



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**INFLUÊNCIA DAS DIFERENTES FITOFISIONOMIAS DA CANGA FERRUGINOSA  
SOBRE A DIVERSIDADE E FUNCIONALIDADE DA MICROBIOTA ASSOCIADA  
AOS SOLOS DA SERRA DOS CARAJÁS-PA**

Mabel Patricia Ortiz Vera

Belém  
Novembro 2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**INFLUÊNCIA DAS DIFERENTES FITOFISIONOMIAS DA CANGA FERRUGINOSA  
SOBRE A DIVERSIDADE E FUNCIONALIDADE DA MICROBIOTA ASSOCIADA  
AOS SOLOS DA SERRA DOS CARAJÁS-PA**

Mabel Patricia Ortiz Vera

Teses submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFPA como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Corrêa de Oliveira

Belém  
Novembro 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

O77i Ortiz Vera, Mabel Patricia.  
INFLUÊNCIA DAS DIFERENTES FITOFISIONOMIAS DA  
CANGA FERRUGINOSA SOBRE A DIVERSIDADE E  
FUNCIONALIDADE DA MICROBIOTA ASSOCIADA AOS  
SOLOS DA SERRA DOS CARAJÁS-PA / Mabel Patricia Ortiz  
Vera. — 2022.  
42 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Guilherme Corrêa de Oliveira  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de  
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Biologia Molecular, Belém, 2022.

1. Assinatura genética. 2. Cangas. 3. Diversidade funciona.  
4. Diversidade taxonômica. 5. Metagenômica. 1. Título.

CDD 576

---



## **INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS**

Laboratório de genômica do Instituto Tecnológico

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 88882.347930/2019-01.

*“Só depois da última árvore derrubada, do último rio poluído, do último peixe morto, o homem irá perceber que dinheiro não se come”*

*Alanís Obomsawin*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Guilherme Oliveira, pela oportunidade de fazer parte da sua equipe e pela sua disposição em me ajudar, não apenas em questões acadêmicas, mas também pessoais, junto a sua esposa Laura Volpini foram a família que Alana não tinha em Belem.

Ao Rodolfo por toda a paciência, ajuda e motivação para que eu pudesse concluir o trabalho;

A minha amada Alana, minha maior motivação;

A toda minha família

À Universidade Federal do Pará;

Ao Instituto Tecnológico Vale e todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho no Instituto;

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS .....	3
AGRADECIMENTOS .....	5
RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	8
INTRODUÇÃO GERAL .....	10
<i>Microbiota do solo e o ciclo do nitrogênio</i> .....	12
<i>Uso de ferramentas de metagenoma no estudo do microbioma de cangas</i> .....	13
OBJETIVOS .....	14
Objetivo geral .....	14
Objetivos específicos .....	14
CAPITULO 1 .....	15
Data Descriptor: A metagenomic survey of soil microbial communities along a rehabilitation chronosequence after iron ore mining .....	15
CAPITULO 2 .....	16
Interactions between bacterial, fungal and plant communities, ensure nitrogen cycling in nutrient-deprived Canga soils .....	16
CAPITULO 3 .....	17
Influência das diferentes fitofisionomias da canga ferruginosa sobre a diversidade e funcionalidade da microbiota - Serra dos Carajás .....	17
BIBLIOGRAFIA .....	36
PUBLICAÇÕES EM PARCERIA DURANTE O DOUTORADO .....	42

## RESUMO

O complexo montanhoso da Serra dos Carajás encontra-se em áreas isoladas inseridas na matriz florestal da floresta amazônica, considerada uma das maiores províncias minerais do mundo. Estas áreas se caracterizam pelo alto conteúdo de metais, especialmente ferro, originando um solo superficial conhecido como canga e caracterizado pela sua acidez, deficiência em nutrientes e pouca drenagem. As cangas ferruginosas abrigam espécies de plantas endêmicas, que exibem uma série de modificações fisiológicas para sobreviverem em esses ambientes, e ocorrem em quatro fitofisionomias (*woodland*, *vellozia*, *grassland* e *scrubland*). O objetivo principal do presente trabalho foi descrever a composição e funcionalidade da comunidade microbiana associada aos solos das Cangas ferruginosas, visando compreender os processos de ciclagem de nutrientes presentes nestes ecossistemas. O DNA dos microrganismos presentes em 48 amostras de solo coletadas ao longo da Floresta Nacional de Carajás foi extraído e sequenciado na plataforma NextSeq 500 Illumina, e os resultados analisados em um pipeline instalado localmente, o qual para ser avaliado, foi realizada uma comparação entre comunidades microbianas de uma cronosequência de reabilitação de terras de mineradas e vegetação nativa no sudoeste do Brasil, identificando arqueias, bactérias, vírus e a classificação funcional. Posteriormente, o pipeline desenvolvido foi utilizado para caracterizar a comunidade microbiana em geral, bactérias fixadoras de nitrogênio, arqueias e fungos micorrízicos, para análise do ciclo do nitrogênio. Os resultados mostraram que existem diferenças significativas na composição microbiana geral, aquela envolvida no ciclo do nitrogênio, e as proteínas encontradas nas diferentes fitofisionomias. Ao realizar uma análise de RDA, foi encontrado que o ferro influenciou significativamente a estrutura da comunidade geral, e o ferro e sódio influenciaram significativamente a estrutura da comunidade envolvida no ciclo do nitrogênio. A cobertura vegetal ao longo da canga e a comunidade microbiana e de fungos micorrízicos mostraram-se significativamente

correlacionadas. Finalmente foram encontrados gêneros microbianos e proteínas indicadoras em cada fitofisionomia, em quanto a comunidade *core* (aqueles gêneros presentes em mais de 80% das amostras) foi de 80.28%. O estudo mostra a forte relação entre as comunidades microbianas e a composição vegetal das Cangas ferruginosas, salientando a importância do estudo da ciclagem de nutrientes em estes solos para entender o funcionamento destes ecossistemas.

## ABSTRACT

The mountainous complex of Serra dos Carajás is located in isolated areas inserted in the forest matrix of the Amazon forest, considered one of the largest mineral provinces in the world. These areas, known as cangas, are characterized by the high content of metals, especially iron, and by its acidity, nutrient deficiency and poor drainage. The ferruginous cangas harbor endemic plant species, which exhibit a series of physiological modifications to survive in these environments, and occur in four phytophysiognomies (woodland, vellozia, grassland and scrubland). The main objective of the present work was to describe the composition and functionality of the microbial community associated with the soils of the ferruginous cangas, in order to understand the nutrient cycling processes present in these ecosystems. The DNA of microorganisms present in 48 soil samples collected along the Carajás National Forest was extracted and then sequenced on the NextSeq 500 Illumina platform, and the results analyzed in a locally installed pipeline, which to be evaluated, a comparison was made between microbial communities from a chronosequence of rehabilitation of mined lands and native vegetation in southwestern Brazil, identifying archaea, bacteria, viruses and the functional classification. Subsequently, the pipeline developed was used to characterize the microbial community in general, nitrogen fixing bacteria, archaea and mycorrhizal fungi, for analysis of the nitrogen cycle. The results showed that there are significant differences in the general microbial composition, that involved in the nitrogen cycle, and the proteins found in the different phytophysiognomies. When performing an RDA analysis, it was found that iron significantly influenced the structure of the general community, and iron and sodium significantly influenced the structure of the community involved in the nitrogen cycle. Vegetation cover along the canga and the microbial and mycorrhizal fungal community were significantly correlated. Finally, microbial genera and indicator proteins were found in each phytophysiognomy, while the core community (those genera present in more than 80% of the samples) was 80.28%. The study shows the strong

relationship between microbial communities and plant composition of ferruginous Canga, highlighting the importance of studying nutrient cycling in these soils to understand the functioning of these ecosystems.

