérias que promovem o incremento de nitrogênio e carbono, solubilização de minerais e decomposição da MO, sendo esses mecanismos importantes na disponibilização de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento da vegetação (GOMES et al., 2022).

2.3 Diversidade da comunidade bacteriana do solo

As comunidades bacterianas desempenham papéis fundamentais no solo, sendo as estruturas e funções dessas comunidades indicadores do estado de saúde e do conjunto de nutrientes do solo (JAGADESH et al., 2024). O estudo da diversidade de comunidades bacterianas é importante para entender o funcionamento do ecossistema solo, além de auxiliar na compreensão das interações e funções desempenhadas por esses microrganismos (BRUSSAARD, 2007).

A diversidade das comunidades bacterianas no solo é influenciada por diversos fatores, relacionados ao clima, mudança no uso da terra, vegetação, material de origem, e profundidade (STEVEN et al., 2013; GENG et al., 2020; JIAO et al., 2018), além das atividades humanas, as quais promovem alterações na diversidade de microrganismos do solo e causam impactos nessas comunidades (RILLIG et al., 2019).

As variações climáticas proporcionam diferentes ambientes, por exemplo, chuva escassa e alta evaporação são fatores que originam solos salinos alcalinos, os quais podem apresentar dominância dos filos Bacillota, Pseudomonadota e Actinomycetota, respectivamente (KESHRI et al., 2013). Porém, Viruel et al. (2022) observaram que o padrão de uso da terra foi determinante para a estrutura e função das comunidades de bactérias em

uma região semiárida, onde Bacillota, Pseudomonadota e Actinomycetota foram abundantes em pastagens e agricultura (VIRUEL et al., 2022).

A mudança no uso da terra confere alterações nas estruturas das comunidades, no entanto, diferentes sistemas baseados em florestas podem não apresentar diferenças para diversidade, sendo constatado em três tipos de uso da terra, agricultura, agrofloresta e floresta que os filos Pseudomonadota, Actinobacteriota e Acidobacteriota foram responsáveis pela maior parte da comunidade bacteriana (ANSARI et al., 2023). Já em pastagens, após a exclusão do pastoreio dominaram: Acidobacteriota, Actinobacteriota, Pseudomonadota, Bacteroidota e Planctomycetota, com outros filos em menor proporção (WANG et al., 2023).

Além dos diferentes usos da terra, outro fator que molda a diversidade é a profundidade do solo. Em camadas profundas de solos florestais e de pastagens restauradas, a diversidade foi maior do que em camadas profundas de áreas agrícolas, indicando que a menor perturbação e a penetração de raízes promoveram a abundância dos filos Actinomycetota, Pseudomonadota, Chloroflexota e Acidobacteriota (YANG et al., 2022b). Ainda, em outro trabalho, foi constatado que α -proteobacteria persistiram em profundidades elevadas, com escassez de carbono, pois são adaptadas a solos com poucos recursos e profundos (LIU et al., 2020).

A adaptação é necessária para as comunidades bacterianas do solo, pois muitas atividades humanas geram estressores ambientais que influenciam a diversidade e funções dessas comunidades (DINESH et al., 2023). Mudanças climáticas, aplicação de fertilizantes e contaminantes diminuíram a riqueza e diversidade, com mudanças significativas nas estruturas de comunidades bacterianas do solo, devido as estratégias de sobrevivência e diferentes funções como resposta aos estresses, com a abundância de Pseudomonadota aumentando com o número de estresses ambientais e Acidobacteriota e Chloroflexota diminuindo (WU et al., 2024).

Em geral, Pseudomonadota e Actinomycetota são filos comumente encontrados em solos. As Actinobactérias estão associadas a papéis ecofisiológicos importantes, na decomposição de resíduos vegetais, fixação de nitrogênio e produção de antibióticos (BAO et al., 2021), enquanto Pseudomonadota são diversas metabolicamente, habitando solos superficiais com muitos recursos, assim como em profundidades superiores, com poucos recursos. Esse filo está associado a fixação de nitrogênio e aos ciclos biogeoquímicos, dentre

outras funções que promovem o desenvolvimento do solo (BUKAR et al., 2019; PAJARES; BOHANNAN, 2016).

2.4 Técnicas de avaliação da diversidade genética de bactérias

A avaliação da diversidade da microbiota avançou consideravelmente com o desenvolvimento de técnicas moleculares nas últimas décadas. Carl Woese, em 1970, descobriu as sequências de RNA ribossomais (rRNA) e os seus genes, como ferramentas que inferem relações evolutivas entre seres-vivos e que podem ser utilizadas na classificação taxonômica dos organismos e (FOX et al., 1977; WOESE, 1987). Essa descoberta, revolucionou os estudos filogenéticos dos organismos, sendo amplamente utilizado o SSU rRNA (RNA ribossomal da subunidade menor) para classificação de procariotos e eucariotos, pois trata-se de uma região conservada e de tamanho adequado (EDWARDS et al., 1989).

Atualmente, o gene 16S rRNA é muito utilizado em diversos trabalhos que envolvem a identificação taxonômica de bactérias (ANTUNES et al., 2017; DAR et al., 2018; SHARMA et al., 2023). Uma outra ferramenta utilizada no estudo de populações bacterianas é o BOX-PCR, consistindo em um método de rastreio de fontes microbianas (MISHRA et al., 2015). Por meio do iniciador BOX-A1R, são identificados elementos repetitivos, que são utilizados para obtenção de impressões digitais do DNA (DOMBEK et al., 2000; NACARIO et al., 2022), sendo possível a formação de grupos de similares, nas quais são escolhidos isolados para identificação e caracterização, por meio do 16S rRNA (ITURRALDE et al., 2019).

Essas técnicas requerem a utilização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual é possível amplificar o 16S rRNA, como também genes funcionais presentes no DNA de microrganismos, possibilitando a amplificação de um gene que codifica para uma proteína ou enzima, que participa de algum processo importante no ambiente (SMITH; OSBORN, 2009). A PCR é amplamente utilizada nos estudos de diversidade e das relações entre populações microbianas e o ambiente abiótico, proporcionando respostas sobre o funcionamento deste (DAHLLÖF, 2002).

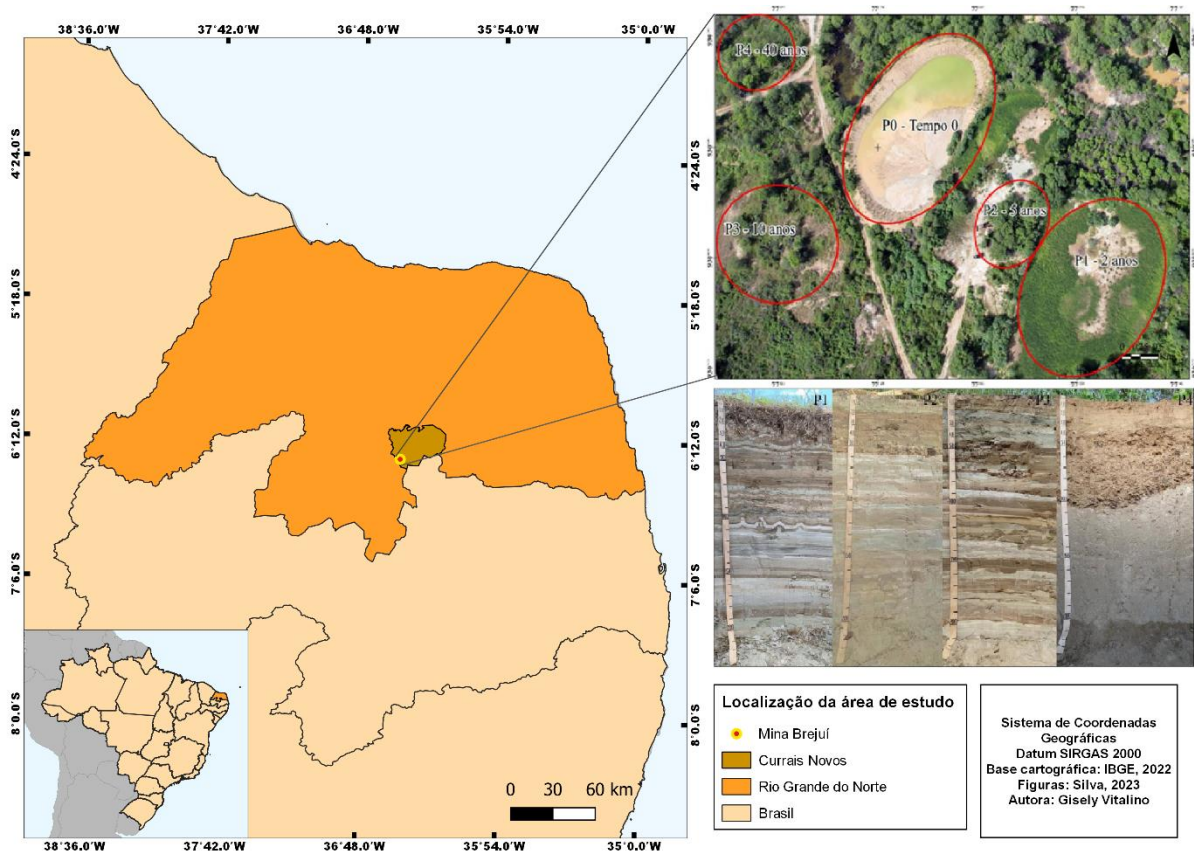
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

As áreas de estudo representam uma cronossequência de 2, 5, 10 e 40 anos, mais o tempo zero, que consiste em pilhas de rejeito recém-formadas, totalizando cinco áreas. As amostras de solo foram coletadas em junho de 2022, no perfil de solo de cada cronossequência. Foram coletadas três repetições de cada horizonte que compõe o perfil de solo. Em seguida, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo da UFRPE, sendo armazenadas a -80 °C. Posteriormente, três horizontes representativos de cada perfil de solo foram selecionados para obtenção dos isolados, com base no trabalho de Silva (2023).

Os perfis de solo estão localizados na Mina Brejuí (6°19'19" Sul e 36°32'52" Oeste), no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte (Figura 1). O clima da região é classificado como BSh, semiárido quente, com vegetação de caatinga hiperxerófila (ALVARES et al., 2013). Os Technossolos estão classificados como Spolic Technosol, segundo a WRB/FAO, com mais de 20 % de artefatos até 100 cm, estão enquadrados nos qualificadores, Alcalic, Calcic, Loamic, com diferenças no teor de carbono orgânico. Os perfis de 2, 5 e 10 anos possuem teor de Carbono Orgânico do Solo (COS) ≥ 1 % (Humic), enquanto o perfil de 40 anos apresenta COS ≥ 5 % (Hyperhumic) (SILVA, 2023).

Figura 1 - Mapa da área de estudo, localizada na Mina Brejuí no município de Currais Novos, Rio Grande do Norte, com a imagem de satélite da área e dos perfis de solo.



Fonte: Adaptado de Silva (2023).

Os solos possuem textura franca arenosa na maior parte dos horizontes, com predomínio de areia fina em todos os perfis, ausência de argila dispersa em água e grau de floculação de 100 %. A densidade do solo varia entre os horizontes, conforme mostra a Tabela 1. Quanto a composição química, todos os perfis possuem elevados teores de carbonato de cálcio (CaCO_3), $\text{pH} > 8,5$ e argila de atividade alta. Os horizontes também possuem grandes quantidades de Ca e Mg, com alguns apresentando caráter salino, devido a condutividade elétrica acima de 4 dS m^{-1} , demonstrada na Tabela 2.

Tabela 1 - Atributos físicos dos horizontes representativos dos tecnossolos formados por rejeitos de mineração de scheelita.

Horizonte/Prof (cm)	Cascalho (%) (20-2 mm)	Granulometria (Kg dm ⁻³)			Densidade		P (%)
		Areia (2-0,05 mm)	Silte (0,05-0,002 mm)	Argila (<0,002 mm)	Solo	Partícula	
					kg dm ⁻³		
Tempo zero							
T0	0	762	67	171	-	2,91	-
Perfil 1 – Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (2 anos)							
A: Auk (0-7)	0	683	194	122	1,13	2,48	54
B: 5Cukz4 (30-46)	0	157	382	461	1,34	2,54	47
C: 9Cuk8 (70-98)	0	154	572	274	1,26	2,55	51
Perfil 2 – Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (5 anos)							
A: Auk1 (0-5)	0	774	147	79	1,44	2,56	44
B: 3Cukz2 (22-43)	0	627	218	155	1,52	2,57	41
C: 6Cuk5 (86-120)	0	843	78	79	1,44	2,85	50
Perfil 3 – Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (10 anos)							
A: Auk (0-9)	0	651	218	131	1,34	2,49	46
B: 4Cuk3 (40-64)	0	745	125	130	1,38	2,59	47
C: 7Cuk6 (87-105)	0	694	227	80	1,31	2,65	51
Perfil 4 – Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Hyperhumic) (40 anos)							
A: Auk (0-10)	0	576	354	71	1,47	2,71	46
B: 2Cuk1/Cuk2 (33-88)	0	349	264	387	1,73	2,63	34
C: 3Cukz (88-150+)	2,92	744	135	121	1,64	2,74	40

Prof – Profundidade; P – Porosidade. Fonte: Adaptado de Silva (2023)

Tabela 2 - Atributos químicos dos horizontes representativos de tecnossolos formados a partir de rejeitos de mineração de scheelita.

Horizonte/Prof (cm)	pH	Ca	Mg	Na	K	Al	SB	H+Al	CTC	PST	Pdisp	CaCO ₃	CO	EC	CE
	1:2,5									%	mg kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	Mg ha ⁻¹	dS m ⁻¹
T0 - Tempo Zero															
T0	8,79	5,29	1,35	0,22	0,05	0,00	6,91	1,32	6,91	3,12	16,70	124,94	7,2	-	3,16
Perfil 1 - Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (2 anos)															
Auk (0-7)	9,04	13,30	3,58	0,64	0,62	0	18,14	1,68	18,14	3,50	1,40	124,81	15,70	12,42	1,08
5Cukz4 (30-46)	8,45	19,02	4,72	0,59	0,13	0	24,46	0,94	24,46	2,43	0,51	124,94	11,83	9,52	5,06
9Cuk8 (70-98)	8,62	9,74	2,96	0,32	0,12	0	13,14	1,42	13,14	2,47	0,73	124,88	12,15	42,72	2,97
Perfil 2 - Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (5 anos)															
Auk1 (0-5)	8,77	4,37	1,12	0,15	0,11	0	5,76	1,73	5,76	2,65	3,37	124,94	23,84	17,19	1,17
3Cukz2 (22-43)	8,38	19,90	1,07	0,19	0,07	0	21,24	1,83	21,24	0,91	0,91	124,94	7,77	24,75	4,26
6Cuk5 (86-120)	8,77	4,51	0,34	0,15	0,03	0	5,04	1,90	5,04	2,90	0,72	124,75	5,87	28,68	3,41
Perfil 3 - Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Humic) (10 anos)															
Auk (0-9)	8,75	9,06	1,94	0,10	0,46	0	11,56	2,67	11,56	0,85	5,71	124,81	41,57	50,04	0,65
4Cuk3(40-64)	8,56	8,30	0,98	0,25	0,06	0	9,59	2,24	9,59	2,61	10,66	124,94	8,47	27,98	3,96
7Cuk6 (87-105)	8,55	6,19	1,69	0,21	0,06	0	8,16	2,24	8,16	2,63	3,06	124,88	9,06	21,29	3,89
Perfil 4 - Spolic Technosol (Loamic, Alcalic, Calcic, Hyperhumic) (40 anos)															
Auk (0-10)	8,31	6,63	1,51	0,36	0,43	0	8,93	3,08	8,93	4,00	61,61	114,75	67,77	99,65	1,04
2Cuk1/Cuk2 (33- 88)	8,73	25,68	7,23	0,49	0,13	0	33,53	2,30	33,53	1,47	2,84	120,44	15,08	143,18	0,94
3Cukz (88-150) +	8,38	6,99	2,04	0,37	0,09	0	9,50	2,39	9,50	3,87	1,05	124,88	8,64	88,03	6,11

(Prof) – Profundidade; (S.B.) – Soma de Bases; (CTC) – Capacidade de troca de cátions a pH 7; (Pdisp) – Fósforo disponível; (PST) – Percentual de Sódio Trocável; (CO) – Carbono Orgânico; (EC) – Estoque de carbono; (CE) – Condutividade Elétrica. Fonte: Adaptado de Silva (2023).

3.2 Isolamento de bactérias

Para a obtenção dos isolados de cada horizonte representativo dos perfis de 2, 5, 10 e 40 anos, e da pilha de rejeitos recém exposta (tempo zero) foi utilizado o método de diluição seriada, na proporção 1:3 (m:v) de amostra de solo e solução salina (NaCl 0,85%) autoclavada, sendo agitada a 150 rpm, durante 1 hora. Logo após, com o auxílio de uma pipeta, 1 mL da suspensão foi retirada e colocada em tubos com 3 mL de solução salina autoclavada, em seguida foi retirado do tubo 1 mL e pipetado para outro tubo, resultando em diluições de 4^{-2} , 4^{-3} e 4^{-4} .