## INTRODUÇÃO GERAL

A floresta amazônica é o maior reservatório de espécies vegetais e animais do mundo, contendo aproximadamente um terço de todas as espécies terrestres. A floresta amazônica contém quase um quarto da água doce e produz um terço do oxigênio do mundo e contém metade das florestas tropicais globais (HECKENBERGER et al., 2007; JESUS et al., 2009). Embora as formações florestais sejam predominantes na Amazônia, também existem formações abertas, como savanas, capinaranas e campos rupestres. Essas formações encontram-se em áreas isoladas inseridas na matriz florestal, abrigando ambientes fitogeográficos bem distintos e com alto grau de endemismo (MOTA et al., 2018), o que faz desse ecossistema um lugar de importância ecológica, por ser único dentro do contexto amazônico (NUNES et al., 2015).

Localizado no sudeste do estado do Pará, o complexo montanhoso da Serra dos Carajás se caracteriza pela riqueza de recursos minerais, relevo acidentado e presença de platôs de afloramentos de rochas ferruginosas isolados, denominados canga ferruginosa (VIANA et al., 2016). As principais características das áreas de canga são as altas concentração de metais pesados, temperaturas elevadas, alta exposição ultravioleta (UV) e solos ácidos, com pouca retenção de água e nutrientes que abriga uma vegetação adaptada a estas condições, o que faz da canga um ambiente com um número alto de espécies endêmicas (NUNES et al., 2015; SCHETTINI et al., 2018). Nas cangas foram encontradas, até então, 164 famílias de plantas terrestres e 1.084 espécies (MOTA et al., 2018). Existem evidências de que as propriedades do solo influenciam a distribuição de espécies da Canga (NUNES et al., 2015). Considerando o tipo de geoambiente e plantas presentes nas Cangas da FLONA de Carajás, a vegetação foi classificada em diferentes fitofisionomias sendo campo herbáceo (*Grassland*), canga arbustiva (*Scrubland*), canga arbustiva dominada pelo gênero *Vellozia* (*Vellozia*) e capão florestal (*Woodland*) as fisionomias que se encontram em maior proporção (VASCONCELOS et al., 2016).

Estas plantas exibem uma série de adaptações a estes ambientes, abrigando espécies endêmicas, conhecidas como vegetação rupestre (VIANA et al., 2016). Devido ao pouco volume de solo, as plantas são altamente dependentes da ciclagem de nutrientes, desenvolveram mecanismos de tolerância aos metais e ao estresse hídrico e térmico.

A Serra dos Carajás é considerada uma das maiores províncias minerais do mundo, o que tem impulsionado as atividades mineradoras na região. De fato, Brasil é o terceiro maior produtor mundial de ferro (Fe), minerando grandes áreas de canga na região (SCHETTINI et al., 2018). A Floresta Nacional de Carajás (FLONA), criada em 1998 com o objetivo de preservar estas áreas enquanto viabilizaria a exploração mineral (MOTA et al., 2018). Além da mineração, as pastagens e a agricultura extensiva no entorno da FLONA de Carajás têm alterado as condições naturais do solo e, conseqüentemente, as comunidades microbianas e a sua diversidade funcional (MENDES et al., 2015; TRIPATHI et al., 2016).

Os microrganismos são os seres mais abundantes da terra e participam de diversos e complexos processos, dentre eles, fotossíntese, ciclos biogeoquímicos, funções metabólicas, simbioses, decomposição de compostos orgânicos, conservação da fertilidade e estrutura de solos. A maioria dos processos metabólicos, como ciclagem de carbono, fixação biológica do nitrogênio, desnitrificação, produção de metano, redução de sulfato e transformação de metais e de diferentes moléculas, são influenciados pelo metabolismo de microrganismos (ALEF; NANNIPIERI, 1995; HAINES et al., 2002). Desta forma, eles são essenciais para o estabelecimento e sucesso das plantas que habitam as Cangas Ferruginosas (REIS et al., 2016; NOTTINGHAM et al., 2018) e o conhecimento desses microrganismos é fundamental para a manutenção desses ecossistemas.

Como os processos microbianos constituem a base trófica para outros organismos, alterações drásticas em suas comunidades podem comprometer os ciclos biogeoquímicos e, conseqüentemente, a vida em geral (MENDES et al., 2015). No entanto, pouco se tem

estudado sobre as comunidades microbianas no bioma da Amazônia. Dentre os estudos realizados nas savanas Amazônicas até 2017, 136 abrangem as savanas amazônicas, sendo que quase um terço estão focados em plantas, seguido de répteis, aves, mamíferos, invertebrados e poucos em anfíbios, peixes e pouquíssimos em metagenoma microbiano (DE CARVALHO; MUSTIN, 2017). Desta forma, o conhecimento da diversidade dos microrganismos e da capacidade metabólica da comunidade microbiana do solo é requerida para entender processos ambientais, associações com plantas, tipo de solo, prospecção de genes, aplicações biotecnológicas, proteção do solo, biorremediação e recuperação de áreas degradadas (HAINES et al., 2002). Adicionalmente, as análises da microbiota podem gerar índices de saúde do solo e de impacto antropogênico ou de outra natureza, tornando-se referência para possíveis processos de recuperação de ambientes similares que tenham sido impactados (MENDES et al., 2015).

### ***Microbiota do solo e o ciclo do nitrogênio***

O nitrogênio é um componente essencial das proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos e clorofila, mas não está diretamente disponível do meio ambiente para a maioria das espécies (HUANG et al., 2011). Consequentemente, o nitrogênio é um dos principais nutrientes limitantes em muitos ecossistemas, especialmente em áreas extremas ou degradadas (DOBSON; BRADSHAW; BAKER, 1997; HUANG et al., 2011). Os microrganismos exibem diferentes mecanismos para fixar o nitrogênio atmosférico na forma disponível para as plantas, incluindo mineralização, imobilização e diversas reações de oxidação-redução (SUNAGAWA et al., 2015; TU et al., 2017). Devido à sua capacidade de fixar nitrogênio no solo, muitas plantas terrestres desenvolveram relações simbióticas com bactérias, resultando em melhor aquisição de N e aumento da produtividade das plantas (HESTRIN et al., 2019).

A colonização por microrganismos que atuam no ciclo do N traz benefícios ao solo, como aumento de nutrientes, alteração das propriedades físicas e químicas e ainda induz o

desenvolvimento de outras espécies microbianas fundamentais para o desenvolvimento das comunidades e interações com as plantas (HUANG et al., 2011; MUS et al., 2018). Além das bactérias, fungos também contribuem para aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Fungos micorrízicos influenciam bastante o estado de nutrientes do solo e no estabelecimento, na diversidade e na sucessão de plantas (YAN et al., 2018). A maioria das plantas terrestres precisa se manter em simbiose com micorrizas para melhor aquisição de nutrientes como fósforo e nitrogênio. O nitrogênio pode ser adquirido na forma mineral através da matéria orgânica, agindo em sinergia com bactérias para contribuir no estabelecimento das comunidades vegetais (HESTRIN et al., 2019). Logo, torna-se fundamental o estudo das comunidades envolvidas ao longo do ciclo do nitrogênio ainda desconhecidas nas cangas de Carajás, permitindo o entendimento e associação com as diferentes fitofisionomias.