Para o isolamento e determinação de população foram utilizados os meios semi-seletivos para fixação biológica de N, solubilização de P, produção de celulase e fixação de carbono. Alíquotas de 100 μ L das diluições foram inoculadas em tubos tipo penicilina com 5 mL do meio semissólido NFb, livre de nitrogênio (DOBEREINER; ANDRADE; BALDANI, 1999), sendo incubados a 28 °C em estufa bacteriológica, por um período de quatro a sete dias, após o qual foi determinado o número mais provável de bactérias, utilizando a tabela de McCrady (DOBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995) para três diluições, somente para os tubos que tiveram formação de película aerotóxica em forma de véu.

Para o isolamento de bactérias solubilizadores de fosfato, produtores da enzima celulase e autotróficos foram utilizados os meios sólidos NBRIP (NAUTIYAL, 1999), CMC ágar (ARIFFIN et al., 2006) e BG-11 (RIPPKA et al., 1979), respectivamente. Alíquota de 100 μ L das diluições foi utilizada, sendo espalhada no meio com auxílio da alça de drigalski. Após o crescimento, foi calculada a UFC g^{-1} de solo (Unidade Formadora de Colônia) por meio da contagem de colônias, para o cálculo foi utilizado a Equação 1.

Equação 1

$$UFCg^{-1} de solo = \frac{((NC \times FD) + VP) \times VSS}{MS}$$

Em que:

NC = Número de colônias; FD = Fator de diluição (sinal positivo); VL = Volume pipetado (mL); MS = Massa de solo

Os tubos com meio NFb que apresentaram formação de película e as placas com os meios sólidos que apresentaram crescimento foram utilizados na purificação em meio sólido YMA acrescido de azul de bromotimol como indicador de mudança de pH do meio, a temperatura de crescimento, foi ajustada à 28 °C. Após 72 horas, constatado o crescimento,

foram armazenadas a 4 °C (HUNGRIA; ARAUJO, 1994). Por meio da observação de mudança de coloração do meio, os isolados foram classificados quanto ao pH, em que, o meio amarelado indica que a bactéria é acidófila, o meio azulado, bactéria basófila e não alterando a cor do meio (esverdeada) neutrófila.

A purificação, etapa de obtenção da colônia pura, foi realizada utilizando o meio YMA (Yeast Manitol Agar). As colônias foram selecionadas por meio de diferenças morfológicas e inoculadas no meio com auxílio de alça. Ainda, para as solubilizadoras de fosfatos as colônias que formaram halo de solubilização assim como as que não formaram foram purificadas. Para as fixadoras de nitrogênio, inicialmente foram retiradas com alça parte da película dos tubos positivos e inoculadas no meio, após o crescimento, houve a purificação.

3.3 Extração de DNA

Previamente à extração de DNA, o teste de gram foi realizado por meio do método de KOH a 3% (MOALEDJ, 1986). Para isso, foram inoculados em 5 mL do meio de cultura TSB (30 g L⁻¹), e agitados a 180 rpm por 72 horas em temperatura de 28 °C. Após o crescimento, uma alíquota de 2 mL de suspensão de meio de cultura mais bactérias foi centrifugada à 7500 rpm por 2 minutos. Após a separação do pellet (células bacterianas), o sobrenadante foi descartado, sendo o pellet utilizado na extração de DNA.

Para extração de DNA dos isolados, foi utilizado o kit de extração HiYield™ Genomic DNA Mini Kit da RBC, seguindo o protocolo do fabricante. As amostras de DNA genômico extraídas foram armazenadas em freezer à -20 °C. Para avaliar a integridade do DNA, foi realizado a eletroforese em gel de agarose à 1 %, imerso em tampão TBE (Tris Base, Ácido bórico, EDTA) a 0,5 %, os produtos da extração foram corados com Syber Green e adicionado tampão de carregamento (LB) com glicerol. As amostras foram colocadas em poços no gel, a 100V por 30 minutos, sendo a visualização realizada em transluminador.

3.4 BOX-PCR

As bactérias foram caracterizadas genotipicamente utilizando o iniciador BOX A1R (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') (WOODS et al., 1993). A reação de amplificação ocorreu em termociclador com volume final de 10 µL contendo: 1 µL de DNA molde, 2 pmol do iniciador (BOX A1R), 0,3 mM de dNTP, 1 µL de tampão 10X e 1,5 U de

Taq polimerase. Após desnaturação à 95 °C por 9 min, à amplificação do DNA foi realizada em 30 ciclos de desnaturação à 94 °C por 1 minuto, anelamento à 55 °C por 1 minuto e extensão à 72 °C por 5 minutos e uma extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Os produtos amplificados foram separados por eletroforese a 100V por 180 minutos, em gel de agarose a 1,2 %, imerso em Tampão TBE a 0,5 %. As amostras foram coradas com Syber Green e adicionado tampão de carregamento (LB), um padrão molecular de 100pb também foi adicionado no gel para comparação. Ao final, o gel foi visualizado em transluminador, para obtenção de imagens. Os padrões de bandas baseados na mobilidade dos fragmentos de DNA no gel foram utilizados na análise de agrupamento hierárquico, utilizando o programa gelj.v2. Os parâmetros adotados para esta análise foram, coeficiente de Jaccard e algoritmo UPGMA (HERAS et al., 2015; DELAMUTA et al., 2017), sendo obtidos dendrogramas para selecionar estirpes diferentes com base no índice de similaridade a 100 %.

Foram calculados os índices de diversidade de Shannon-Weaver (H') utilizando a equação 2 (SHANNON; WIEVER, 1949), dominância de Simpson (D) por meio da equação 3 (SIMPSON, 1949) e riqueza de espécies de Margalef com a equação 4 (MARGALEF, 1973) para cada tempo, utilizando os grupos formados a 100% de similaridade pelo BOX-PCR.

Equação 2

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i * \ln(p_i)$$

H' = Índice de diversidade de Shannon;

S = Número total de estirpes;

pi = proporção de indivíduos das estirpes i em relação ao total de indivíduos

ln = logaritmo natural

Equação 3

$$D = \sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)} \right)$$

D = Dominância de Simpson;

ni = número de indivíduos da estirpe;

N = número total de indivíduos de todas as estirpes;

$p_i = \left(\frac{n_i}{N}\right)$ proporção da estirpe i ;

S = número total de estirpes

Equação 4

$$D_{Mg} = \frac{S - 1}{\ln(N)}$$

D_{Mg} = Índice de margalef;

S = número total de estirpes observadas (riqueza);

N = número total de indivíduos na amostra;

$\ln$ = logaritmo natural

3.5 Sequenciamento do gene 16S rRNA

Os isolados que amplificaram o BOX-A1R foram selecionados para amplificação do gene 16S rRNA, e posteriormente para sequenciamento, a partir do conjunto de primers 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1492R (5'TACGGTTAACCTTGTTACGACTT-3') (LANE, 1991). A reação de amplificação teve volume final de 50 μ L, sendo composta por: 2 μ L de DNA (20-30 ng. μ L⁻¹), 1,5 mM de MgCl₂, 1X de tampão para PCR, 0,2 mM de dNTP, 0,4 μ M de cada primer (27F e 1492R), 3U de Taq DNA Polimerase e água Mili-Q para completar a reação.

As condições para a reação de amplificação são descritas a seguir: Desnaturação inicial de 94 °C, por 3 min, e 30 ciclos de desnaturação à 94 °C, por 45 segundos; Anelamento à 56 °C, por 30 segundos; Extensão, com 72 °C, por 2 minutos e extensão final de 72 °C, por 7 minutos. Após a reação, os produtos amplificados foram avaliados em gel de agarose à 1 % e visualizados sob luz UV. Posteriormente, os produtos da PCR foram purificados por meio do kit QIAquick® e quantificados para estabelecer um padrão de 10 a 40 ng μ L⁻¹. As amostras purificadas e quantificadas foram sequenciadas pelo método de Sanger por separação eletroforética em capilar em um sequenciador modelo ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), os dados do sequenciamento foram coletados com o *software Data Collection* (Applied Biosystems) no laboratório Central (LabCen) da Universidade Federal de Pernambuco.

Cada isolado teve a sequência submetida à análise de similaridade pelo algoritmo BLAST. Por meio do banco de dados NCBI, foram determinadas as identidades moleculares

das sequências obtidas. Essas sequências também foram alinhadas segundo o método de múltipla progressão de ClustalW no programa MEGA versão 12.0.11 (KUMAR et al., 2016). Os valores de similaridades e matriz de distância foram obtidos pelo modelo Kimura 2-parâmetros, sendo utilizados na construção da árvore filogenética. A classificação taxonômica foi obtida por meio da Lista de Nomes Procariontes com Posição na Nomenclatura (LPSN).

3.6 Análise estatística

Foram realizados testes qui-quadrado para os tempos e horizontes, assim como regressões para avaliar a UFC ao longo do tempo. Também foi feita análise de correlação de Pearson para os atributos químicos e físicos dos solos em relação a UFC g⁻¹ de solo, e análise de regressão múltipla para as correlações significativas no software SAS OnDemand for Academics.

4 RESULTADOS

Foram obtidas colônias em todos os meios e para todas as diluições (Figura 2), exceto para o NFb em que foram obtidos tubos com crescimento e formação de película apenas para diluição 4⁻² das amostras dos horizontes superficiais dos tempos 2 e 5 anos (Tabela 3), não havendo diferença significativa entre horizontes ou tempos de acordo com o teste de qui-quadrado (Tabela 4).

Figura 2 - Isolados obtidos de diferentes perfis de Tecnossolos, horizontes e meios semi-seletivos.

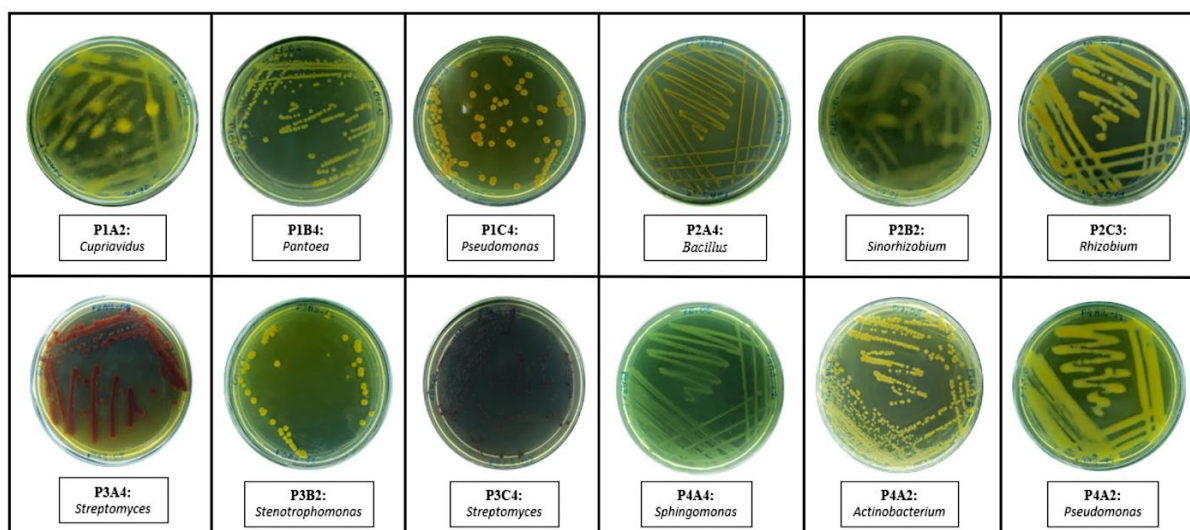


Tabela 3 - Unidades Formadoras de Colônias (UFC g⁻¹ de solo) para diluição 4⁻³ de quatro perfis de Tecnoossolos, dispostos em cronossequência, no semiárido tropical.

Meio	Horizontes	Tempo zero	Perfis			
			2 anos	5 anos	10 anos	40 anos
NBRIP	A	2,88x10 ⁴	1,43x10 ⁵	3,28x10 ⁵	5,01x10 ⁵	5,45x10 ⁵
	B		2,12x10 ⁵	2,54x10 ⁵	1,94x10 ⁵	1,09x10 ⁵
	C		1,78x10 ⁵	1,04x10 ⁵	4,10x10 ⁵	6,08x10 ⁴
CMC	A	1,40x10 ⁵	1,61x10 ⁵	2,76x10 ⁵	5,43x10 ⁵	7,12x10 ⁵
	B		2,23x10 ⁵	2,55x10 ⁵	1,70x10 ⁵	1,35x10 ⁵
	C		1,64x10 ⁵	1,64x10 ⁵	3,97x10 ⁵	7,42x10 ⁴
BG-11	A	4,10x10 ⁴	1,30x10 ⁵	1,77x10 ⁵	5,51x10 ⁵	6,32x10 ⁵
	B		2,46x10 ⁵	1,50x10 ⁵	2,81x10 ⁵	2,98x10 ⁵
	C		8,38x10 ⁴	6,72x10 ⁴	5,68x10 ⁵	8,96x10 ⁴
NFb	A	-	*6,4x10	*1,76x10 ⁴	-	-
	B		-	-	-	-
	C		-	-	-	-

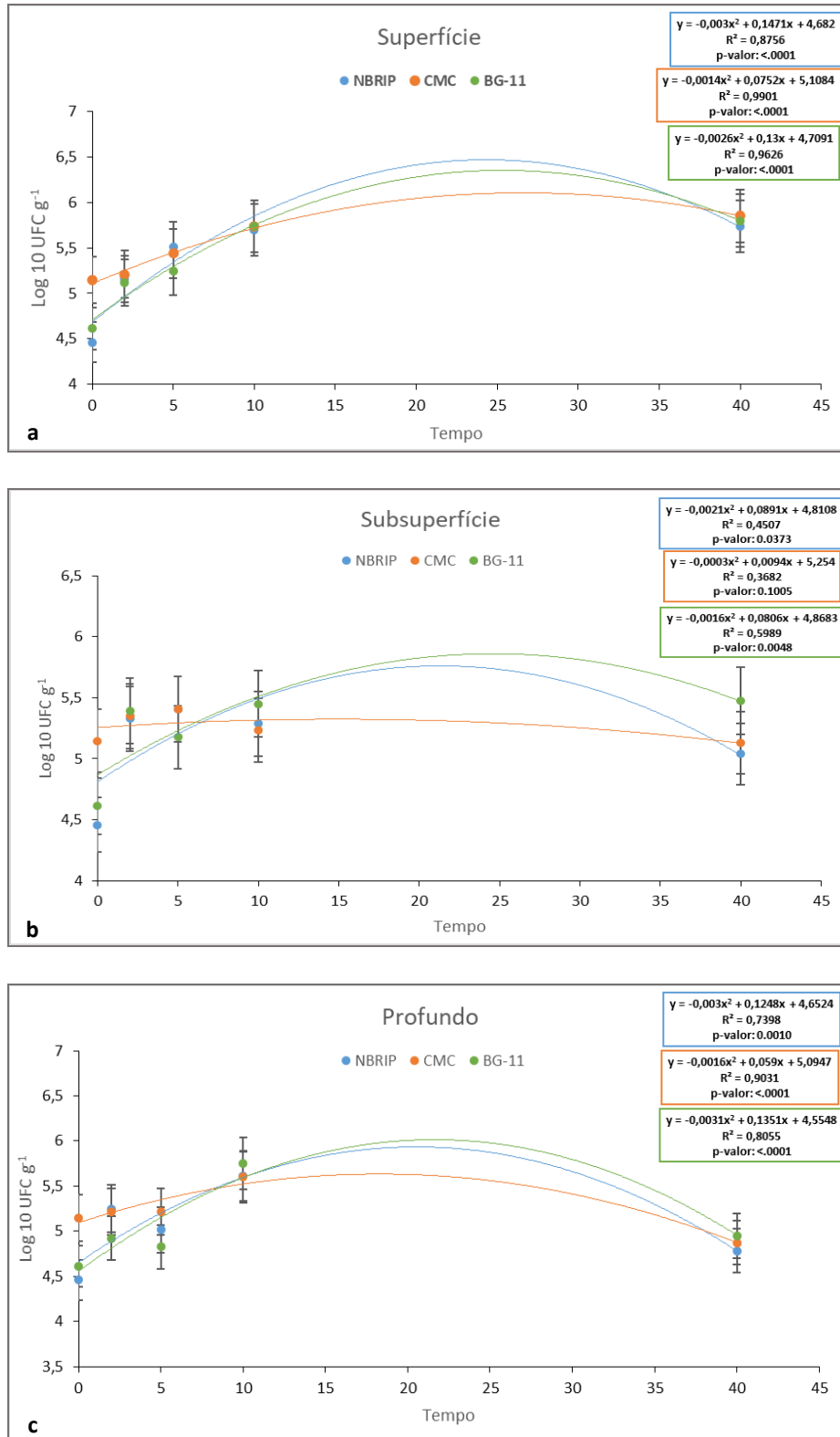
A – horizonte superficial; B – horizonte subsuperficial; C – horizonte profundo. *Valores de UFC g⁻¹ de solo para diluição 4⁻². NBRIP: meio para solubilizadoras de fosfato; CMC: meio para bactérias celulolíticas; BG-11: meio para fixadoras de carbono e NFb: meio para fixadoras de nitrogênio.