#### *Uso de ferramentas de metagenoma no estudo do microbioma de cangas*

Como apenas uma pequena fração da microbiota é cultivável ou de cultivo e isolamento relativamente simples (EPSTEIN, 2013), o uso de tecnologias genômicas torna possível a determinação quase completa da microbiota no ambiente, assim como a estrutura proteica e modelagem das funções nos ambientes, ajudando no conhecimento e compreensão dos ecossistemas (YANG et al., 2021).

A detecção da diversidade de microrganismos e funcionalidade das comunidades microbianas é uma referência dos ambientes, pois além dos levantamentos de vegetação ou fauna, o exame de comunidades microbianas pode detectar alterações ambientais em curtas escalas de tempo (VALENTINI et al., 2016; SUN; BADGLEY, 2019). Isso torna as ferramentas metagenômicas úteis na identificação de variações ambientais e de restauração (NAVARRETE et al., 2015; BRUNO et al., 2017; SUN; BADGLEY, 2019).

Desta forma, o projeto proposto cobre lacunas importantes no conhecimento, utilizando a metagenômica como ferramenta para identificar a taxonomia, funcionalidade e assinatura da microbiota presente nos diferentes tipos de fisionomias vegetais nas Cangas Ferruginosas da FLONA de Carajás.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Comparar a diversidade taxonômica e funcional da microbiota associada aos solos das diferentes fitofisionomias da canga ferruginosa da Serra dos Carajás, visando compreender os processos de ciclagem de nutrientes presentes nestes ecossistemas.

### **Objetivos específicos**

1. Avaliar o uso de pipeline, comparando a comunidade microbiana em um local de referencia de vegetação nativa com outros de diferentes níveis de reabilitação.
2. Descrever bacterias e fungos envolvidos no ciclo do nitrogênio
3. Anotar a funcionalidade dos genes envolvidos no ciclo do nitrogênio nas diferentes fitofisionomias da Canga.
4. Determinar as assinaturas do ciclo do nitrogenio e a relação de fungos e bacterias com a cobertura vegetal
5. Descrever as espécies microbianas nas diferentes fitofisionomias da Canga a partir de dados metagenômicos.
6. Anotar a diversidade funcional dos genes presentes nas diferentes fitofisionomias da Canga a partir dos dados metagenômicos.
7. Determinar as assinaturas de generos microbianos e suas funções e a relação com a cobertura vegetal

## CAPITULO 1

### **Data Descriptor: A metagenomic survey of soil microbial communities along a rehabilitation chronosequence after iron ore mining**

Situação: Artigo aceito/publicado

Referência bibliográfica:

Gastauer, M., **Ortiz-Vera, M.**, Padovani, K. et al. A metagenomic survey of soil microbial communities along a rehabilitation chronosequence after iron ore mining. Sci Data 6, 190008 (2019). <https://doi.org/10.1038/sdata.2019.8>

## **CAPITULO 2**

**Interactions between bacterial, fungal and plant communities, ensure nitrogen cycling in  
nutrient-deprived Canga soils**

Situação: Artigo submetido

Revista: Scientific reports

## **CAPITULO 3**

### **Influência das diferentes fitofisionomias da canga ferruginosa sobre a diversidade e funcionalidade da microbiota - Serra dos Carajás**

Situação: Artigo em preparação

Revista: a definir

## **Influência das diferentes fitofisionomias da canga ferruginosa sobre a diversidade e funcionalidade da microbiota - Serra dos Carajás**

### **Resumo**

O complexo montanhoso da Serra dos Carajás encontra-se em áreas isoladas inseridas na matriz florestal da floresta amazônica, considerada uma das maiores províncias minerais do mundo. Estas áreas se caracterizam pelo alto conteúdo de metais, especialmente ferro, e distintas formações geológicas, gerando uma estrutura do solo superficial, deficiente em nutrientes, pouco fértil, muito ácida e pobre em drenagem. As plantas exibem uma série de modificações fisiológicas para adaptação a estes ambientes, abrigando espécies endêmicas, conhecidas como vegetação rupestre, as quais são separadas em quatro fitofisionomias (*woodland*, *vellozia*, *grassland* e *scrubland*). Isso faz com que as plantas sejam altamente dependentes da ciclagem de nutrientes. Como a maioria dos processos de ciclagem de nutrientes são influenciados pelo metabolismo dos microrganismos, este estudo visa conhecer além da comunidade microbiana, a sua funcionalidade, ao longo das áreas de cangas na Serra dos Carajás, um ecossistema endêmico e ameaçado. O DNA presente em 48 amostras de solo ao longo da Floresta Nacional de Carajás durante a estação chuvosa foi extraído e então sequenciado na plataforma NextSeq 500 Illumina. Os resultados das análises ao longo da canga mostraram que existe diferença significativa na composição microbiana e das proteínas das diferentes fitofisionomias, além de gêneros microbianos e proteínas indicadoras. Ao realizar uma análise de RDA, foi encontrado que o Fe influencia significativamente a estrutura da comunidade. Finalmente, a cobertura vegetal ao longo da canga e a comunidade bacteriana está significativamente correlacionada, e a comunidade *core* (aqueles gêneros presentes em mais de 80% das amostras) é de 80,28%. Concluímos que a comunidade microbiana e a composição vegetal estão fortemente relacionados, tornando importante o estudo da composição microbiana e sua funcionalidade em conjunto com as plantas e as características no solo para entender o funcionamento deste ambientes.

**Key Words:** Assinatura genética, Cangas, Diversidade funcional, Diversidade taxonômica, Metagenômica,

## **Introdução**

A floresta amazônica é o maior reservatório de espécies vegetais e animais, contendo aproximadamente um quarto de todas as espécies terrestres (JESUS et al., 2009). Embora as formações florestais sejam predominantes na Amazônia, também existem formações abertas, como savanas, capinaranas e campos rupestres. Essas formações se encontram em áreas isoladas inseridas na matriz florestal, abrigando ambientes fitogeográficos bem distintos contendo muitas espécies endêmicas, o que faz desse ecossistema um lugar de importância ecológica, por ser único dentro do contexto amazônico (NUNES et al., 2015). Localizado no sudeste do estado do Pará, o complexo montanhoso da Serra dos Carajás se caracteriza pela riqueza de recursos minerais, relevo acidentado e presença de platôs de afloramentos de rochas ferruginosas isolados, conhecidos localmente como canga. A Província Mineral de Carajás resguarda importantes áreas de savanas metalíferas, também chamadas de Cangas ferruginosas (VIANA et al., 2016).

A principal característica dos solos das Cangas ferruginosas é o alto conteúdo de metais, especialmente ferro (Fe), e distintas formações geológicas (NUNES et al., 2015; SCHETTINI et al., 2018). A vegetação associada às cangas é determinada principalmente pela morfologia e composição do solo, além de acesso à água, distribuição espacial e influência da vegetação vizinha. A Floresta Nacional de Carajás (FLONA) criada em 1998 abriga áreas de canga, que representam cerca de 5% da área da FLONA (VIANA et al., 2016). As Cangas de Carajás ocorrem em altitudes médias entre 600 e 800 m, e nelas foram encontradas até então 1.084 espécies de plantas (MOTA et al., 2018). Existem evidências de que as propriedades do solo influenciam a distribuição de espécies da Canga (NUNES et al., 2015). Considerando o tipo de

geoambiente e plantas presentes nas Cangas da FLONA, a vegetação foi classificada em diferentes fitofisionomias, sendo o campo herbáceo, a canga arbustiva, a canga arbustiva dominada pelo gênero *Vellozia* e o capão florestal as fisionomias, que se encontram em maior proporção (VASCONCELOS et al., 2016).