Tabela 4 - Probabilidade do qui-quadrado para tempo e horizontes de Log 10 UFC g⁻¹ de solo.

	NBRIP	CMC	BG-11
Tempo	0,998027	0,999918	0,998723
Horizontes	0,995671	0,996135	0,995729

As análises de regressão para população ao longo do tempo, em relação a cada horizonte, e os diferentes meios seletivos, resultou em nove modelos de regressões, sendo oito significativos e um com p-valor acima do nível de significância a 5 %. Há um aumento progressivo da população nos horizontes superficiais até os 10 anos com tendência a diminuir aos 40 anos (Figura 3).

Figura 3 - Gráficos das regressões em função do tempo e população de bactérias de cada horizonte de Tecnosolos de uma região semiárida. **a**, **b** e **c**, regressões Log10 UFC em função do tempo para os horizontes superficiais, subsuperficiais e profundos, respectivamente, para os meios NBRIP, CMC e BG-11.



A análise de correlação de Pearson entre as populações e os atributos químicos e físicos dos solos apresentou efeito significativo para teor de carbono orgânico, acidez potencial e fósforo disponível para todos os meios. Os meios CMC e BG-11 apresentaram correlações significativas com CaCO_3 . Além disso, as correlações foram positivas e elevadas ($R > 0,70$), com o CO apresentando valores acima de 0,70 para todos os meios, enquanto acidez potencial, fósforo disponível e CaCO_3 apresentaram correlações maiores que 0,50 (Tabela 5).

Quanto à análise de variância de regressão múltipla (Tabela 6) todos os modelos foram significativos, com os meios NBRIP, CMC e BG-11 apresentando R^2 ajustado de 57%, 75% e 43%, respectivamente. Portanto, com base na regressão múltipla, a variável CO explicou a maior parte da variação da população de todos os meios, sendo a acidez potencial relevante para a população do meio BG-11.

Tabela 5 - Correlação de Pearson (R) e probabilidade (p-valor) para as variáveis UFC g^{-1} de solo e atributos físicos e químicos dos Tecnossolos.

Atributos dos solos	Meio					
	NBRIP		CMC		BG-11	
Areia	R: 0,00581	p-valor: 0,9850	R: 0,03746	p-valor: 0,9033	R: -0,03922	p-valor: 0,8988
Silte	R: 0,27890	p-valor: 0,3561	R: 0,23690	p-valor: 0,4358	R: 0,21127	p-valor: 0,4884
Argila	R: -0,32271	p-valor: 0,2822	R: -0,33388	p-valor: 0,2649	R: -0,16272	p-valor: 0,5953
D. Solo	R: -0,21365	p-valor: 0,5049	R: -0,13509	p-valor: 0,6755	R: -0,03872	p-valor: 0,9049
D. Partícula	R: -0,38149	p-valor: 0,1984	R: -0,16184	p-valor: 0,5973	R: -0,24703	p-valor: 0,4158
Porosidade	R: 0,15977	p-valor: 0,6199	R: 0,13217	p-valor: 0,6822	R: 0,01209	p-valor: 0,9702
pH	R: -0,29744	p-valor: 0,3237	R: -0,30963	p-valor: 0,3032	R: -0,31013	p-valor: 0,3024
Ca	R: -0,18565	p-valor: 0,5437	R: -0,21809	p-valor: 0,4741	R: -0,03749	p-valor: 0,9032
Mg	R: -0,23050	p-valor: 0,4487	R: -0,23608	p-valor: 0,4374	R: 0,02661	p-valor: 0,9312
SB	R: -0,19665	p-valor: 0,5196	R: -0,22170	p-valor: 0,4666	R: -0,01801	p-valor: 0,9534
H+Al	R: 0,56303	p-valor: 0,0451	R: 0,61548	p-valor: 0,0251	R: 0,68866	p-valor: 0,0092
CTC	R: -0,19665	p-valor: 0,5196	R: -0,22170	p-valor: 0,4666	R: -0,01801	p-valor: 0,9534
PST	R: -0,17735	p-valor: 0,5622	R: -0,04774	p-valor: 0,8769	R: -0,13148	p-valor: 0,6685
Pdisp	R: 0,50554	p-valor: 0,07228	R: 0,70228	p-valor: 0,0074	R: 0,53165	p-valor: 0,0615
CaCO_3	R: -0,43700	p-valor: 0,1354	R: -0,60972	p-valor: 0,0269	R: -0,55156	p-valor: 0,0507
CO	R: 0,77948	p-valor: 0,0017	R: 0,88175	p-valor: <.0001	R: 0,70495	p-valor: 0,0071
CE	R: -0,42619	p-valor: 0,1465	R: -0,46143	p-valor: 0,1125	R: -0,36902	p-valor: 0,2147

p-valor em negrito, é significativo, considerando nível de significância de 10%.

Tabela 6 - Regressão Linear Múltipla (RLM) realizada para UFC g⁻¹ de solo e Carbono Orgânico (CO) para os meios NBRIP e CMC, e CO mais H+Al para o meio BG-11.

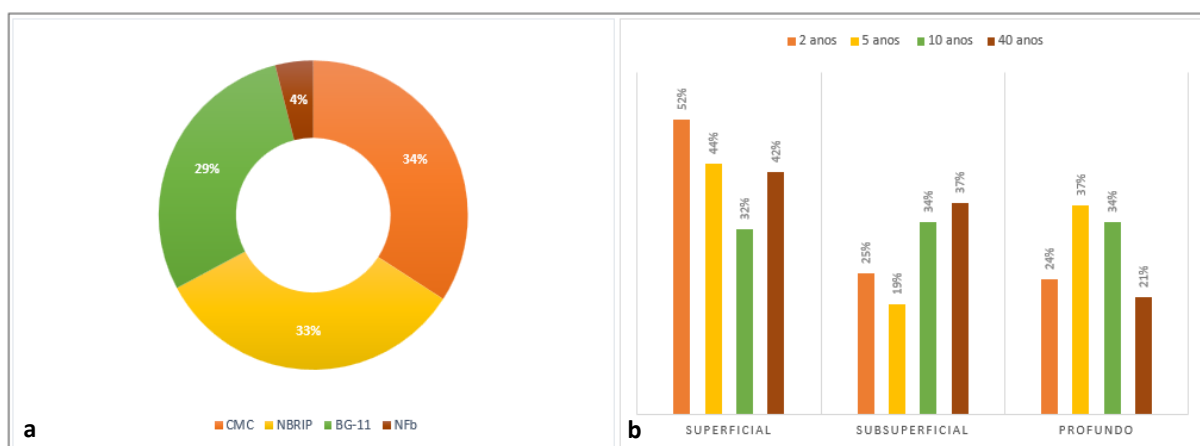
Valores da RLM	NBRIP	CMC	BG-11
R-quadrado	0,6085	0,7697	0,4809
R-quadrado ajustado	0,5693	0,7467	0,429
Valor f	15,54	33,43	9,27
Pr>F	0,002766	0,000177	0,012364

Pr>F: Probabilidade de valor F maior, sendo inferior a 0,05 indica que o modelo é significativo.

No que se refere a quantidade de isolados obtidos em cada meio, para o meio NBRIP foram selecionados 125 (33%) isolados, para o meio CMC foram selecionados 129 (34 %) isolados, para o meio BG-11 foram isolados 109 (29%) isolados, enquanto para o meio NFb foram obtidos apenas 15 (4%) isolados, sendo estes dos tempos 2 e 5 anos e do horizonte superficial (Figura 4a).

No total, foram obtidos 378 isolados, sendo 26 (7%), 93 (25%), 109 (29%), 77 (20%) e 73 (19%) dos tempos 0, 2, 5, 10 e 40 anos, respectivamente. A maioria dos isolados foi oriunda dos horizontes superficiais (Figura 4b), enquanto houve distribuição similar no número de isolados obtidos para as demais profundidades.

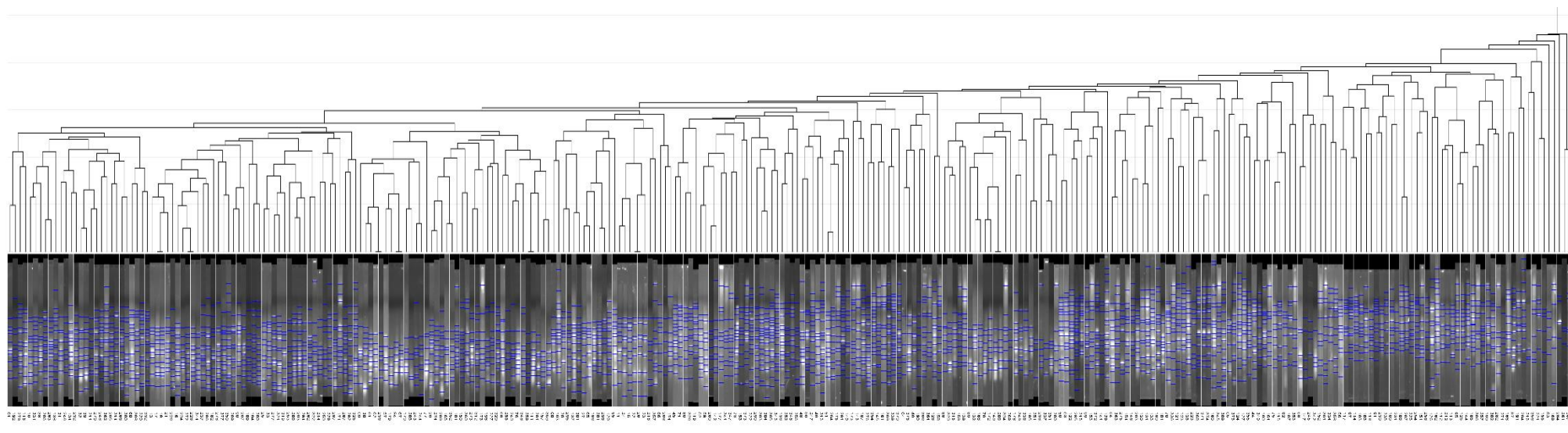
Figura 4 - Distribuição dos isolados obtidos de diferentes perfis e horizontes de uma cronossequência de tecnossolos. **a.** porcentagem de isolados obtidos em cada meio seletivo; **b.** distribuição de isolados por horizonte e tempo.



Fonte: Autor (2025)

Dos 378 isolados, 308 amplificaram o iniciador BOX-A1R. A partir do padrão de bandas foram formados 302 grupos a 100% de similaridade (Figura 5), sendo 6 grupos com duas estirpes e 296 grupos compostos por apenas uma estirpe, apresentando alta diversidade genética. Quanto a formação de grupos a 100% de similaridade por perfil, houve redução ao longo da cronossequência de 0, 2, 5, 10 e 40 anos, com diferença significativa entre os tempos para a quantidade de grupos formados, conforme a Tabela 7.

Figura 5 - Agrupamento BOX-PCR dos 308 isolados de Tecnossolos construídos por rejeito de mineração de scheelita em uma região semiárida.



Fonte: Autor (2025)

Tabela 7 - Grupos de estirpes formados pela amplificação do BOX-A1R a 100 % de similaridade, ao longo da cronossequência de tecnossolos formados por rejeitos de mineração de scheelita.

Perfil	Agrupamento		
	1 estirpe	2 estirpes	Total de Grupos
Tempo zero	25	-	25
2 anos	71	2	73
5 anos	83	2	85
10 anos	63	1	64
40 anos	54	1	55
Total de Grupos	296	6	302
média	60,4		
p-valor	0,00000071		

p-valor – probabilidade do teste qui-quadrado ao nível de significância de 5 %

Para o índice de diversidade foram observados valores elevados em todos os tempos e horizontes, assim como o índice de riqueza, o que confirma que os Tecnossolos possuem alta diversidade. O índice de dominância de Simpson (D) corrobora esses resultados pois, os valores iguais a zero indicam elevada heterogeneidade de indivíduos (Tabela 8).

Por meio do teste qui-quadrado foi possível constatar que não houve diferença entre os tempos para os índices calculados. Quanto aos índices ao longo dos horizontes pelo teste qui-quadrado foi observado que também não houve diferença, no entanto, a média de grupos BOX e de estirpes apresentaram 26% de probabilidade de a diferença entre os horizontes ser devido ao acaso, sendo os poucos pontos amostrados um limitador do teste.

Tabela 8 - Índices de diversidade (H'), Dominância (D) e Riqueza (Margalef) estimados a partir dos grupos a 100% de similaridade do BOX-PCR e teste qui-quadrado para os índices ao longo do tempo e horizontes.

Tempos	Grupos BOX	Estirpes	Simpson (D)	Simpson (1-D)	Shannon (H')	Margalef
0	25	25	0	1	3,699	7,456
2	25	25	0	1	3,633	7,386333
5	29	29,33	0,000717	0,999267	3,779	8,220667
10	21,33	21,33	0	1	3,532	6,639667
40	18,33	18,33	0	1	3,371333	5,950667
Qui-quadrado	0,596107	0,5715102	0,999998973	1	0,999905	0,980832
Horizontes	Grupos BOX	Estirpes	Simpson (D)	Simpson (1-D)	Shannon (H')	Margalef
Superficial	29,5	29,5	0	1	3,80975	8,3555
Subsuperficial	18,5	18,5	0	1	3,38675	5,994
Profundo	22,25	22,5	0,00053775	0,99945	3,54	6,7985
Qui-quadrado	0,26305	0,26736275	0,999462395	1	0,987267	0,815081

Os 308 isolados que amplificaram o BOX-A1R foram selecionados para amplificação do gene 16S rRNA, sendo obtidas 246 amostras positivas e 216 sequências válidas (Tabela 9). As identidades moleculares das sequências obtidas pela análise de similaridade, resultaram em 4 filos, 6 classes, 14 ordens, 30 famílias e 44 gêneros.

Tabela 9 - Identidade molecular dos isolados (SEQ_SIMILAR) de Tecnoisolos, obtida por meio do NCBI e análise das sequências parciais do 16S rRNA no programa BLAST com a identificação da sequência de referência (ID_SIMILAR). O acesso as sequências depositadas estão disponíveis na coluna ID_ISOLADO no banco de dados GenBank.

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
Tempo zero					
T02-02	Actinomycetota	PX278934	96,64%	<i>Microbacterium</i> sp.	KF010641.1
T02-03	Bacillota	PX278935	99,76%	<i>Priestia</i> sp.	OQ179945.1
T02-05	Pseudomonadota	PX279011	93,68%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KR063566.1
T02-06	Bacillota	PX278936	98,25%	<i>Paenibacillus</i> sp.	NR_147741.1
T02-07	Pseudomonadota	PX279012	97,32%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KY907022.1
T02-08	Pseudomonadota	PX278937	92,87%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KF261600.1
T02-10	Pseudomonadota	PX279013	98,89%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MH443745.1
T03-02	Pseudomonadota	PX279014	94,91%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KF261600.1
T03-03	Pseudomonadota	PX279015	99,08%	<i>Altererythrobacter</i> sp.	MW532473.1
T03-04	Pseudomonadota	PX278938	99,04%	<i>Serratia</i> sp.	JF833596.1
T03-06	Pseudomonadota	PX279016	99,34%	<i>Herbaspirillum</i> sp.	PQ764054.1
T03-07	Pseudomonadota	PX278939	99,87%	<i>Sphingomonas</i> sp.	JQ658410.1
T03-08	Pseudomonadota	PX278940	93,23%	<i>Acinetobacter</i> sp.	AB859733.1
T03-09	Bacillota	PX278948	99,76%	<i>Staphylococcus</i> sp.	KC502905.1