As Cangas ferruginosas representam um ambiente desafiador para a maioria das espécies vegetais. O solo é de estrutura superficial, deficiente em nutrientes, com baixa fertilidade, ácido e com baixa drenagem (VASCONCELOS et al., 2016). As plantas exibem uma série de modificações fisiológicas para adaptação a estes ambientes extremos, abrigando espécies endêmicas, conhecidas como vegetação rupestre (VIANA et al., 2016). Devido ao pouco volume de solo as plantas são altamente dependentes da ciclagem de nutrientes, mecanismos de tolerância aos metais, estresse hídrico e térmico.

A maioria dos processos metabólicos, como ciclagem de carbono, fixação biológica do nitrogênio, desnitrificação, produção de metano, redução de sulfato e transformação de metais e de diferentes moléculas, são influenciados pelo metabolismo dos microrganismos (ALEF; NANNIPIERI, 1995; HAINES et al., 2002). O conhecimento destes microrganismos é fundamental para a manutenção dos ecossistemas de Canga (IGWE; VANNETTE, 2019; SKIRYCZ et al., 2014). Os microrganismos são os seres mais abundantes da terra e participam de diversos e complexos processos, dentre eles, a fotossíntese, ciclos biogeoquímicos, funções metabólicas, simbioses, decomposição de compostos orgânicos, conservação da fertilidade e estrutura de solos, sendo essenciais para estabelecimento e sucesso das plantas neste ambiente (NOTTINGHAM et al., 2018; REIS et al., 2016).

Como os processos microbianos constituem a base trófica, alterações drásticas nas comunidades podem comprometer os ciclos biogeoquímicos e, conseqüentemente, a vida em geral. Portanto, é importante entender e prever o impacto que as mudanças naturais e antropogênicas podem gerar nos ecossistemas (MENDES et al., 2015). No entanto, pouco se

tem estudado sobre as comunidades microbianas na região. Dentre os estudos que envolvem a biodiversidade no bioma da Amazônia, 136 abrangem as savanas amazônicas, sendo que quase um terço estão focados em plantas, seguido de répteis, aves, mamíferos, invertebrados, quase nenhum em anfíbios e peixes (DE CARVALHO; MUSTIN, 2017) e pouquíssimos em metagenoma microbiano. Desta forma, o conhecimento da diversidade dos microrganismos e da capacidade metabólica da comunidade microbiana do solo é requerida para entender os processos feitos nos ambientes, associações com plantas, tipo de solo, prospecção de genes, aplicações biotecnológicas, qualquer conceito de proteção do solo, biorremediação, recuperação de áreas degradadas recultivo, entre outros (HAINES et al., 2002).

A Serra dos Carajás é considerada uma das maiores províncias minerais do mundo, o que tem impulsionado as atividades mineradoras na região. Além disso, as pastagens e a agricultura extensiva no entorno da FLONA têm alterado as condições naturais do solo e, conseqüentemente, as comunidades microbianas e a diversidade funcional (TRIPATHI et al., 2016; MENDES et al., 2015). Há, portanto, grande interesse de monitoramento dos ambientes naturais para sua manutenção e conhecimento, tornando-se referência para possíveis processos de recuperação de ambientes impactados. As análises da microbiota podem gerar índices de saúde do solo e de impacto antropogênico ou de outra natureza (MENDES et al., 2015).

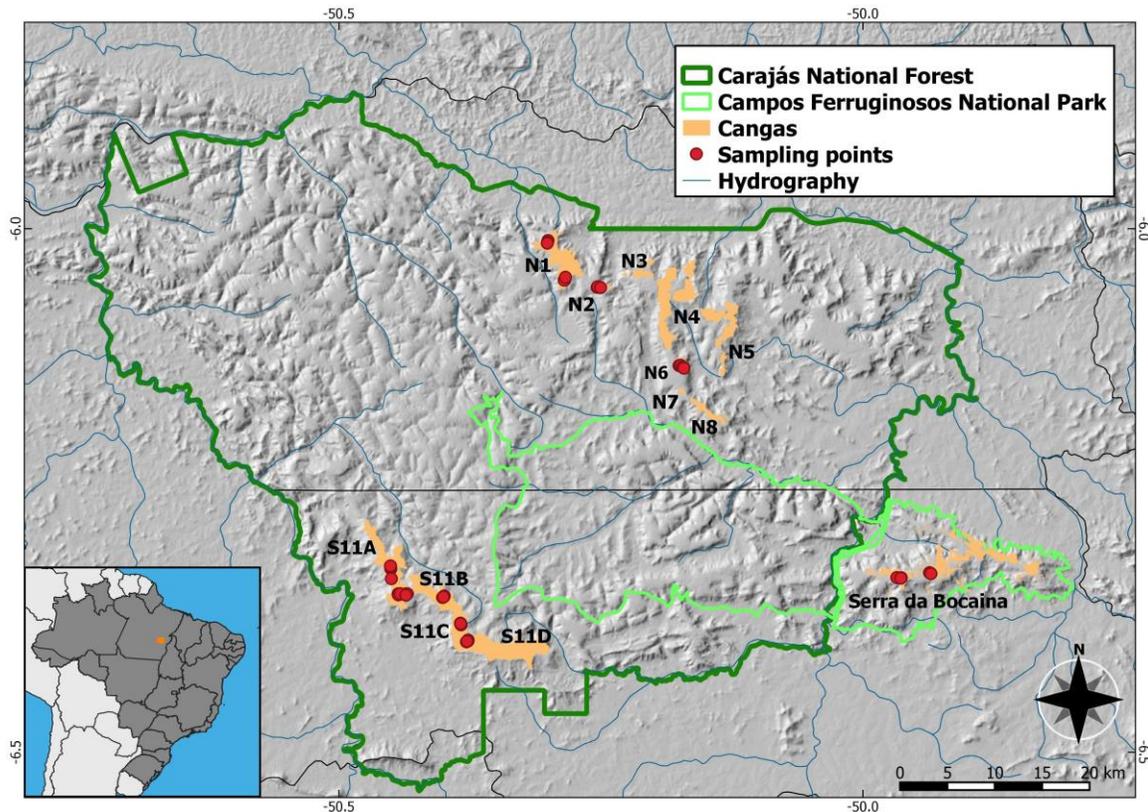
Assim, este estudo visa a conhecer além da comunidade microbiana, a sua funcionalidade, ao longo das áreas de cangas na Serra dos Carajás, um ecossistema endêmico e ameaçado. Comparar a diversidade taxonômica e funcional da microbiota nas diferentes fitofisionomias da canga ferruginosa da Serra dos Carajás e avaliar a taxonomia de bactérias responsáveis pela ciclagem do nitrogênio, assim como a análise de presença dos diferentes tipos de genes envolvidos nas diferentes fitofisionomias.