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
T03-10	Pseudomonadota	PX278941	93,73%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KR063566.1
T04-01	Bacillota	PX278942	99,73%	<i>Bacillus</i> sp.	MW089053.1
T04-02	Pseudomonadota	PX278943	89,37%	<i>Acinetobacter</i> sp.	MT158898.1
T04-03	Pseudomonadota	PX278944	92,32%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KF261600.1
T04-04	Pseudomonadota	PX278945	91,78%	<i>Acinetobacter</i> sp.	KU850974.1
T04-05	Pseudomonadota	PX278946	99,83%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KP226590.1
T04-06	Bacillota	PX278947	98,92%	<i>Cytobacillus</i> sp.	OQ927157.1
Perfil 1: 2 anos					
P1A1-01	Pseudomonadota	PX279018	98,19%	<i>Agrobacterium</i> sp.	JN585722.1
P1A2-05	Bacillota	PX278958	99,40%	<i>Bacillus</i> sp.	MK110352.1
P1A2-07	Pseudomonadota	PX279029	99,06%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OR016553.1
P1A2-08	Pseudomonadota	PX278959	98,62%	<i>Sphingobium</i> sp.	JF459943.1
P1A2-09	Pseudomonadota	PX278960	99,73%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KC129045.1
P1A2-11	Bacillota	PX278961	99,31%	<i>Bacillus</i> sp.	KY941909.1
P1A2-13	Actinomycetota	PX278913	97,03%	Microbacteriaceae	JF703472.1
P1A2-20	Pseudomonadota	PX278962	99,06%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KY681909.1
P1A2-23	Pseudomonadota	PX278963	98,83%	<i>Massilia</i> sp.	KT764071.1
P1A2-25	Pseudomonadota	PX279019	99,31%	<i>Cupriavidus</i> sp.	JF734312.1
P1A2-26	Pseudomonadota	PX279020	99,72%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OR536372.1
P1A2-29	Pseudomonadota	PX278949	96,13%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MG916948.1
P1A2-30	Pseudomonadota	PX278912	90,32%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MW405720.1
P1A3-02	Pseudomonadota	PX279021	100,00%	<i>Agrobacterium</i> sp.	LC763414.1
P1A3-09	Pseudomonadota	PX279022	99,28%	<i>Cupriavidus</i> sp.	JF734312.1
P1A3-10	Pseudomonadota	PX278953	87,87%	<i>Pseudomonas</i> sp.	HM122325.1
P1A3-11	Pseudomonadota	PX278965	99,89%	Rhizobiaceae	OK298571.1
P1A3-15	Pseudomonadota	PX278966	100,00%	<i>Agrobacterium</i> sp.	OQ932862.1
P1A3-18	Pseudomonadota	PX279023	99,78%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KY681909.1
P1A3-20	Pseudomonadota	PX279024	99,76%	<i>Ewingella</i> sp.	MT634476.1
P1A4-02	Pseudomonadota	PX279025	100,00%	<i>Pantoea</i> sp.	KJ532120.1
P1A4-03	Pseudomonadota	PX278954	99,72%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OR536372.1
P1A4-05	Pseudomonadota	PX278967	100,00%	<i>Pantoea</i> sp.	MN826711.1
P1A4-09	Pseudomonadota	PX278950	99,69%	<i>Pantoea</i> sp.	MN826711.1
P1A4-10	Pseudomonadota	PX278914	99,68%	<i>Pantoea</i> sp.	KF542916.1
P1A4-13	Bacillota	PX278909	99,76%	<i>Priestia</i> sp.	JN993726.1
P1A4-20	Pseudomonadota	PX279026	99,76%	<i>Neorhizobium</i> sp.	LC750369.1
P1B2-06	Pseudomonadota	PX278910	94,93%	<i>Pantoea</i> sp.	OR903103.1
P1B2-08	Bacillota	PX278968	99,78%	<i>Staphylococcus</i> sp.	KP279979.1
P1B2-09	Bacillota	PX278969	99,67%	<i>Priestia</i> sp.	MN620499.1
P1B2-11	Pseudomonadota	PX279027	99,35%	<i>Pseudomonas</i> sp.	HQ143580.1
P1B2-14	Bacillota	PX278970	98,16%	<i>Priestia</i> sp.	MG705831.1
P1B3-12	Bacillota	PX278911	99,79%	<i>Priestia</i> sp.	OQ179945.1
P1B4-03	Pseudomonadota	PX278908	99,21%	<i>Rhizobium</i> sp.	KJ128395.1
P1B4-13	Pseudomonadota	PX278907	99,79%	<i>Pantoea</i> sp.	OR903103.1
P1B4-14	Pseudomonadota	PX279028	99,60%	<i>Pseudomonas</i> sp.	ON209660.1
P1B4-17	Pseudomonadota	PX279030	100,00%	<i>Pseudomonas</i> sp.	JQ316310.1

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
P1C2-01	Pseudomonadota	PX279031	100,00%	<i>Pantoea</i> sp.	GU944650.2
P1C2-03	Pseudomonadota	PX278951	98,29%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MZ067616.1
P1C2-06	Pseudomonadota	PX279032	97,67%	<i>Serratia</i> sp.	MT815621.1
P1C2-07	Pseudomonadota	PX279033	100,00%	<i>Pantoea</i> sp.	GU944650.2
P1C2-11	Pseudomonadota	PX279034	99,68%	<i>Pantoea</i> sp.	MN908319.1
P1C2-12	Bacillota	PX279035	99,87%	<i>Ureibacillus</i> sp.	OR434742.1
P1C3-05	Pseudomonadota	PX279036	96,26%	<i>Pantoea</i> sp.	MN826711.1
P1C3-09	Pseudomonadota	PX279037	99,46%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MH778040.1
P1C3-11	Actinomycetota	PX279038	99,33%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1
P1C4-03	Pseudomonadota	PX279039	100,00%	<i>Methylobacterium</i> sp.	JQ659454.1
P1C4-05	Actinomycetota	PX279040	98,41%	<i>Arthrobacter</i> sp.	JN585701.1
P1C4-07	Pseudomonadota	PX279041	98,00%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KU750786.1
P1C4-08	Pseudomonadota	PX278971	94,18%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KY681909.1
P1C4-11	Pseudomonadota	PX279042	100,00%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MG833387.1
P1C4-12	Pseudomonadota	PX279043	99,49%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MT825614.1
P1C4-13	Pseudomonadota	PX279044	96,95%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OL602217.1
Perfil 2: 5 anos					
P2A1-01	Pseudomonadota	PX279045	98,53%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KJ654691.1
P2A1-02	Pseudomonadota	PX278972	99,36%	<i>Pseudomonas</i> sp.	ON209660.1
P2A1-03	Pseudomonadota	PX278973	99,84%	<i>Pseudomonas</i> sp.	JF513125.1
P2A1-06	Pseudomonadota	PX279046	97,46%	<i>Agrobacterium</i> sp.	KF439828.1
P2A1-11	Pseudomonadota	PX279047	97,61%	<i>Pseudomonas</i> sp.	EF600830.1
P2A1-13	Pseudomonadota	PX278975	100,00%	<i>Brucella</i> sp.	OP986236.1
P2A1-14	Pseudomonadota	PX278952	95,71%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	AB461823.1
P2A2-07	Pseudomonadota	PX279048	98,34%	<i>Rahnella</i> sp.	OQ647834.1
P2A2-12	Pseudomonadota	PX278964	99,15%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	AB772987.1
P2A2-14	Pseudomonadota	PX279049	97,99%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KT321287.1
P2A2-19	Bacillota	PX279050	99,88%	<i>Bacillus</i> sp.	MF035481.1
P2A3-02	Pseudomonadota	PX279051	98,14%	<i>Rhizobium</i> sp.	FN178376.1
P2A3-03	Pseudomonadota	PX279052	98,52%	<i>Rahnella</i> sp.	OP050401.1
P2A3-04	Pseudomonadota	PX279053	99,88%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	KM658318.1
P2A3-08	Pseudomonadota	PX278974	98,60%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	LC389430.1
P2A3-10	Pseudomonadota	PX278976	98,92%	<i>Pseudomonas</i> sp.	KY681909.1
P2A3-11	Pseudomonadota	PX279054	99,74%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OR536372.1
P2A4-04	Bacillota	PX278978	99,73%	<i>Priestia</i> sp.	MN620499.1
P2A4-06	Pseudomonadota	PX278915	99,89%	<i>Rhizobium</i> sp.	NR_157662.1
P2A4-07	Actinomycetota	PX279055	100,00%	<i>Streptomyces</i> sp.	KF830250.1
P2A4-09	Pseudomonadota	PX278977	98,99%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MH443745.1
P2A4-11	Pseudomonadota	PX278979	99,64%	<i>Rhizobium</i> sp.	OQ989144.1
P2A4-15	Bacillota	PX278916	100,00%	<i>Bacillus</i> sp.	KY911235.1
P2B2-01	Pseudomonadota	PX278980	99,88%	<i>Sinorhizobium</i> sp.	JQ666186.1
P2B2-05	Bacillota	PX278981	99,66%	<i>Priestia</i> sp.	KU681035.1
P2B3-01	Pseudomonadota	PX278982	98,14%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MH236667.1
P2B3-02	Actinomycetota	PX279056	99,83%	<i>Streptomyces</i> sp.	MF356345.1
P2B3-11	Pseudomonadota	PX278983	99,83%	<i>Pseudomonas</i> sp.	OL423543.1

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
P2B3-12	Bacillota	PX278984	99,85%	<i>Bacillus</i> sp.	MF035481.1
P2B4-07	Pseudomonadota	PX278917	98,05%	<i>Pantoea</i> sp.	OK606023.1
P2C2-01	Pseudomonadota	PX278985	100,00%	<i>Sinorhizobium</i> sp.	KJ956684.1
P2C2-06	Pseudomonadota	PX278988	99,00%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	AB772987.1
P2C2-09	Pseudomonadota	PX278955	99,56%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	KX082814.1
P2C2-10	Pseudomonadota	PX278986	99,48%	<i>Massilia</i> sp.	MT910516.1
P2C2-12	Pseudomonadota	PX278992	99,26%	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	JX174238.1
P2C3-01	Pseudomonadota	PX278956	100,00%	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	JX174238.1
P2C3-04	Pseudomonadota	PX279057	100,00%	<i>Rhizobium</i> sp.	LC787663.1
P2C3-05	Pseudomonadota	PX278987	93,23%	<i>Xanthomonas</i> sp.	JX174258.1
P2C3-09	Pseudomonadota	PX278995	98,40%	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	JX174238.1
P2C3-13	Actinomycetota	PX279058	93,00%	<i>Arthrobacter</i> sp.	JX434120.1
P2C4-01	Pseudomonadota	PX278996	99,25%	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	JX174237.1
P2C4-02	Pseudomonadota	PX278989	99,40%	<i>Xanthomonas</i> sp.	EF522125.1
P2C4-04	Bacillota	PX279059	99,27%	<i>Paenibacillus</i> sp.	MN826407.1
P2C4-05	Bacillota	PX278990	99,87%	<i>Bacillus</i> sp.	MN421457.1
P2C4-08	Pseudomonadota	PX278991	99,75%	<i>Rahnella</i> sp.	MT555345.1
P2C4-10	Pseudomonadota	PX279076	99,15%	<i>Pantoea</i> sp.	MN826711.1
P2C4-12	Pseudomonadota	PX278997	98,91%	<i>Xanthomonas</i> sp.	LT221152.1
P2C4-16	Pseudomonadota	PX279060	100,00%	<i>Brevundimonas</i> sp.	AM989002.1
P2C4-17	Pseudomonadota	PX278998	97,22%	<i>Rahnella</i> sp.	GU563754.1
Perfil 3: 10 anos					
P3A2-09	Bacillota	PX278993	99,38%	<i>Bacillus</i> sp.	JX566659.1
P3A2-11	Actinomycetota	PX279061	99,87%	<i>Streptomyces</i> sp.	KF830251.1
P3A2-14	Actinomycetota	PX279062	99,88%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ716529.1
P3A2-15	Actinomycetota	PX278994	99,88%	<i>Microbacterium</i> sp.	MK106313.1
P3A2-19	Actinomycetota	PX279063	100,00%	<i>Streptomyces</i> sp.	KF830251.1
P3A3-02	Actinomycetota	PX279064	99,62%	<i>Streptomyces</i> sp.	OR485790.1
P3A3-03	Actinomycetota	PX279065	98,83%	<i>Streptomyces</i> sp.	NR_175525.1
P3A3-04	Pseudomonadota	PX279066	98,69%	<i>Methylibium</i> sp.	JQ977338.1
P3A3-06	Pseudomonadota	PX279067	99,37%	<i>Mesorhizobium</i> sp.	KY445634.1
P3A3-09	Pseudomonadota	PX278918	99,66%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MT872034.1
P3A3-10	Actinomycetota	PX279068	100,00%	<i>Gordonia</i> sp.	AY771332.1
P3A3-11	Pseudomonadota	PX278999	99,51%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	FN178380.1
P3A3-12	Pseudomonadota	PX279000	98,83%	<i>Variovorax</i> sp.	JN585673.1
P3A4-02	Pseudomonadota	PX279001	97,11%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	MN826536.1
P3A4-06	Actinomycetota	PX279069	99,84%	<i>Streptomyces</i> sp.	AB231806.1
P3A4-08	Actinomycetota	PX279070	100,00%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ716529.1
P3A4-10	Actinomycetota	PX279071	99,88%	<i>Streptomyces</i> sp.	PQ119659.1
P3B2-01	Pseudomonadota	PX279002	98,89%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	KX082814.1
P3B2-03	Pseudomonadota	PX279003	99,13%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	KP873158.1
P3B2-04	Pseudomonadota	PX279004	97,52%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MT387210.1
P3B2-05	Bacillota	PX279072	98,95%	<i>Priestia</i> sp.	OP431918.1
P3B2-07	Actinomycetota	PX279073	98,96%	<i>Streptomyces</i> sp.	JN180195.1
P3B2-10	Actinomycetota	PX279074	99,65%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
P3B2-12	Pseudomonadota	PX279075	99,59%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	MZ424757.1
P3B3-06	Actinomycetota	PX279077	99,76%	<i>Streptomyces</i> sp.	MF353947.1
P3B3-08	Pseudomonadota	PX278957	99,78%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	KX082814.1
P3B3-14	Bacillota	PX278919	93,91%	<i>Paenibacillus</i> sp.	JF496373.1
P3B4-01	Actinomycetota	PX279078	99,43%	<i>Streptomyces</i> sp.	PQ564690.1
P3B4-02	Pseudomonadota	PX279005	96,83%	<i>Herbaspirillum</i> sp.	MK487380.1
P3B4-03	Actinomycetota	PX279079	99,65%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1
P3B4-11	Pseudomonadota	PX279006	97,19%	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	JN009768.1
P3B4-12	Pseudomonadota	PX279007	99,52%	<i>Xanthomonas</i> sp.	LT221152.1
P3C2-02	Actinomycetota	PX279080	98,79%	<i>Streptomyces</i> sp.	KP900799.1
P3C2-05	Actinomycetota	PX279081	98,58%	<i>Streptomyces</i> sp.	MN371288.1
P3C2-07	Actinomycetota	PX278920	98,46%	<i>Streptomyces</i> sp.	MW577707.1
P3C2-12	Bacillota	PX279082	100,00%	<i>Bacillus</i> sp.	KJ733999.1
P3C2-13	Actinomycetota	PX279083	99,29%	<i>Streptomyces</i> sp.	MW577707.1
P3C2-14	Actinomycetota	PX279084	99,53%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1
P3C3-01	Actinomycetota	PX279085	98,69%	<i>Streptomyces</i> sp.	JN180195.1
P3C3-03	Actinomycetota	PX279086	99,87%	<i>Janibacter</i> sp.	KF924217.1
P3C3-05	Pseudomonadota	PX279089	99,88%	<i>Rhizobium</i> sp.	KR067598.1
P3C3-09	Actinomycetota	PX279087	99,83%	<i>Janibacter</i> sp.	EU333885.1
P3C3-11	Bacillota	PX279088	99,74%	<i>Priestia</i> sp.	KY194786.1
P3C4-01	Actinomycetota	PX279090	99,86%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1
P3C4-05	Actinomycetota	PX279091	99,41%	<i>Streptomyces</i> sp.	MW577707.1
P3C4-07	Actinomycetota	PX279092	99,88%	<i>Streptomyces</i> sp.	MH447145.1
P3C4-09	Bacillota	PX279093	99,73%	<i>Priestia</i> sp.	MN620499.1
P3C4-10	Actinomycetota	PX279094	99,60%	<i>Streptomyces</i> sp.	OR878885.1
P3C4-11	Actinomycetota	PX279095	99,34%	<i>Streptomyces</i> sp.	MW577707.1
P3C4-12	Actinomycetota	PX279096	99,53%	<i>Streptomyces</i> sp.	HQ873620.1
Perfil 4: 40 anos					
P4A2-05	Actinomycetota	PX279097	100,00%	<i>Streptomyces</i> sp.	KX527570.1
P4A2-06	Actinomycetota	PX279098	100,00%	<i>Actinobacterium</i> sp.	HQ696532.1
P4A2-09	Actinomycetota	PX279099	99,88%	<i>Actinomycetales</i> sp.	HM007151.1
P4A2-11	Actinomycetota	PX279100	99,76%	<i>Streptomyces</i> sp.	MF353947.1
P4A2-12	Pseudomonadota	PX279101	100,00%	<i>Pseudomonas</i> sp.	LC007966.1
P4A2-14	Pseudomonadota	PX279102	98,85%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MF141728.1
P4A3-03	Pseudomonadota	PX279103	100,00%	<i>Pseudomonas</i> sp.	HQ143580.1
P4A3-04	Bacillota	PX279104	96,62%	<i>Paenibacillus</i> sp.	MT033080.1
P4A3-05	Actinomycetota	PX279105	100,00%	<i>Arthrobacter</i> sp.	KT597558.1
P4A3-10	Pseudomonadota	PX279106	98,92%	<i>Sphingomonas</i> sp.	OP108755.1
P4A3-12	Pseudomonadota	PX279107	98,45%	<i>Sphingomonas</i> sp.	HQ530510.1
P4A4-02	Actinomycetota	PX279108	99,47%	<i>Nocardioides</i> sp.	MW037051.1
P4A4-04	Actinomycetota	PX279109	99,47%	<i>Nocardioides</i> sp.	MW037051.1
P4A4-06	Pseudomonadota	PX278921	97,42%	<i>Pantoea</i> sp.	MF431769.1
P4A4-09	Bacteroidota	PX279008	97,81%	<i>Chitinophaga</i> sp.	NR_041375.1
P4A4-15	Pseudomonadota	PX279009	99,53%	<i>Roseateles</i> sp.	KY292430.1
P4B2-01	Actinomycetota	PX279110	99,47%	<i>Streptomyces</i> sp.	MZ618740.1