## **Metodologia**

### *Coleta do material*

Foram coletadas 48 amostras de solo em parceria com o grupo de tecnologia ambiental do Instituto Tecnológico Vale – ITV, que realiza coletas rotineiras nas cangas da FLONA de Carajás (Figura 1.). As coletas foram realizadas durante a estação chuvosa, entre os meses de outubro a abril. Com o objetivo de compreender a variabilidade fitofisionômica e bioquímica das cangas, foram demarcados 12 transectos de 300m nas áreas da Bocaina, Serra Norte e Serra Sul de Carajás. Em cada transecto foram delimitadas quatro parcelas (10x20m) a cada 100m, totalizando 48 parcelas (pontos coletados). Quatro fitofisionomias da canga foram amostradas, a canga herbácea, a canga arbustiva, a canga arbustiva dominada pelo gênero *Vellozia* e o capão florestal. Em cada parcela foi realizada uma amostragem composta do solo superficial (0-5 cm) em cinco pontos homoganeamente distribuídos, utilizando tubos Falcon estéreis de 50ml. Posteriormente, cada amostra foi homogeneizada e mantida congelada até o seu processamento.

Para análises de comunidade fixadora de nitrogênio, foram selecionadas cinco amostras (duas representando canga herbácea, uma representando canga arbustiva, uma representando *Vellozia* e uma representando o capão florestal), cada amostra foi homogeneizada e mantidas a 4°C até por 24 horas para seu processamento.



**Figura 1.** Red points indicate soil sampling localizations in canga's bodies (yellow regions).

### *Análises químicas do solo*

O grupo de Tecnologia Ambiental (ITV) realizou a coleta e análises químicas do solo, assim como o inventário da vegetação. Para isto, as amostras foram coletadas nos primeiros 10cm de profundidade (amostragem composta, 3 pontos de coleta por parcela). Estas amostras foram secas em temperatura ambiente e peneiradas em malha de 2mm. Os teores químicos do solo foram determinados pela metodologia de Embrapa (2009). A Tabela com os resultados químicos, nomenclatura e localização geográfica das amostras encontra-se no Anexo (TabelaS1).

### *Composição vegetal*

Para amostrar a vegetação, usamos uma abordagem estratificada e amostramos comunidades de árvores e comunidades herbáceas separadamente em cada ponto de amostragem. Para a composição arbórea, marcamos todas as árvores, árvores e arbustos com diâmetro 30cm acima do nível do solo igual ou maior que 3cm em uma parcela de 10x20m e os identificamos até o nível de espécie. Para a comunidade herbácea, estabelecemos cinco subparcelas de 1x1m distribuídas homogeneamente dentro da parcela de 10x20m e estimamos o valor de cobertura de cada espécie nela. Espécies não reconhecidas foram coletadas e identificadas por especialistas. Para fins de documentação, amostras de DNA de todos os espécimes foram coletadas para análise de código de barras de DNA, realizada no Instituto Tecnológico Vale em Belém, Pará.

#### *Extração de DNA e sequenciamento*

O DNA total foi extraído a partir de 250 mg de solo de cada uma das 48 amostras e das cinco amostras do sedimento centrifugado do material enriquecido para análise de ciclo de nitrogênio. As amostras foram homogeneizadas e o DNA extraído utilizando o Power Soil DNA Isolation Kit® (MoBio Labs, Inc. Solana Beach, USA) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA extraído foi quantificado utilizando o fluorímetro Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific Inc.). Posteriormente, foram construídas bibliotecas metagenômicas do tipo *shotgun paired-end* com ~50 ng de DNA, que foram submetidas a uma reação de fragmentação enzimática aleatória, na qual o DNA foi simultaneamente fragmentado e ligado a adaptadores específicos utilizando o kit QXT SureSelect (Agilent Technologies) conforme instruções do fabricante. Os fragmentos de DNA foram purificados utilizando *beads* AmPure XP beads (Beckman Coulter) e sujeitos a uma reação de amplificação utilizando *primers* complementares aos adaptadores da *flowcell* da Illumina. As bibliotecas amplificadas foram novamente purificadas usando AmPure XP beads (Beckman Coulter) e quantificadas utilizando o fluorímetro Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific Inc.). O tamanho dos fragmentos

foi verificado com o Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies®) usando um kit de DNA de alta sensibilidade (Agilent Technologies).

Posteriormente, as bibliotecas foram ajustadas para uma concentração de 4nM, reunidas, desnaturadas e diluídas para uma concentração de corrida de 1,8 pM. O sequenciamento foi realizado na plataforma NextSeq 500 Illumina, usando um kit NextSeq 500 v2 kit high-output de 300 ciclos.

#### *Montagem metagenômica e classificação taxonômica e funcional*

As reads *paired-end* foram montadas usando o MEGAHIT v1.1.2 (LI et al., 2015), com os parâmetros padrão. Os contigs foram gerados no formato FASTA. Usando um pipeline EMG v2.3.2 (MITCHELL et al., 2018) instalado localmente, as sequências de DNA de codificação (CDS) foram extraídas dos contigs como arquivos .fnn. A classificação taxonômica e funcional foi realizada usando esses CDS. Primeiramente, a classificação taxonômica foi realizada usando Kaiju v.1.4.4 (MENZEL; NG; KROGH, 2016) (modo de execução: greedy, com até 5 substituições: match mínimo: 12; pontuação de casamento mínima: 70). Como banco de dados de referência para a classificação taxonômica, usamos as sequências NBCI BLAST não redundantes.

Em segundo lugar, uma análise funcional foi realizada usando o InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>; [interproscan.sh-dp-applPfamA,TIGRFAM,PRINTS,PrositePatterns,Gene3d-goterms-pathways-ftsv-oMySequences.tsv-iMySequences.faa](#)), procurando por gene ontology terms e pathways em uma variedade de bancos de dados de anotação (i.e., Interpro, Pfam, Tigrfam, Prints, PrositePattern and Gene3d).

A abundância relativa de táxons e proteínas foi estimada com base na quantidade de reads alinhadas sobre os contigs correspondentes gerando assim matrizes de contagens salvas como arquivos .tvs.

### *Análise estatística*

Todas as análises estatísticas foram realizadas em R (v.3.6.2). Para avaliar a variação ambiental em todas as fitofisionomias, primeiro executamos uma análise de componente principal (PCA) usando todos os atributos químicos do solo. Em seguida, avaliamos a variação na composição da comunidade entre fitofisionomias.

Utilizando uma Análise de Coordenadas Principais (PcoA). Usamos o pacote vegan v.2.5-4 (OKSANEN et al., 2005) para executar o PCoA, empregando abundâncias transformadas de Hellinger e distâncias de Bray Curtis. Depois de visualizar graficamente a composição da comunidade, executamos uma Análise de Variância Multivariada Permutacional (permanova) para testar as diferenças na composição da comunidade entre fitofisionomias. Os gêneros indicadores foram identificados avaliando a força e a significância estatística da relação entre abundância de espécies e fitofisionomias, usando o pacote indicspecies (DE CÁCERES; LEGENDRE, 2009). A comunidade *core* foi seleccionada como aqueles gêneros presentes em mais de 80% das amostras, independente do tipo de fitofisionomia.

Dada a forte variação nas comunidades bacterianas encontradas entre as fitofisionomias, executamos análises de redundância parcial (RDA) empregando matrizes de abundância transformadas por Hellinger como variáveis de resposta, atributos químicos do solo como preditores e fitofisionomia como condição a ser parcializada. Os valores omissos das variáveis ambientais foram imputados usando a função imputePCA do pacote missMDA (JOSSE; HUSSON, 2016). As correlações entre os preditores foram avaliadas usando o fator de

inflação de variância (vif) para evitar multicolinearidade. Testes de permutação foram então empregados para identificar as variáveis químicas que estavam significativamente associadas à composição da comunidade.