ISOLADO	FILO	ID_ISOLADO	IDENTIDADE	SEQ_SIMILAR	ID_SIMILAR
P4B2-02	Pseudomonadota	PX279111	91,26%	<i>Cupriavidus</i> sp.	OM536043.1
P4B2-08	Pseudomonadota	PX279112	99,40%	<i>Sphingobium</i> sp.	NR_116446.1
P4B2-10	Pseudomonadota	PX279010	87,98%	<i>Pseudomonas</i> sp.	PQ782280.1
P4B2-11	Bacillota	PX279113	100,00%	<i>Priestia</i> sp.	MN620499.1
P4B3-01	Pseudomonadota	PX279017	96,25%	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	OP776843.1
P4B3-08	Actinomycetota	PX279114	98,58%	<i>Streptomyces</i> sp.	JN180195.1
P4B4-01	Actinomycetota	PX279115	99,73%	<i>Streptomyces</i> sp.	KJ152035.1
P4B4-04	Pseudomonadota	PX278922	99,82%	<i>Sphingobium</i> sp.	NR_116446.1
P4B4-09	Bacillota	PX278923	99,86%	<i>Brevibacillus</i> sp.	PQ285170.1
P4B4-10	Pseudomonadota	PX279116	99,87%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MN069032.1
P4B4-12	Actinomycetota	PX278924	95,96%	<i>Streptomyces</i> sp.	JQ419630.1
P4B4-15	Pseudomonadota	PX278925	100,00%	<i>Sinorhizobium</i> sp.	LN871747.1
P4B4-17	Pseudomonadota	PX278926	99,72%	<i>Rahnella</i> sp.	KX378905.1
P4B4-18	Pseudomonadota	PX278927	98,58%	<i>Pseudomonas</i> sp.	MN421164.1
P4C2-05	Pseudomonadota	PX278928	100,00%	<i>Herbaspirillum</i> sp.	LC389442.1
P4C2-07	Pseudomonadota	PX278929	99,40%	<i>Serratia</i> sp.	JF833596.1
P4C3-02	Actinomycetota	PX278930	99,86%	Actinomycetota	ON329618.1
P4C4-02	Actinomycetota	PX278931	93,04%	<i>Streptomyces</i> sp.	KM598631.1
P4C4-03	Pseudomonadota	PX278932	97,90%	<i>Erwinia</i> sp.	PP993215.1
P4C4-04	Pseudomonadota	PX278933	85,61%	<i>Serratia</i> sp.	MN121236.1

A nível de Filo houve diferença ao longo do tempo para Actinomycetota, devido ao aumento de representantes desse filo aos 10 anos, e Pseudomonadota, em função da redução de representantes desse filo entre 5 e 10 anos. Para as classes Actinomycetes e γ -proteobacteria a diferença também foi ao longo do tempo, devido ao aumento de Actinomycetes aos 10 anos e a diminuição de γ -proteobacteria dos 5 aos 10 anos. Para as ordens Kitasatosporales, Lysobacterales e Pseudomonadales houve diferença ao longo do tempo. Não foi observado diferença significativa para o número de famílias e gêneros ao longo do tempo e dos horizontes.

Tabela 10 - Teste qui-quadrado em relação as quantidades de isolados de cada táxon ao longo dos tempos (0, 2, 5, 10 e 40 anos) e horizontes (superficial, subsuperficial e profundo).

Níveis Taxonômicos	Qui-quadrado	
	Tempo	Horizontes
Filo		
Actinomycetota	0,002042667	0,580353634
Bacillota	0,498305651	0,882496903
Bacteroidota	0,855695198	0,778800783
Pseudomonadota	0,080493289	0,251237661
Classe	Tempo	Horizontes
Actinomycetes	0,002042667	0,580353634
Bacilli	0,498305651	0,882496903
Chitinophagia	0,855695198	0,778800783
α -proteobacteria	0,818037117	0,48190899
β -proteobacteria	0,874426497	0,645648526
γ -proteobacteria	0,081869754	0,552892001
Ordem	Tempo	Horizontes
Actinomycetales	0,751082664	0,70468809
Burkholderiales	0,874426497	0,645648526
Caulobacterales	0,855695198	0,778800783
Caryophanales	0,498305651	0,882496903
Chitinophagales	0,855695198	0,778800783
Enterobacterales	0,282075996	0,668864411
Hyphomicrobiales	0,369347871	0,524800629
Kitasatosporales	0,000263125	0,915909391
Lysobacterales	0,021556513	0,898397321
Micrococcales	0,855695198	0,60653066
Mycobacteriales	0,855695198	0,778800783
Propionibacteriales	0,615059989	0,60653066
Pseudomonadales	0,005797957	0,312809105
Sphingomonadales	0,359024232	0,70468809
	Tempo	Horizontes
Nº de Famílias	0,867642502	-
Nº de Gêneros	0,596687774	0,760380609

probabilidade do teste qui-quadrado ao nível de significância de 10%

Os filos mais abundantes foram Pseudomonadota (62%), Actinomycetota (24%) e Bacillota (13%) com apenas um representante de Bacteroidota (Figura 6a). As classes mais abundantes foram Gammaproteobacteria (43%), Actinomycetes (24%) e Bacilli (13%) abrangendo 80% das sequências (Figura 6b).

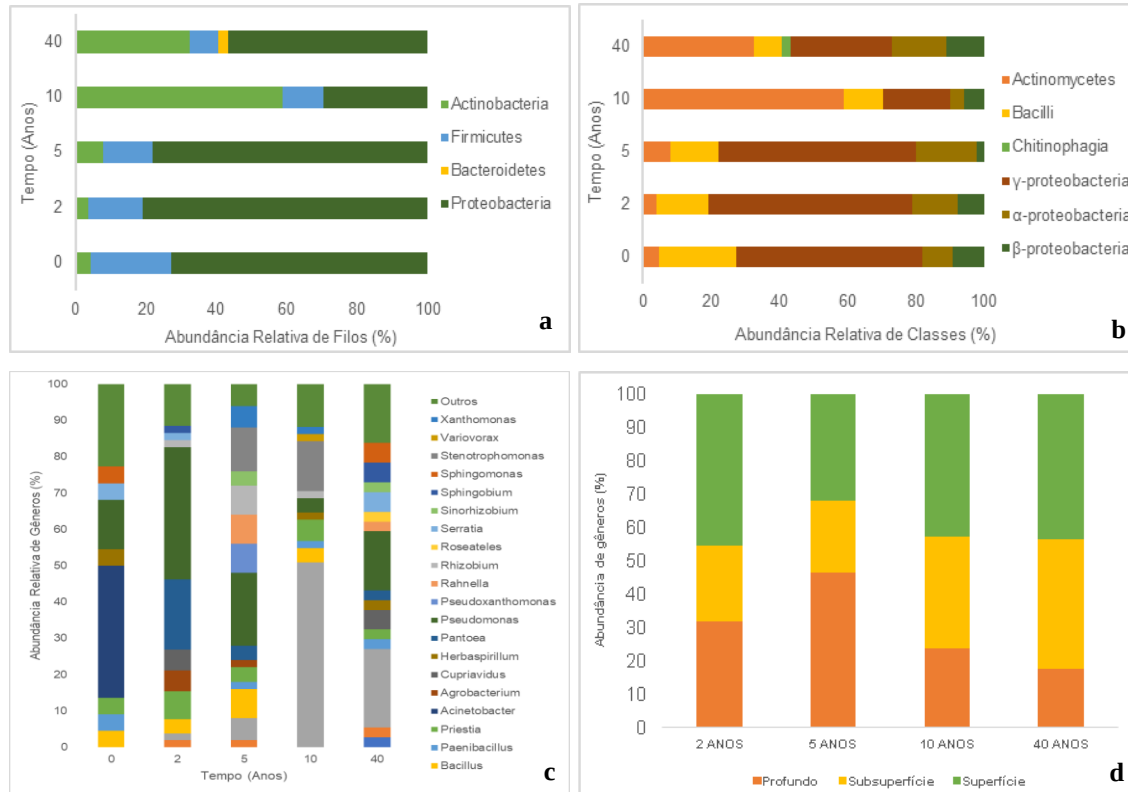
Do total de sequências válidas, apenas quatro não foram identificadas a nível de gênero, sendo uma sequência pertencente ao filo Actinomycetota, duas pertencentes a classe Actinomycetes e uma a família Rhizobiaceae. Foi observado maior quantidade de gêneros no perfil de 40 anos, embora a quantidade de sequências obtidas tenha sido menor em comparação com os outros perfis.

Quanto aos gêneros com maior representação, *Pseudomonas* (19%), *Streptomyces* (18%), *Stenotrophomonas* (6%), *Pantoea* (6%), *Priestia* (5%), *Bacillus* (4%) e *Acinetobacter* (4%) compõem cerca de 62% do total de sequências. Outros gêneros em menor abundância correspondem a 38% do total de sequências.

Em relação aos gêneros mais abundantes em cada tempo, para o tempo zero, *Acinetobacter* (36%) e *Pseudomonas* (14%) representam 50% das sequências obtidas da amostra de rejeito. Para os perfis de 2 e 5 anos, *Pseudomonas* foi o gênero mais abundante e presente em todos os perfis, contudo, *Streptomyces* foi o mais abundante nos perfis de 10 e 40 anos (Figura 6c).

Os horizontes superficiais de cada tempo tiveram maior quantidade de gêneros, em seguida os subsuperficiais. Com exceção do horizonte profundo do perfil de 5 anos, que obteve maior número de gêneros (46%) em relação aos outros horizontes (Figura 6d).

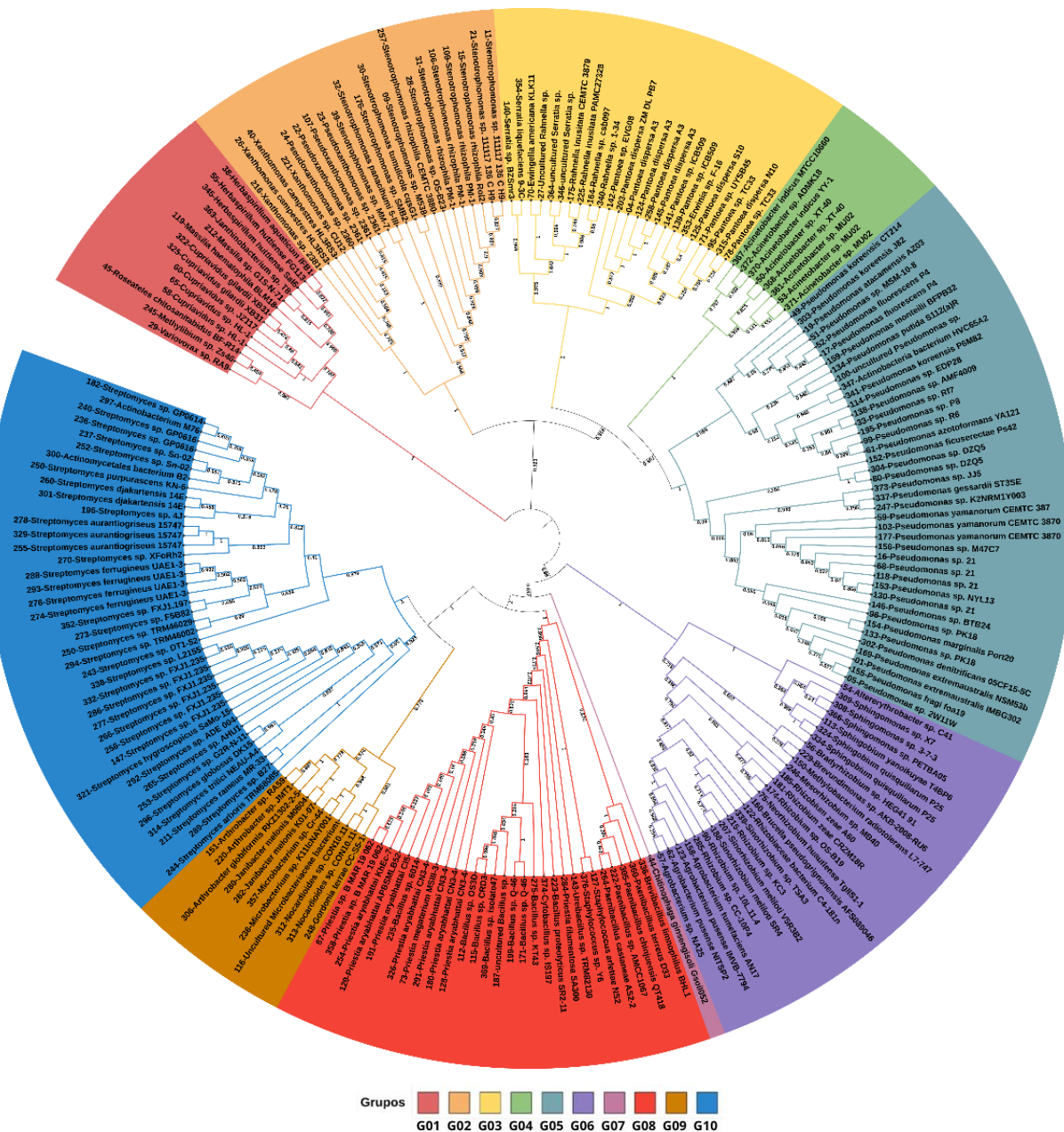
Figura 6 - Abundância relativa de Filos (a), Classes (b) e Gêneros (c) das 216 sequências do gene 16S rRNA de isolados bacterianos de quatro perfis (tempo) de Tecnossolos e amostra de rejeito, e Abundância de Gêneros em relação aos horizontes de cada tempo da cronossequência (d).



Fonte: Autor (2025)

A árvore filogenética (Figura 7) apresentou 10 grupos a 100% de bootstrap. No G01 foram agrupados os gêneros *Herbaspirillum*, *Janthinobacterium*, *Massilia*, *Cupriavidus*, *Roseateles*, *Methylibium* e *Variovorax* pertencentes a classe β -Proteobacteria, sendo o segundo grupo mais diverso em termos de gênero.

Figura 7 - Árvore Filogenética formada a partir do método Neighbour-Joining utilizando o modelo Kimura 2-parametros e teste de bootstrap com 1000 repetições das sequências de referência obtidas no banco de dados do NCBI.



Fonte: Autor (2025)

Para o G02, foi observado o agrupamento entre *Stenotrophomonas*, *Pseudoxanthomonas* e *Xanthomonas*. Contudo, é constatado dentro do grupo uma subdivisão entre esses gêneros, com *Pseudoxanthomonas* e *Xanthomonas* formando um subgrupo a 100% de valor de *bootstrap*, com alta confiabilidade para este subgrupo.

O G03 abrange o gênero *Pantoea*, assim como, *Rhanella*, *Ewingella*, *Serratia* e *Erwinia* (isolado 353) que apresentou parentesco com *Pantoea*, porém, com valor de

bootstrap baixo, 40%, indicando menor confiabilidade de parentesco, estes possuem em comum a ordem *Enterobacterales*.

No G04 estão agrupados apenas *Acinetobacter*, mas existe uma relação de parentesco mais próximo com o grupo G05 que é o grupo das *Pseudomonas*, sendo esses dois gêneros pertencentes a mesma ordem *Pseudomonadales*. Ainda, foi observado que o isolado 347, que não foi identificado a nível de gênero, apresentou parentesco próximo com o isolado 341 (*Pseudomonas koreensis*), no entanto, com valor de *bootstrap* de 64,5%.

Em relação ao G06, este agrupou os gêneros *Altererythrobacter*, *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Bradyrhizobium*, *Brevundimonas*, *Methylobacterium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Neorhizobium*, *Brucella*, *Sinorhizobium* e *Agrobacterium*, todos pertencentes a classe α -Proteobacteria, sendo o terceiro grupo mais diverso para gênero. O isolado 122, que não foi identificado a nível de gênero, agrupou-se com *Rhizobium* e *Sinorhizobium*, com 93% de valor de *bootstrap*, sendo um alto valor de suporte para este agrupamento.

Quanto ao G07, este consiste no único isolado do filo Bacteroidota, o isolado 44, pertencente ao gênero *Chitinophaga*.

No G08, foram agrupados *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Ureibacillus*, *Cytobacillus*, *Priestia* e *Staphylococcus*, sendo estes gêneros pertencentes a ordem *Caryophanales*. O G09 demonstrou parentesco entre *Arthrobacter*, *Janibacter*, *Microbacterium*, *Norcadiaoides* e *Gordonia*, com o isolado 116, sem identificação a nível de gênero, agrupando-se com *Microbacterium* com valor de *bootstrap* de 94,8%.

O grupo G09 apresentou maior diversidade de gêneros e parentesco com o G10 que abrange *Streptomyces* em quase sua totalidade, com um representante de *Actinobacterium* e o isolado 300 que pertence a classe *Actinomycetes* presentes nesse grupo.

Foi constatado que os grupos G05 (*Pseudomonas*) e G10 (*Streptomyces*), apresentam 41 e 40 nós, respectivamente, sendo os que mais possuem representantes, em seguida, os grupos G08 (*Bacillus*) e G06 (*Rhizobium*), com 29 e 27 nós, respectivamente. Esses quatro grupos, abrangem 137 isolados, sendo 63% do total de isolados.