Para avaliar as interações entre comunidades microbianas com a composição vegetal, foi realizada uma análise de Procrustes. Para isso, os PCoAs foram executados separadamente para cada grupo (comunidades microbianas, ervas e árvores) e os eixos principais gerados foram usados para avaliar as correlações. Para evitar overfitting, selecionamos o número de eixos principais necessários para explicar 70% da variância total em cada caso. Em seguida, testamos a significância dessas correlações usando a função de permutação com 100.000 permutações e visualizamos os resultados usando a função de procrustes.

## **Resultados**

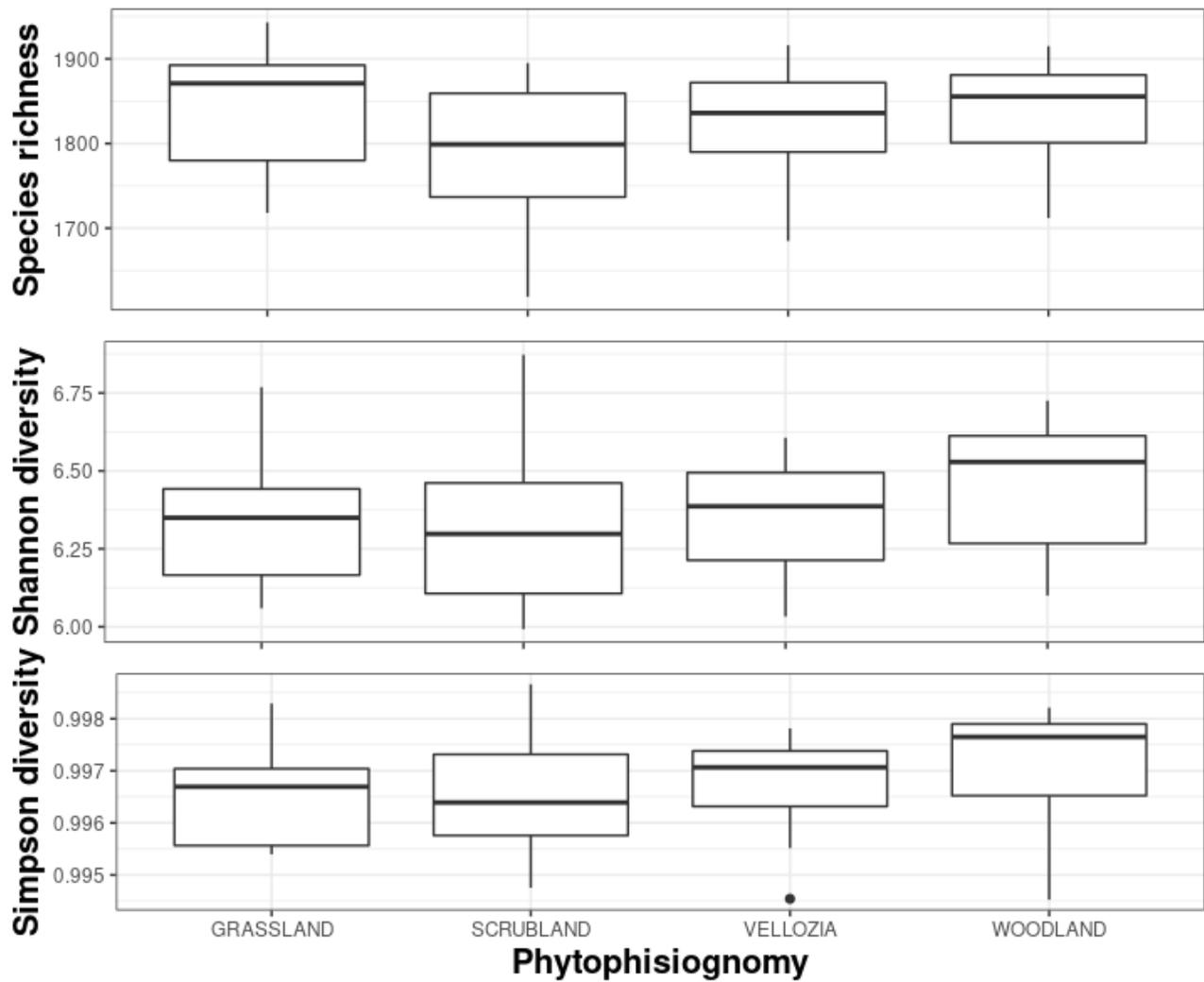
A saída dos contigs foi gerada no formato FASTA. As informações de montagem são encontradas na Tabela 1.

**Tabela 1. Resultados da montagem das bibliotecas metagenômicas do solo de canga.**

ID Amostra	# contigs	Largest contig	Total length	N50	ID Amostra	# contigs	Largest contig	Total length	N50
SCRUBLAND202	286591	122126	224713901	721	GRASSLAND206	92296	136419	70857744	675
SCRUBLAND203	357106	61825	266163680	701	GRASSLAND210	253009	27918	200405758	751
SCRUBLAND204	160682	25587	127664011	734	GRASSLAND218	259584	75955	216611820	787
SCRUBLAND207	1495241	84076	1468675756	985	GRASSLAND226	849702	353804	858315130	1003
SCRUBLAND212	451986	52960	391495641	829	GRASSLAND230	617531	40653	483061947	743
SCRUBLAND216	191365	10350	151240648	753	GRASSLAND234	235333	44255	185138565	741
SCRUBLAND219	2946349	281412	3185454685	1134	GRASSLAND445	141522	25615	98889317	651
SCRUBLAND222	466224	45665	431624331	916	GRASSLAND446	193357	11644	137202381	672
SCRUBLAND223	410252	76357	353690074	822	GRASSLAND448	115748	17734	81882950	663
SCRUBLAND224	247114	54106	254856192	1051	GRASSLAND452	239897	27623	186756677	717
SCRUBLAND227	232115	12571	172386091	698	GRASSLAND464	275184	79814	225448942	762
SCRUBLAND231	207907	52496	193523013	888	VELLOZIA208	434585	50809	366085209	808
SCRUBLAND232	194121	64420	140951183	684	VELLOZIA209	577514	130913	614404569	1113
SCRUBLAND235	327300	39127	274965034	805	VELLOZIA213	386927	108538	325971884	791
SCRUBLAND447	258225	37146	218604586	794	VELLOZIA214	325326	48261	282572611	810
SCRUBLAND453	191854	19859	138399535	685	VELLOZIA215	517187	25706	465217540	883
WOODLAND201	797029	58055	719301493	884	VELLOZIA217	522367	56154	497104749	943
WOODLAND205	267443	77554	220043060	792	VELLOZIA220	356129	93647	346327768	966
WOODLAND211	519067	59346	497593657	955	VELLOZIA221	176215	9062	126879212	672
WOODLAND228	490549	163667	468627533	919	VELLOZIA225	345387	50518	329201095	946
WOODLAND229	849707	309484	799124516	926	VELLOZIA236	374661	60898	359142611	957
WOODLAND233	379880	64562	388925078	1068	VELLOZIA450	196548	9012	145893721	701
WOODLAND451	92263	14193	70520228	693	VELLOZIA462	367710	55817	336984816	896
WOODLAND461	267729	52808	242746889	892	VELLOZIA463	137880	11516	100105087	684