5 DISCUSSÃO

O solo apresenta uma grande abundância de bactérias, das quais cerca de 1% é cultivável (PHAM; KIM, 2012), sendo estas associadas a diversas funções importantes no solo, como o ciclo de N e C, solubilização de minerais e decomposição da matéria orgânica (TIAN et al., 2021). Os Tecnossolos construídos a partir de rejeitos de mineração de scheelita

apresentaram elevada população de bactérias cultiváveis em todos os horizontes de todos os tempos, sendo semelhantes a áreas agrícolas fertilizadas, não fertilizadas e rizosfera de gramíneas (KACERGIUS; SIVOJIENE, 2023; SIVOJIENE, et al., 2021; DIP et al., 2024).

A presença de bactérias cultiváveis em diferentes meios seletivos, para todos os horizontes dos quatro tempos e da amostra de rejeito (tempo zero), com exceção da população de fixadores de nitrogênio, sendo apenas obtido isolados nos horizontes superficiais dos tempos mais recentes, confirma a existência de populações com diferentes potenciais que contribuem para formação dos Tecnossolos (WANG, 2023).

Além disso, as populações não foram diferentes significativamente em relação aos tempos de formação dos Tecnossolos e entre os horizontes de cada tempo, demonstrando que estas são semelhantes. O rejeito depositado que deu origem aos solos, apresentou textura fina, alta disponibilidade de nutrientes e principalmente teores elevados de carbono orgânico, com baixa variação em função do tempo e do horizonte (SILVA, 2023). Portanto, estas características podem justificar a ausência de efeito da cronosequência e da profundidade nas populações bacterianas obtidas de diferentes meios.

De acordo com Silva (2023), nas áreas de Tecnossolos existem plantas nativas da caatinga, algaroba (leguminosas) e gramíneas, o que pode ter favorecido o crescimento das populações de bactérias. A ocorrência de plantas apresenta diversos fatores que favorecem as comunidades bacterianas, sendo do solo, um deles a rizosfera, interface entre o solo e as raízes, onde pode ocorrer relações benéficas de troca de nutrientes e metabólitos entre plantas e bactérias (BERG; SMALLA, 2009; DAI et al., 2024b). Isto pode esclarecer as maiores populações bacterianas nos horizontes superficiais dos Tecnossolos em relação aos demais horizontes, apesar de não haver diferenças significativas.

Igualmente na superfície do solo, se concentra a maior parte da matéria orgânica que é fonte de carbono e nutrientes para o crescimento microbiano (PAUSTIAN et al., 2019). Valores progressivos e elevados de carbono orgânico na superfície ao longo da cronosequência observado nos Tecnossolos, o que pode ter contribuído para o maior desenvolvimento das populações de bactérias. No entanto, nos horizontes subsuperficiais e profundos também foram observados altos teores de CO. Estes foram elevados se comparados a solos de pastagem, cultivo agrícola e floresta (OKOLO et al., 2023). Portanto, estes horizontes também apresentaram valores de UFC g⁻¹ de solo próximos aos da superfície, sem

diferença significativa, devido aos elevados teores de carbono orgânico que promovem o crescimento de comunidades nos solos (LI et al., 2024, WANG et al., 2024).

Foi observada ausência de bactérias diazotróficas nos horizontes superficiais dos tempos mais antigos: 10 e 40 anos. Esses perfis apresentaram maior teor de carbono orgânico e nutrientes na superfície, o que indica que nesses horizontes existem variadas formas de disponibilização de N, com pouca contribuição da FBN. Já nos horizontes superficiais dos tempos 2 e 5 anos (áreas em formação) é possível haver condições de menor diversidade de plantas e aumento da temperatura do solo, o que propiciam a FBN, como relatado por Mirza et al. (2014) em pastagens degradadas. Em condições de esgotamento de N, há uma maior dependência de diazotróficos de vida livre para atender as demandas das plantas. Já em florestas com maior diversidade de plantas, o N total acumulado é reciclado sem necessidade de entradas externas (ZUO et al., 2023).

No presente trabalho, o tempo não foi a variável mais adequada para demonstrar a variação entre os Tecnossolos. Em contrapartida, foi constatado por meio da análise de correlação de Pearson e regressão múltipla o efeito significativo do carbono orgânico (CO), atributo que mais explicou a variação da população de bactérias dos Tecnossolos. Nos anos iniciais da cronossequência, os valores de CO foram aumentando progressivamente e em todos os horizontes. Isto deve ter influenciado no aumento das populações de bactérias, devido a disponibilidade de carbono e nutrientes presentes na matéria orgânica (BÁRCENAS-MORENO et al., 2022; QIU et al., 2020; XIAO et al., 2021).

Em relação a diversidade genotípica, foi observado que a maioria dos grupos formados foi composta por um único isolado. Além disso, os índices de diversidade, dominância e riqueza a partir do agrupamento apresentaram valores elevados. Isso demonstra que os Tecnossolos possuem alta diversidade genética da comunidade cultivável, que pode ser atribuída aos elevados teores de CO, Ca, Mg e pH alcalino (SUN et al., 2024), P disponível (ZHANG et al., 2024), diversificação da vegetação e o clima (REN et al., 2024) associados a esses solos. Esses resultados indicam que os Tecnossolos, formados por rejeitos de scheelita, possuem populações bacterianas envolvidas em diferentes funções no solo, e, portanto, apresentam uma alta diversidade funcional, assim como, a redundância funcional e funções específicas (CHEN et al., 2020; SORIA et al., 2024; XUN et al., 2019).

O clima semiárido, característico da região em que os Tecnossolos da Mina Brejuí estão localizados, está relacionado com a elevada diversidade de microrganismos, por

apresentar condições de estresse ambiental, como temperaturas elevadas, baixa disponibilidade de água e elevada radiação solar (COLEINE et al., 2024) que originam diversos micro-habitats no solo, que acabam se tornando ambientes adequados para diferentes espécies, promovendo a diversidade (LAI et al., 2024; LIU et al., 2024).

Os filos mais abundantes em todos os tempos de formação dos Tecnossolos foram Pseudomonadota, Actinomycetota e Bacillota. Esses filos também foram abundantes em uma região semiárida da Índia, com características semelhantes aos Tecnossolos, sendo solos franco arenosos, ligeiramente alcalinos e dispostos em uma cronossequência, com aumento progressivo de CO (SHARMA et al., 2024). Assim como foi observado os filos mais abundantes Pseudomonadota e Actinomycetota em uma região semiárida, na estação seca e chuvosa, ao norte da América do Sul (LEAL; FRANCO; VANEGAS, 2024).

Foi constatado que os filos Pseudomonadota e Actinomycetota desempenham funções microbianas importantes no ciclo do carbono, como a fixação e degradação de carbono, e o ciclo do metano, sendo significativamente relacionadas com as propriedades do solo (DENG et al., 2019). Outro filo em menor abundância nos Tecnossolos, Bacillota, é relatado com representantes fixadores de nitrogênio e carbono contribuindo para o incremento destes elementos no solo (MA et al., 2025; CALDWELL; MACLEAN; NORRIS, 2007).

Os gêneros mais abundantes nos Tecnossolos, *Pseudomonas* e *Bacillus*, são bactérias cruciais na ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica e biodegradação de poluentes (ISAKOVSKI et al., 2024). Outro gênero abundante, *Streptomyces*, são bactérias filamentosas predominantes em solos, apresentando alta diversidade e amplamente estudadas no contexto biotecnológico e industrial, pois produzem metabólitos importantes como antibióticos e anticancerígenos (DENG et al., 2025). Além disso, foi constatado que essas bactérias podem degradar bioplásticos, produzir fitohormônios, solubilizar fosfato e exercer atividade de biocontrole, contribuindo para gestão de resíduos e agricultura (BUZÓN-DURÁN et al., 2025; CHHETRI et al., 2025; ZHOU et al., 2024b).

Ainda sobre gêneros abundantes nos Tecnossolos, *Stenotrophomonas* foi relatada como promotora de crescimento de plantas, espécies desse gênero aumentaram a biomassa de trigo e diminuíram a biodisponibilidade de chumbo em solo contaminado (FAROOQ et al., 2025), e promoveram o crescimento e tolerância a salinidade no milho (ERCOLE et al., 2023). Ademais, foi observado que cepas de *Stenotrophomonas* isoladas de ganga de carvão, resíduo sólido da mineração de carvão, e inoculadas no resíduo, proporcionaram a diminuição

do pH pela produção de ácidos orgânicos promovendo a alteração de minerais Monetita (CaHPO_4), Muscovita ($\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$) e Annitte ($\text{KFeSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$) aumentando os teores de P, K e Si disponíveis na ganga (ZHU et al., 2022).

O gênero *Pantoea*, um dos mais abundantes, foi associado a melhoria do crescimento e tolerância ao sal no tomate e trigo (ANSARI et al., 2024; ZHENG et al., 2024) e potencial para biocontrole de patógenos em diversas plantas cultiváveis (HE et al., 2025; DUCHATEAU et al., 2024). *Priestia*, também abundante nos Tecnossolos, foi relatada como rizobactéria promotora de crescimento de plantas tolerante ao sal (PAL; KHAN; KARIM, 2025), na degradação de pesticida (HANANO; MOURSEL; OBEID, 2025) e na biorremediação, imobilizando metais pesados, Pb, Cu e Cd, em ambientes contaminados (ATAKPA et al., 2025).

Dois grandes grupos polifiléticos foram observados das *Pseudomonas* e *Streptomyces*, respectivamente dos filos Pseudomonadota e Actinomycetota, os mais abundantes, o que confirma que as comunidades bacterianas cultiváveis dos Tecnossolos são predominantemente compostas por esses gêneros. Sendo estes comumente encontrados em ambientes ricos, desempenhando funções importantes no solo, na ciclagem de nutrientes, decomposição de biomassa vegetal, produção de metabólitos, biocontrole de patógenos de plantas, assim como na promoção de crescimento vegetal (AHAMMED et al., 2025).

No entanto, outros dois grandes grupos foram observados, formados por *Bacillus* e *Rhizobium*, que também estão associados a diversas funções no solo. Os rizóbios são um grupo de bactérias conhecidos pelo fornecimento de nitrogênio para as plantas por meio da fixação biológica de nitrogênio, a simbiose com leguminosa é um exemplo da atuação bem sucedida dessas bactérias, que também podem promover menor incidência de pragas e doenças (CHISHOLM et al., 2025). Quando usados como inoculantes, os rizóbios promovem o crescimento vegetal, por meio do aumento de nutrientes disponíveis na rizosfera (SUN et al., 2025) e protegem as plantas de vários fatores de estresse abióticos e bióticos (MNG'ONG'O; OJJA; ALOO, 2023; BASU et al., 2022).

A diversidade de funções associadas a estes grupos mais abundantes nos Tecnossolos, infere que estes tiveram a contribuição desses organismos em sua formação, nos ciclos biogeoquímicos e ainda podem ser fontes de insumos promissores para a agricultura, biotecnologia e indústria, com a necessidade de mais pesquisas sobre os isolados e seus potenciais de aplicação nestes setores.

6 CONCLUSÕES

- A comunidade bacteriana cultivável de quatro perfis de Tecnossolos, dispostos em uma cronossequência, além de uma amostra de rejeito, apresenta diferentes funções.
- Neste trabalho foi possível constatar o efeito significativo do carbono orgânico, fósforo e Acidez potencial para o crescimento das populações.
- Os tempos e horizontes dos Tecnossolos possuem alta diversidade genotípica, sendo o pH alcalino, elevados teores de CO, nutrientes disponíveis e o clima, variáveis que podem explicar a alta diversidade genotípica nesses solos.
- Por meio da classificação taxonômica dos isolados, foi possível observar que os filos mais abundantes em todos os tempos e horizontes foram *Proteobacteria*, *Actinobacteria* e *Firmicutes*, sendo estes comumente encontrados em solos.
- Os gêneros com maior representação, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Stenotrophomonas*, *Pantoea*, *Priestia*, *Bacillus* e *Acinetobacter* estão associados a diversas funções nos solos, o que indica que estes contribuíram para o desenvolvimento dos Tecnossolos.

7 REFERÊNCIAS

- AASFAR, A.; BARGAZ, A.; YAAKOUBI, K.; HILALI, A.; BENNIS, I.; ZEROUAL, Y.; MEFTAH KADMIRI, I. Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 628379, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
- AHAMMED, I; MONDAL, R.; NESA, J.; MANDAL, A. K.; SADAT, A. Understanding the role of soil microbiota and its' interplay with environment to ensure sustainable development for the future generations. **Applied Soil Ecology**, v. 212, p.106217, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.106217>
- ALLORY, V.; SÉRÉ, G.; OUVARD, S. A meta-analysis of carbon content and stocks in Technosols and identification of the main governing factors. **European Journal of Soil Science**, v. 73, 2022. <https://doi.org/10.1111/ejss.13141>
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013. Gebruder Borntraeger Verlagsbuchhandlung. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

ANSARI, J.; BARDHAN, S.; EIVAZI, F.; ANDERSON, S. H.; MENDIS, S. S. Bacterial community diversity for three selected land use systems as affected by soil moisture regime. **Applied Soil Ecology**, v. 192, 2023. Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105100>

ANSARI, F. A.; AHMAD, I.; PICHTEL, J.; HUSAIN, F. M. *Pantoea agglomerans* FAP10: A novel biofilm-producing PGPR strain improves wheat growth and soil resilience under salinity stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 222, p. 105759, 2024.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105759>

ANTUNES, J. E. L.; LYRA, M. C. C. P.; OLLERO, F. J.; FREITAS, A. D. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Diversity of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017. Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto. <https://doi.org/10.4238/gmr16029662>

ARIFFIN, H.; ABDULLAH, N.; KALSOM, U.; SHIRAI, Y.; HASSAN, M. A. Production and characterisation of cellulase by *Bacillus pumilus* EB3. **International Journal of Engineering and Technology**. v. 3, n. 1, p. 47–53, 2006.

ATAKPA, E. O.; LI, J.; DONG, F.; LEI, W.; LEI, C.; YUNYI, Z.; KE, H.; SUANON, F.; SESU, F.; ZHOU, L.; ZHENZHEN, L.; TINGTING, H.; HAN, Y. Deciphering the biomolecular mechanisms of calcite precipitation of multi-metals by the novel metallotolerant strain *Priestia aryabhatai* PMASS1. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 117703, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.117703>

BAO, Y.; DOLFING, J.; GUO, Z.; CHEN, R.; WU, M.; LI, Z.; LIN, X.; FENG, Y. Important ecophysiological roles of non-dominant Actinomycetota in plant residue decomposition, especially in less fertile soils. **Microbiome**, v. 9(1), 2021.
<https://doi.org/10.1186/s40168-021-01032-x>

BÁRCENAS-MORENO; G., JIMÉNEZ-COMPÁN, E.; SAN EMETERIO, L. M.; JIMÉNEZ-MORILLO, N. T; GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A. Soil pH and soluble organic matter shifts exerted by heating affect microbial response. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 23, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph192315751>

BASU, S.; LEE, B. W.; CLARK, R. E.; BERA, S.; CASTEEL, C. L.; CROWDER, D. W. Legume plant defenses and nutrients mediate indirect interactions between soil rhizobia and chewing herbivores. **Basic and Applied Ecology**, v. 64, p. 57–67, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.08.005>

BERG, G.; SMALLA, K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>

BHARDWAJ, N.; KUMAR, B.; AGRAWAL, K.; VERMA, P. Current perspective on production and applications of microbial cellulases: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 8, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00447-6>

BOUZOUIDJA, R.; ROUSSEAU, G.; GALZIN, V.; CLAVERIE, R.; LACROIX, D.; SÉRÉ, G. Green roof ageing or Isolatic Technosol's pedogenesis? **Journal of Soils and Sediments**, v. 18, n. 2, p. 418–425, 2018. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s11368-016-1513-3>

BRITO, L. E. M.; REZENDE, A. L. A. DA M.; SILVA, C. O. C. DA; SILVA, H. D.; SILVA, C. D. R.; LUZ, J. H. S. Desenvolvimento e nutrição inicial do milho com inoculação do BIOMAPHOS associado a fontes fosfatadas. **Agri-environmental sciences**, v. 8, n. 2, p. 12, 2022. AgriEnvironmental Sciences - AGRIES. <https://doi.org/10.36725/agries.v8i2.7926>

BRUSSAARD, L.; RUITER, P. C.; BROWN, G. G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 121(3), p. 233–244, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.013>

BU, L.; PENG, Z.; TIAN, J.; ZHANG, X.; CHEN, W.; AN, D.; WEI, G.; WANG, H. Core autotrophic microbes drive functional stability of soil *cbbL*-containing autotrophic microbes during desertification. **Applied Soil Ecology**, v. 190, p. 105027, 2023. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105027>

BUKAR, M.; SODIPO, O.; DAWKINS, K.; RAMIREZ, R.; KALDAPA, J. T.; TARFA, M.; ESIOBU, N. Microbiomes of Top and Sub-Layers of Semi-Arid Soils in North-Eastern Nigeria Are Rich in Bacillota and Pseudomonadota with Surprisingly High Diversity of Rare Species. **Advances in Microbiology**, v. 09(01), p. 102–118, 2019. <https://doi.org/10.4236/aim.2019.91008>

BUZÓN-DURÁN, L.; MOLINUEVO-SALCES, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C.; SÁNCHEZ-BÁSCONES, M.; VITORIA, C.; HORTA, C. Effect of *Streptomyces* spp. metabolites and the combination of biochar and compost on *Fusarium graminearum* inhibition, triticale growth, and soil properties. **Science of the Total Environment**, v. 981, p. 179595, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179595>

CALDWELL, P. E., MACLEAN, M. R., NORRIS, P. R. Ribulose biphosphate carboxylase activity and a Calvin cycle gene cluster in *Sulfobacillus* species. **Microbiology**, v. 153, n. 7, p. 2231–2240, 2007. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/006262-0>

CAMPOS, M.; ANTONANGELO, J. A.; ALLEONI, L. R. F. Phosphorus sorption index in humid tropical soils. **Soil and Tillage Research**, v. 156, p. 110–118, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.09.020>

CARABASSA, V.; DOMENE, X.; DÍAZ, E.; ALCANIZ, J. M. Mid-term effects on ecosystem services of quarry restoration with Technosols under Mediterranean conditions: 10-year impacts on soil organic carbon and vegetation development. **Restoration Ecology**, v. 28, n. 4, p. 960–970, 2020. Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/rec.13072>

CHAI, Y.; J. PANNELL, D.; G. PARDEY, P. Nudging farmers to reduce water pollution from nitrogen fertilizer. **Food Policy**, v. 120, p. 102525, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2023.102525>

CHEN, Q.; DING, J.; ZHU, Y.; HE, J.; HU, H. Soil bacterial taxonomic diversity is critical to maintaining the plant productivity. **Environment International**, v. 140, p. 105766, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105766>

CHENG, Y.; NARAYANAN, M.; SHI, X.; CHEN, X.; LI, Z.; MA, Y. Phosphate-solubilizing bacteria: Their agroecological function and optimistic application for enhancing agro-productivity. **Science of the Total Environment**. v.901, p. 166468, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166468>

CHHETRI, G.; JEON, J.; KIM, H.; CHOI, T.; YANG, Y. Characterization of *Streptomyces* species with poly(3-hydroxybutyrate) degradation capabilities isolated from rice field soil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 307, p. 141795, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.141795>

CHISHOLM, P. J.; CHARLTON, A.; ANDERSON, R. M.; OELLER, L.; REGANOLD, J. P.; CROWDER, D. W. Soil rhizobia promote plant yield by increasing tolerance to pests and pathogens under field conditions. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 384, p. 109552, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2025.109552>

COLEINE, C.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; DIRUGGIERO, J.; GUIRADO, E.; HARFOUCHE, A. L.; PEREZ-FERNANDEZ, C.; SINGH, B. K.; SELBMANN, L.; EGIDI, E. Dryland microbiomes reveal community adaptations to desertification and climate change. **ISME Journal**, v. 18, 2024, Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae056>

COLOMBINI, G.; WATTEAU, F.; AUCLERC, A. Technosol rehabilitation strategies drive soil physico-chemical properties and fauna diversity on a former coking plant area. **Applied Soil Ecology**, v. 177, 2022. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104542>

CURCIO, G. R.; VALMIQUI, C. L.; GIAROLA, N. F. B. Antropossolos: Proposta de Ordem (1 a aproximação). Embrapa, 2004.

DAHLLÖF, I. Molecular community analysis of microbial diversity. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13(3), p. 213-217, 2002. Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00314-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00314-2)

DAI, H.; WEI, S.; LI, J.; KONG, W.; WANG, B.; PEI, J.; WU, J. Fertilization effects on symbiotic and free-living biological nitrogen fixations: Similar effects but different mechanisms. **Applied Soil Ecology**, v. 202, 2024a. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105590>

DAI, M.; YU, J.; ZHAO, M.; PENG, X.; WANG, X.; XI, M. Response of soil water, salt, carbon and bacteria community to terrain and plant in coastal salt marsh. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 298, 2024b. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2024.108652>

DAR, G. H.; SOFI, S.; PADDER, S. A.; KABLI, A. Molecular characterization of rhizobacteria isolated from walnut (*Juglans regia*) rhizosphere in Western Himalayas and assessment of their plant growth promoting activities. **Biodiversitas**, v. 19, n. 2, p. 632–639, 2018. Society for Indonesian Biodiversity. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190245>

DENG, J.; ZHU, W.; ZHOU, Y.; YIN, Y. Soil organic carbon chemical functional groups under different revegetation types are coupled with changes in the microbial community composition and the functional genes. **Forests**, v. 10, n. 3, p. 240, 2019.

<https://doi.org/10.3390/f10030240>

DENG, Z.; YANG, W.; LIN, T.; WANG, Y.; HUA, X.; JIANG, X.; LIU, D.; YE, Z.; ZHANG, Y.; LYNCH, M.; LONG, H.; PAN, J. Multidimensional insights into the biodiversity of *Streptomyces* in soils of China: a pilot study. **Microbiology Spectrum**, v. 13, n. 5, 2025.

<https://doi.org/10.1128/spectrum.01692-24>

DINESH, R.; SREENA, C. P.; SHEEJA, T. E.; KUMAR, I. P. V.; PRAVEENA, R., CHARLES, S.; SRINIVASAN, V.; JAYARAJAN, K.; SAJITH, V.; SUBILA, K. P.; HARITHA, P. Soil polluted with nano ZnO reveals unstable bacterial communities and decoupling of taxonomic and functional diversities. **Science of the Total Environment**, v.889, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164285>

DIP, D. P.; SANNAZZARO, A. I.; OTONDO, J.; PISTORIO, M.; ESTRELLA, M. J. Exploring Phosphate Solubilizing Bacterial Communities in Rhizospheres of Native and Exotic Forage Grasses in Alkaline-Sodic Soils of the Flooding Pampa. **Current Microbiology**, v. 81, n. 7, 2024. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-024-03704-x>

DOBEREINER, J.; ANDRADE, V. O.; BALDANI, V. L. D. Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia. **Embrapa**, 1999.

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

DOMBEK, P. E.; JOHNSON, L. K.; ZIMMERLEY, S. T.; SADOWSKY, M. J. Use of Repetitive DNA Sequences and the PCR To Differentiate *Escherichia coli* Isolates from Human and Animal Sources. **Applied and environmental microbiology**, v. 66(6), p. 2572-2577, 2000. American Society for microbiology.

<https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2572-2577.2000>

DOMÍNGUEZ-HAYDAR, Y.; VELÁSQUEZ, E.; CARMONA, J.; LAVELLE, P.; CHAVEZ, L. F.; JIMÉNEZ, J. J. Evaluation of reclamation success in an open-pit coal mine using integrated soil physical, chemical and biological quality indicators. **Ecological Indicators**, v. 103, p. 182–193, 2019. Elsevier B.V.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.04.015>

DUCHATEAU, S.; CROUZET, J.; DOREY, S.; AZIZ, A. The plant-associated *Pantoea* spp. as biocontrol agents: Mechanisms and diversity of bacteria-produced metabolites as a prospective tool for plant protection. **Biological Control**, v.188, p. 105441, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105441>

DYNARSKI, K. A.; HOULTON, B. Z. Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation. **New Phytologist**, v. 217(3), p. 1050–1061, 2018. <https://doi.org/10.1111/nph.14905>

EDWARDS, U.; ROGALL, T.; BLÖCKER, H.; EMDE, M.; BÖTTGER, E. C. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. **Nucleic Acids Research**, v. 17, n. 19, p. 7843–7853, 1989.

<https://doi.org/10.1093/nar/17.19.7843>

EMBRAPA SOLOS. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 6^a, rev.ampl. ed. Brasília-DF, 2025.

ERCOLE, T. G.; KAVA, V. M.; ALUIZIO, R.; PAULETTI, V.; HUNGRIA, M.; GALLI-TERASAWA, L. V. Co-inoculation of *Bacillus velezensis* and *Stenotrophomonas maltophilia* strains improves growth and salinity tolerance in maize (*Zea mays* L.). **Rhizosphere**, v. 27, p. 100752, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100752>

FAN, M.; XIAO, X.; GUO, Y.; ZHANG, J.; WANG, E.; CHEN, W.; LIN, Y.; WEI, G. Enhanced phytoremediation of *Robinia pseudoacacia* in heavy metal-contaminated soils with rhizobia and the associated bacterial community structure and function. **Chemosphere**, v. 197, p. 729–740, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.102>

FAROOQ, A.; KANWAL, R.; BASHIR, K.; TIAN, X.; CHEN, Y.; LIU, D.; ZHANG, L.; XIANG, Q.; ZHAO, K.; YU, X.; CHEN, Q.; PENTTINEN, P.; GU, Y. Multi-omics analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* S-11 reveals its potential for Pb²⁺ bioremediation in contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 495, p. 138867, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.138867>

FOX, G. E.; PECHMAN, K. R.; WOESE, C. R. Comparative Cataloging of 16s Ribosomal Ribonucleic Acid: Molecular Approach to Procaryotic Systematics. **International journal of systematic bacteriology**, v. 27(1), p. 44-57, 1977. <https://doi.org/10.1099/00207713-27-1-44>

FROUZ, J.; JÍLKOVÁ, V.; CAJTHAML, T.; PIŽL, V.; TAJOVSKÝ, K.; HÁNĚL, L.; BUREŠOVÁ, A.; ŠIMÁČKOVÁ, H.; KOLAŘÍKOVÁ, K.; FRANKLIN, J.; NAWROT, J.; GRONINGER, J. W.; STAHL, P. D. Soil biota in post-mining sites along a climatic gradient in the USA: Simple communities in shortgrass prairie recover faster than complex communities in tallgrass prairie and forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 67, p. 212–225, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.025>

FROUZ, J.; KEPLIN, B.; PIŽL, V.; TAJOVSKÝ, K. T.; STARYÁ, J. S.; LUKEŠOVÁ, A.; NOVÁKOVÁ, A.; BALÍK, V.; HÁNĚL, L.; MATERNA, J.; DŮ K. B. C.; CHALUPSKÝ, J. C.; RUSEK, J.; HEINKELE, T. Soil biota and upper soil layer development in two contrasting postmining chronosequences. **Ecological Engineering**, v. 17, p. 275-284, 2001.

FROUZ, J.; NOVÁKOVÁ, A. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development. **Geoderma**, v. 129, p. 54–64, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.033>

GENG, X. D.; ZHOU, Y.; WANG, C. Z.; YU, M. H.; QIAN, J. L. Bacterial community structure and diversity in the soil of three different land use types in a coastal wetland. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 18(6), p. 8131–8144, 2020.

https://doi.org/10.15666/aeer/1806_81318144

GOMES, E. A.; LANA, U. G. P.; ALVES, V. M. C.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; GODINHO, B. T. V.; SOUSA, S.M. Mecanismos das bactérias promotoras do crescimento de plantas na mitigação dos efeitos do déficit hídrico. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022.

HANANO, A.; MOURSEL, N.; OBEID, M. H. Exploring the biodegradation activity of *Priestia aryabhattai* 1–3I, a promising chlorpyrifos-degrading strain isolated from a local phosphogypsum landfill. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 211, p. 106416, 2025.

<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2025.106416>

HE, Z.; ZHU, F.; SUN, S.; ZHANG, Y.; MIN, R.; YANG, H.; XU, L.; YIN, D.; XU, W. Genomic and functional characterization of the *Pantoea ananatis* nfd35 strain, a potential biocontrol agent of anthracnose disease in *Trichosanthes kirilowii* Maxim. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 138, p. 102683, 2025. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2025.102683>

HUANG, L.; FANG, Y.; LIU, Y.; WU, S.; PARRY, D. Ecological engineering to accelerate mineral weathering and transformation underpins sustainable tailings rehabilitation.

Proceedings of the International Conference on Mine Closure. Anais. p.163–174, 2019.

Australian Centre for Geomechanics. https://doi.org/10.36487/ACG_rep/1915_14_Huang

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: Embrapa-CNPAF, 1994.

ISAKOVSKI, M. K.; JEVROSIMOV, I.; TAMINDŽIJA, D.; APOSTOLOVIĆ, T.; KNICKER, H.; DE LA ROSA, J. M.; RONČEVIĆ, S.; MALETIĆ, S. Enhanced retention of hydrophobic pesticides in subsurface soils using organic amendments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 480, p. 135738, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135738>

ITURRALDE, E. T.; COVELLI, J. M.; ALVAREZ, F.; PÉREZ-GIMÉNEZ, J.; ARRESE-IGOR, C.; LODEIRO, A. R. Soybean-nodulating strains with low intrinsic competitiveness for nodulation, good symbiotic performance, and stress-tolerance isolated from soybean-cropped soils in Argentina. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. Frontiers Media S.A.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01061>

JAGADESH, M.; DASH, M.; KUMARI, A.; SINGH, S. K.; VERMA, K. K.; KUMAR, P.; BHATT, R.; SHARMA, S. K. Revealing the hidden world of soil microbes: Metagenomic insights into plant, bacteria, and fungi interactions for sustainable agriculture and ecosystem restoration. **Microbiological Research**, v. 285, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127764>

JIAO, S.; CHEN, W.; WANG, J.; DU, N.; LI, Q.; WEI, G. Soil microbiomes with distinct assemblies through vertical soil profiles drive the cycling of multiple nutrients in reforested ecosystems. *Microbiome*, v. 6(1), 2018. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0526-0>

KACERGIUS, A., SIVOJIENE, D. Microbial diversity and abundance in loamy sandy soil under renaturalization of former arable land. *PeerJ*, v. 11, 2023. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.14761>

KESHRI, J.; MISHRA, A.; JHA, B. Microbial population index and community structure in salinealkaline soil using gene targeted metagenomics. *Microbiological Research*, v. 168, n. 3, p. 165–173, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.09.005>

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, n. 7, p. 1870–1874, 2016. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW054>

LAI, Z.; LIU, Z.; ZHAO, Y.; QIN, S.; ZHANG, W.; LANG, T.; ZHU, Z.; SUN, Y. Distinct microbial communities under different rock-associated microhabitats in the Qaidam Desert. *Environmental Research*, v. 250, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2024.118462>

LEAL FILHO, W.; SETTI, A. F. F.; AZEITEIRO, U. M.; LOKUPITIYA, E.; DONKOR, F. K.; ETIM, N. N.; MATANDIROTYA, N.; OLOOTO, F. M.; SHARIFI, A.; NAGY, G. J.; DJEKIC, I. An overview of the interactions between food production and climate change. *Science of the Total Environment*, v. 838, p. 156438, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156438>

LEAL, L.; FRANCO, D. C.; VANEGAS, J. Seasonality and vegetation shape the taxonomic and functional diversity of microorganism in islands of fertility of a semi-arid region in the Colombian tropics. *Rhizosphere*, v. 30, p. 100894, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100894>

LEGUÉDOIS, S.; SÉRÉ, G.; AUCLERC, A.; CORTET, J.; HUOT, H.; OUVARD, S.; WATTEAU, F.; SCHWARTZ, C.; MOREL, J. L. Modelling pedogenesis of Technosols. *Geoderma*, v. 262, p. 199-2012, 2016. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.008>

LI, H. P.; HAN, Q. Q.; LIU, Q. M.; GAN, Y. N.; RENSING, C.; RIVERA, W. L.; ZHAO, Q.; ZHANG, J. L. Roles of phosphate-solubilizing bacteria in mediating soil legacy phosphorus availability. *Microbiological Research*, v. 272, 2023. Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127375>

LI, K.; XING, X.; WANG, S.; LIAO, R.; HASSAN, M. U.; AAMER, M.; BARBANTI, L.; WEN, T.; XU, H. Organic fertilisation enhances network complexity among bacteria, fungi, and protists by improving organic matter and phosphorus in acidic agricultural soils. *European Journal of Soil Biology*, v. 122, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103649>

LIAO, H.; ZHENG, C.; LI, J.; LONG, J.; LI, Y.; YAO, H. Factors influencing the global distribution of soil free-living nitrogen fixation in terrestrial ecosystems. **Applied Soil Ecology**, v. 213, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.106285>

LIMA, A. P. A.; BUSO, W. H. D. Uso de BIOMAPHOS no tratamento de sementes de híbridos de milho cultivado na safrinha. Anápolis: Revista Mirante, v. 15, n. 1, 2022. <https://doi.org/10.31668/mirante.v15i1.12799>

LIU, G.; CHEN, L.; DENG, Q.; SHI, X.; LOCK, T. R.; KALLENBACH, R. L.; YUAN, Z. Vertical changes in bacterial community composition down to a depth of 20 m on the degraded Loess Plateau in China. **Land Degradation and Development**, v. 31(10), p. 1300–1313, 2020. <https://doi.org/10.1002/ldr.3542>

LIU, L.; HUANG, W. C.; LIU, Y.; LI, M. Diversity of cellulolytic microorganisms and microbial cellulases. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 163, p. 105277, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105277>

LIU, X., XIONG, Z., OUYANG, L.; HE, G.; LIU, W.; CAI, M. Macrohabitat and microhabitat mediate the relationships between wetland multifaceted biodiversity and multifunctionality. **Catena**, v. 241, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2024.108023>

MA, H.; SUN, Q.; ZHANG, X.; JIANG, P. Regulation of subsurface drip fertigation on nitrogen cycling soil microorganisms and N₂O and NH₃ emissions from aeolian sandy soil in alfalfa field in temperate arid regions. **Field Crops Research**, v. 326, p. 109748, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2025.109748>

MARAVILLA, S. M. B.; CASTORENA, M. C. G.; VALLECILLO, G. A. H.; SOLORIO, C. A. O.; CASTORENA, E. V. G. Soils formed from non-organic limnic materials and the anthropic influence on their classification. **Catena**, v. 255, p. 109041, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2025.109041>

MARGALEF, R. Information theory in ecology. Burlington, Ont: Fisheries Research Board of Canada, 140 p., 1973.