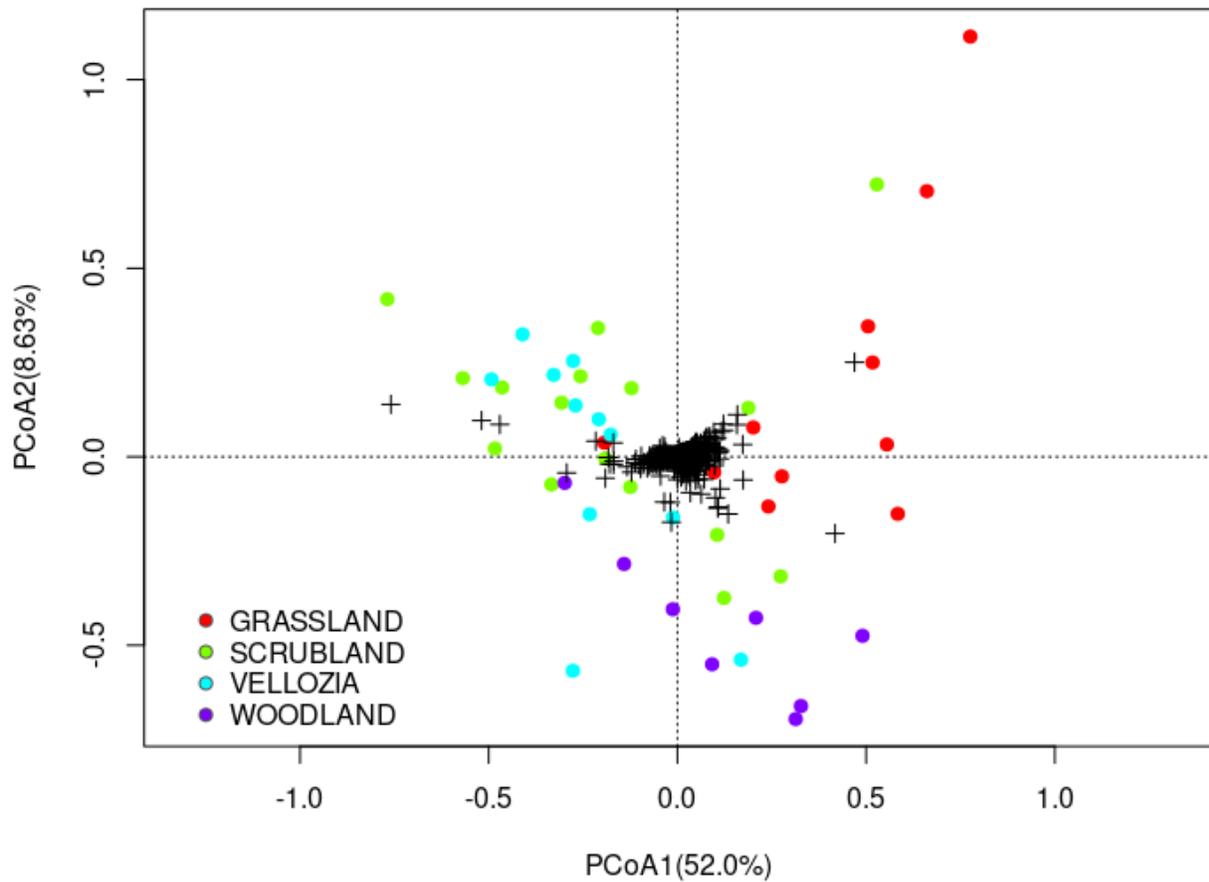
A classificação taxonômica foi realizada nas sequências FASTA dos contigs gerados na montagem, com o Kaiju v.1.4.4, utilizando os parâmetros descritos na metodologia. Um total de 2.414 gêneros diferentes foram obtidos, incluindo os domínios Bacteria, Archaea e os Vírus.

Não foi possível observar diferenças significativas entre riqueza e diversidade nas fitofisionomias (Figura 2).



**Figura 2.** Riqueza e diversidade. Os resultados de Tukey não mostraram uma diferença significativa entre a riqueza e diversidade de espécies nas diferentes fitofisionomias.

A análise de PCoA revelou uma separação visual de *woodland* e *grassland*, adicionalmente a análise estatística demonstrou que a composição da comunidade foi significativamente diferente entre as fitofisionomias (PERMANOVA, p-value=0,001 and R<sup>2</sup>=0,29). Os eixos PcoA1 e PCoA2 explicaram 60,63% da variação dos dados (Figura 3).



**Figure 3.** Análises de coordenadas principais (PCoA). Composição das comunidades entre as diferentes fitofisionomias. As figuras coloridas indicam o tipo de fitofisionomia. + representa diferentes gêneros.

Adicionalmente foi realiza uma análise estatística (permanova) para observar se existe diferença por fitofisionomia. Os resultados indicaram que existe diferença entre todas as fitofisionomias com exceção de *scrubland* e *Vellozia* (Tabela 2).

**Tabela 2. Diferença entre a composição da comunidade nas fitofisionomias (permanova).**

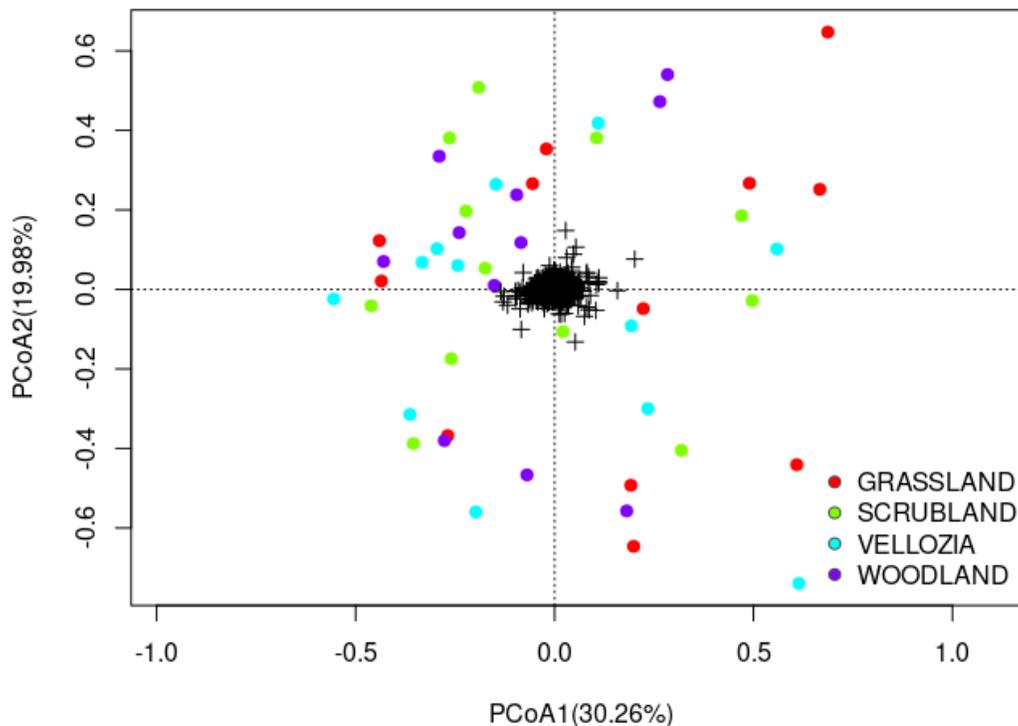
	<i>Woodland</i>	<i>Scrubland</i>	<i>Grassland</i>
<i>Scrubland</i>	P=0,011*		
<i>Grassland</i>	P=0,005**	P=0,001***	
<i>Vellozia</i>	P=0,003**	P=0,368	P=0,001***

Embora o PCoA mostre que a comunidade explica 60,63% da variação dos dados, não é possível saber quais gêneros estão fortemente associados a cada tipo de fitofisionomia. A análise de indicadores revelou gêneros específicos para cada fitofisionomia. Do total de 2.414 gêneros, foi observado que 1,11% estavam associados significativamente com *grassland*, 0,08% com *scrubland*, 1,11% com *Vellozia* e 5,26% com *woodland* (Tabela S3).