Mineração Tomaz Salustino S/A. **História**. Disponível em: <https://minabrejui.com.br/historia/>. Acesso em 23 de agosto 2023.

MIRZA, B. S.; POTISAP, C.; NÜSSLEIN, K.; BOHANNAN, B. J.M.; RODRIGUESA, J. L. M. Response of free-living nitrogen-fixing microorganisms to land use change in the amazon rainforest, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 1, p. 281–288, 2014. <https://doi.org/10.1128/AEM.02362-13>

MISHRA, R. K.; PANDEY, B. K.; PATHAK, N.; ZEESHAN, M. BOX-PCR- and ERIC-PCR-based genotyping and phylogenetic correlation among *Fusarium oxysporum* isolates associated with wilt disease in *Psidium guajava* L. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 25–32, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.012>

MNG'ONG'O, M. E.; OJIJA, F.; ALOO, B. N. The role of Rhizobia toward food production, food and soil security through microbial agro-input utilization in developing countries. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 8, p. 100404, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100404>

MOALEDJ, K. Comparison of Gram-staining and alternate methods, KOH test and aminopeptidase activity in aquatic bacteria: their application to numerical taxonomy. **Journal of Microbiological Methods**. p. 303-310, 1986.

NACARIO, M. A. G.; DELA PENA, L. B. R. O.; LABRADOR, K. L.; RIVERA, W. L. DNA fingerprinting using BOX-A1R and (GTG)₅ primers identify spatial variations of fecal contamination along Pasig River, Philippines. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 12, 2022. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.

<https://doi.org/10.1007/s10661-022-10504-y>

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265–270, 1999. Oxford University Press (OUP). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>

OKOLO, C. C.; GEBRESAMUEL, G.; ZENEBE, A.; HAILE, M.; ORJI, J. E.; OKEBALAMA, C. B.; EZE, C. E.; EZE, E.; EZE, P. N. Soil organic carbon, total nitrogen stocks and CO₂ emissions in top- and subsoils with contrasting management regimes in semi-arid environments. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-28276-x>

OLIVEIRA FILHO, J. S.; PEREIRA, M. G. Is Environmental Contamination a Concern in Global Technosols? A Bibliometric Analysis. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 234, n. 3, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06171-5>

PAJARES, S.; BOHANNAN, B. J. M. Ecology of nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01045>

PAL, D. C.; KHAN, S. N.; KARIM, M. M. Draft genome sequence and annotation of *Priestia aryabhattai* MS3, a salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiology Resource Announcements**, v. 14, n. 5, 2025. <https://doi.org/10.1128/mra.00026-25>

PAUSTIAN, K.; LARSON, E.; KENT, J.; MARX, E.; SWAN, A. Soil C Sequestration as a Biological Negative Emission Strategy. Frontiers in Climate. **Frontiers Media S.A.**, v. 1, 2019. <https://doi.org/10.3389/fclim.2019.00008>

PHAM, V. H. T.; KIM, J. Cultivation of unculturable soil bacteria. **Trends in Biotechnology**. v. 30, p. 475-484, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.05.007>

QIU, J.; CAO, J.; LAN, G.; LIANG, Y.; WANG, H.; LI, Q. The influence of land use patterns on soil bacterial community structure in the karst graben basin of Yunnan province. **Forests**, v. 11, n. 1, p. 51, 2020. <https://doi.org/10.3390/f11010051>

RANJAN, R.; RAI, R.; BHATT, S. B.; DHAR, P. Technological Road map of Cellulase: A comprehensive outlook to structural, computational, and industrial applications. **Biochemical Engineering Journal**, v. 198, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109020>

REN, M.; XU, J.; GENG, M.; ZHANG, L.; KIMIREI, I. A.; XU, Y.; WANG, J. Soil bacteria and fungi on tropical mountainsides: Joint effects of weathering, climate, and chemical factors. **Environmental Research**, v. 263, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2024.120027>

RILLIG, M. C.; RYO, M.; LEHMANN, A.; AGUILAR-TRIGUEROS, C. A.; BUCHERT, S.; WULF, A.; IWASAKI, A.; ROY, J.; YANG, G. The role of multiple global change factors in driving soil functions and microbial biodiversity. **Science**, v. 366(6467), p. 886–890, 2019. <https://doi.org/10.1126/science.aay2832>

RIPPKA, E.; DERUELLES, J.; WATERBURY, N. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R. Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1-61. <https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>

RUIZ, F.; RESMINI SARTOR, L.; DE SOUZA JÚNIOR, V. S.; CHEYSON BARROS DOS SANTOS, J.; OSÓRIO FERREIRA, T. Fast pedogenesis of tropical Technosols developed from dolomitic limestone mine spoils (SE-Brazil). **Geoderma**, v. 374, 2020a. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114439>

RUIZ, F.; CHERUBIN, M. R.; FERREIRA, T. O. Soil quality assessment of constructed Technosols: Towards the validation of a promising strategy for land reclamation, waste management and the recovery of soil functions. **Journal of Environmental Management**, v. 276, 2020b. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111344>

RUIZ, F.; PERLATTI, F.; OLIVEIRA, D. P.; FERREIRA, T. O. Revealing tropical Technosols as an alternative for mine reclamation and waste management. **Minerals**, v. 10(2), p. 110, 2020c. <https://doi.org/10.3390/min10020110>

RUIZ, F.; ANDRADE, G. R. P.; SARTOR, L. R.; SANTOS, J. C. B.; SOUZA JÚNIOR, V. S.; FERREIRA, T. O. The rhizosphere of tropical grasses as driver of soil weathering in embryonic Technosols (SE-Brazil). **Catena**, v. 208, 2022. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105764>

SANTORUFO, L.; JOIMEL, S.; AUCLERC, A.; DEREMIENS, J.; GRISARD, G.; HEDDE, M.; NAHMANI, J.; PERNIN, C.; CORTET, J. Early colonization of constructed Technosol by microarthropods. **Ecological Engineering**, v. 162, 2021. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2021.106174>

SCHAD, P. Technosols in the World Reference Base for Soil Resources—history and definitions. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 64, n. 2, p. 138–144, 2018. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/00380768.2018.1432973>

SHAHWAR, D.; MUSHTAQ, Z.; MUSHTAQ, H.; ALQARAWI, A. A.; PARK, Y.; ALSHAHRANI, T. S.; FAIZAN, S. Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review. **Heliyon**, v. 9(6), 2023. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16134>

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. The Mathematical Theory of Communication. Urbana, IL: University of Illinois Press. 1949.

SHARMA, P.; CHANDRA, R.; YADAV, S. Quantification of microbial communities in activated sludge containing lignin and chlorophenol from the pulp and paper industry as determined by 16S rRNA analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 21, 2023. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101371>

SHARMA, S.; SINGH, P.; GUPTA, N.; UTREJA, D.; KASANA, R. C. Bacterial diversity and enzymatic activities in poplar chronosequence: Implications for soil carbon dynamics in a semi-arid ecosystem. **Forest Ecology and Management**, v. 562, p. 121933, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121933>

SILVA, R. J. A. B. **Pedogênese inicial de tecnossolos originados de rejeitos da mineração de scheelita no semiárido brasileiro**. 2023. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco Recife-PE, 2023.

SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. *Nature*, v. 163, p. 688, 1949.

SIVOJIENE, D.; KACERGIUS, A.; BAKSIENE, E.; MASEVICIENE, A.; ZICKIENE, L. The influence of organic fertilizers on the abundance of soil microorganism communities, agrochemical indicators, and yield in east lithuanian light soils. **Plants**, v. 10, n. 12, 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/plants10122648>

SMITH, C. J.; OSBORN, A. M. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR) based approaches in microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 67(1), p. 6-20, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00629.x>

SORIA, R.; GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A.; ROSA, J. M.; EMETERIO, L. M. S.; DOMENE, M. A.; ORTEGA, R.; MIRALLES, I. Effects of Technosols based on organic amendments addition for the recovery of the functionality of degraded quarry soils under semiarid Mediterranean climate: A field study. **Science of the Total Environment**, v. 816, 2022. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151572>

SORIA, R.; ORTEGA, R.; VALIENTE, N.; RODRÍGUEZ-BERBEL, N.; LUCAS-BORJA, M. E.; MIRALLES, I. Monitoring of indicators and bacterial succession in organic-amended Technosols for the restoration of semiarid ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 954, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176302>

SOUII, A., GUESMI, A., OUERTANI, R.; CHERIF, H.; CHOUCANE, H.; CHERIF, A.; NEIFAR, M. Carboxymethyl Cellulase Production by Extremotolerant Bacteria in Low-Cost

Media and Application in Enzymatic Saccharification of Stevia Biomass. **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, n. 5, p. 2111–2122, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0496-2>

STEVEN, B.; GALLEGOS-GRAVES, L. V.; BELNAP, J.; KUSKE, C. R. Dryland soil microbial communities display spatial biogeographic patterns associated with soil depth and soil parent material. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 86(1), p. 101–113, 2013. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12143>

SUN, X.; WANG, W.; YI, S.; ZHENG, F.; ZHANG, Z.; ALHARBI, S. A.; FILIMONENKO, E.; WANG, Z.; KUZYAKOV, Y. Microbial composition in saline and alkaline soils regulates plant growth with P-solubilizing bacteria. **Applied Soil Ecology**, v. 203, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105653>

SUN, Y.; TANG, L.; CUI, Y.; YANG, D.; GAO, H.; CHEN, J.; ZHENG, Z.; GUO, C. Inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria and rhizobia changes the protist community of alfalfa rhizosphere soil under saline-alkali environment. **Applied Soil Ecology**, v. 206, p. 105775, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105775>

TIAN, J.; BU, L.; ZHANG, M.; YUAN, J.; ZHANG, Y.; WEI, G.; WANG, H. Soil bacteria with distinct diversity and functions mediates the soil nutrients after introducing leguminous shrub in desert ecosystems. **Global Ecology and Conservation**, v. 31, p. e01841, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01841>

VIRUEL, E.; FONTANA, C. A.; PUGLISI, E.; NASCA, J. A.; BANEGAS, N. R.; COCCONCELLI, P. S. Land-use change affects the diversity and functionality of soil bacterial communities in semi-arid Chaco region, Argentina. **Applied Soil Ecology**, v. 172, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104362>

XIAO, E.; WANG, Y.; XIAO, T.; SUN, W.; DENG, J.; JIANG, S.; FAN, W.; TANG, J.; NING, Z. Microbial community responses to land-use types and its ecological roles in mining area. **Science of the Total Environment**, v. 775, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145753>

XIAO, J.; LAN, S.; ZHANG, Z.; YANG, L.; QIAN, L.; XIA, L.; SONG, S.; FARÍAS, M. E.; TORRES, R. M.; WU, L. Physical disturbance reduces Cyanobacterial relative abundance and substrate metabolism potential of biological soil crusts on a gold mine tailing of central China. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1-13, 2022. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.811039>

XUN, W.; LI, W.; XIONG, W.; Ren, Yi; LIU, Y.; MIAO, Y.; XU, Z.; ZHANG, N.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Diversity-triggered deterministic bacterial assembly constrains community functions. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 3833, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11787-5>

YANG, Y.; ZHANG, Y.; JIA, G.; WANG, L.; YU, X. Contributions of biotic and abiotic factors to soil aggregation under different thinning intensities. **Ecological Indicators**, v. 139,

p. 108958, 2022a. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108958>

YANG, F.; HUANG, M.; LI, C.; WU, X.; FANG, L. Vegetation restoration increases the diversity of bacterial communities in deep soils. **Applied Soil Ecology**, v. 180, 2022b. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104631>

WANG, L.; WANG, J.; TANG, Z.; WANG, J.; ZHANG, Y. Long-term organic fertilization reshapes the communities of bacteria and fungi and enhances the activities of C- and P-cycling enzymes in calcareous alluvial soil. **Applied Soil Ecology**, v. 194, 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105204>

WANG, Y.; DONG, L.; ZHANG, M.; CUI, Y.; BAI, X.; SONG, B.; ZHANG, J.; YU, X. Dynamic microbial community composition, co-occurrence pattern and assembly in rhizosphere and bulk soils along a coniferous plantation chronosequence. **Catena**, v. 223, p. 1069, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2023.106914>

WANG, Z.; DENG, H.; LI, F.; SUN, Y.; HONG, S. Optimized soil bacterial structure following grazing exclusion promotes soil nutrient cycling and plant growth. **Journal of Arid Environments**, v. 213, 2023. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2023.104977>

WOESE, C. R. Bacterial evolution. **Microbiological Reviews**, v. 51, n. 2, p. 221–271, 1987. <https://doi.org/10.1128/mr.51.2.221-271.1987>

WRB. World reference base for soil resources 2022: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 4 ed. Vienna: International Union of Soil Sciences, 2022.

WU, M.; XIE, S.; ZANG, J.; SUN, Y.; XU, S.; LI, S.; WANG, J. Multiple anthropogenic environmental stressor's structure soil bacterial diversity and community network. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 198, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109560>

ZÁDOROVÁ, T.; PENÍŽEK, V.; MIHALJEVIČ, M.; KOUBOVÁ, M.; LISÁ, L.; ETTLER, V.; TEJNECKÝ, V.; DRÁBEK, O.; PAVLŮ, L.; KŘÍBEK, B.; VANĚK, A.; SRACEK, O.; ROJAS, J. R.; HRDLÍČKA, T.; VOKURKOVÁ, P.; MAPANI, B. Local diversity of soil forming processes in the semi-arid tropics and its environmental drivers: An example from Otavi Mountains, northern Namibia. **Catena**, v. 249, p. 108671, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2024.108671>

ZHANG, J.; GUO, X.; SHAN, Y.; LU, X.; CAO, J. Effects of land-use patterns on soil microbial diversity and composition in the Loess Plateau, China. **Journal of Arid Land**, v. 16, n. 3, p. 415–430, 2024. <http://dx.doi.org/10.1007/s40333-024-0007-1>

ZHAO, K.; ZHANG, B.; LI, J.; LI, B.; WU, Z. The autotrophic community across developmental stages of biocrusts in the Gurbantunggut Desert. **Geoderma**, v. 388, 2021. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.114927>

ZHENG, L.; WANG, S.; GU, X.; GAO, A.; LIU, L.; WU, X.; PAN, H.; ZHANG, H. *Pantoea jilinensis* D25 enhances tomato salt tolerance via altering antioxidant responses and soil microbial community structure. **Environmental Research**, v. 243, p.117846, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117846>

ZHOU, Z.; WANG, C.; CHA, X.; ZHOU, T.; PANG, X.; ZHAO, F.; HAN, X.; YANG, G.; WEI, G.; REN, C. The biogeography of soil microbiome potential growth rates. **Nature communications**, v. 15, n. 1, p. 9472, 2024a. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53753-w>

ZHOU, D.; WANG, X.; ANJAGO, W. M.; LI, J.; LI, W.; LI, M.; JIU, M.; ZHANG, Q.; ZHANG, J.; DENG, S.; YE, Y.; NAVARRO-MUÑOZ, J. C.; DALY, P.; WEI, L. Borrelidin-producing and root-colonizing *Streptomyces rochei* is a potent biopesticide for two soil-borne oomycete-caused plant diseases. **Biological Control**, v. 188, p. 105411, 2024b.

<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105411>

ZHU, J.; LI, M.; WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 522–537, 2018. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095>

ZHU, X.; GONG, W.; LI, W.; BAI, X.; ZHANG, C. Reclamation of waste coal gangue activated by *Stenotrophomonas maltophilia* for mine soil improvement: Solubilizing behavior of bacteria on nutrient elements. **Journal of Environmental Management**, v. 320, p. 115865, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115865>

ZOCHE, J. J.; SEHN, L. M.; PILLON, J. G.; SCHNEIDER, C. H.; OLIVO, E. F.; RAUPPEREIRA, F. Technosols in coal mining areas: Viability of combined use of agro-industry waste and synthetic gypsum in the restoration of areas degraded. **Cleaner Engineering and Technology**, v. 13, 2023. Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.clet.2023.100618>

ZUO, H.; XU, W.; LIU, Z.; SMAILL, S. J.; ZHOU, X. Long-term plant diversity increases soil extractable organic carbon and nitrogen contents in a subtropical forest. **Science of the Total Environment**, v. 878, p. 163118, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163118>