A análise de PCoA das proteínas não mostrou um agrupamento claro entre as fitofisionomias (Figura 4). Contudo, a análise estatística mostrou diferença significativa entre as proteínas das diferentes fitofisionomias, com exceção de *scrubland* e *Vellozia* (Tabela 3).

**Tabela 3. Diferença entre a composição ds proteínas nas fitofisionomias (permanova).**

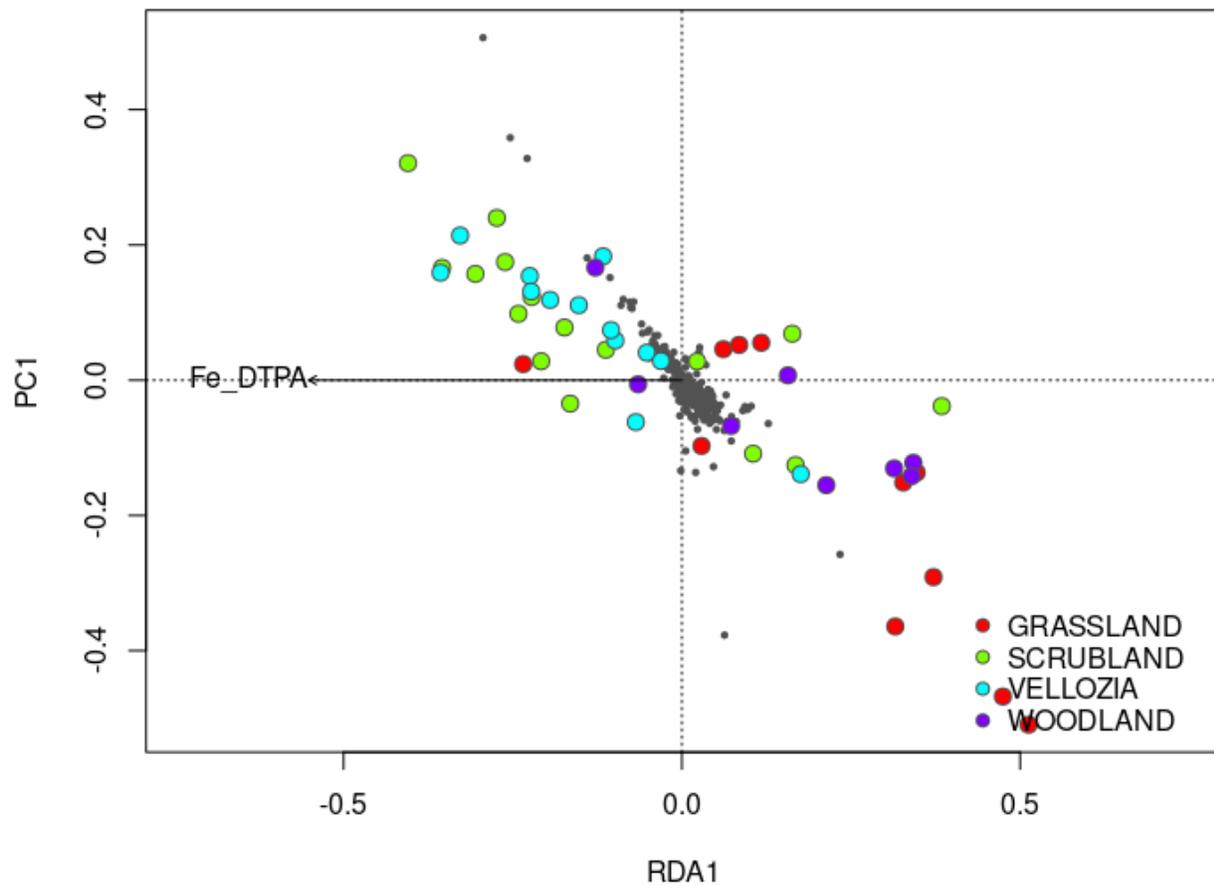
	<i>Woodland</i>	<i>Scrubland</i>	<i>Grassland</i>
<i>Scrubland</i>	P=0,001***		
<i>Grassland</i>	P=0,001***	P=0,002**	
<i>Vellozia</i>	P=0,002**	P=0,379	P=0,001***



**Figura 4.** Análises de coordenadas principais (PCoA). Composição das proteínas entre as diferentes fitofisionomias. As figuras coloridas indicam o tipo de fitofisionomia. + representa diferentes proteínas

De um total de 13.894 proteínas, foi observado que 7,75% estavam associadas significativamente com *grassland*, 2,14% com *scrubland*, 4,17% com *Vellozia* e 7,46% com *woodland*.

A análise de redundância (RDA), para avaliar a relação entre as características químicas do solo e a composição da comunidade, mostrou que os elementos químicos do solo explicam 40% da variação da comunidade microbiana. O ferro (Fe\_DTPA) foi o elemento químico do solo que explicou significativamente 0,9% a variação das comunidades microbianas (Figura 5).



**Figura 5.** Análise de redundância (RDA) da comunidade taxonômica e atributos químicos do solo. O Fe\_DTPA explicando 0.9% desta variação.

A análise de Procrustes, para avaliar as interações entre comunidades microbianas com a composição vegetal, revelou que existe correlação significativa entre as comunidades microbianas e a composição vegetal (Tabela 4)

**Tabela 4. Correlação e significância da análise de Procrustes entre a composição  
composição vegetal (procrustes).**

<b>Correlação</b>	<b>Valor da correlação</b>	<b>Significância</b>
Microbial - Herbs	0,57	1,00E-05
Trees - Microbial	0,60	2,00E-05
Trees - Herbs	0,767	1,0E-05

Finalmente, sabendo que existe uma correlação significativa entre as comunidades microbianas e a composição vegetal, identificamos a porcentagem da comunidade *core*, aquela presente em mais de 80% das amostras, independente da abundância. Os resultados mostraram que 80,28% dos gêneros são *core*.

### **Discussão**

Nosso estudo revelou que não existe diferença significativa de riqueza e diversidade entre as comunidades microbianas das fitofisionomias. Porém, observamos que tanto para as comunidades microbianas como para as proteínas identificadas que a composição da comunidade foi significativamente diferente entre as fitofisionomias, com exceção da *scrubland* e *Vellozia*, que mostraram perfil similar. Mesmo assim, foram identificadas proteínas e gêneros indicadores em todas as fitofisionomias, embora em menor proporção para *scrubland* e *Vellozia*. O ferro foi o elemento químico que influenciou significativamente a variação da comunidade microbiana. Finalmente, foi observado que a matriz vegetal e a comunidade microbiana têm uma correlação positiva e que 80,28% da comunidade microbiana são *core* nas fitofisionomias.

Os resultados de Tukey não mostraram uma diferença significativa entre a riqueza e diversidade de espécies nas diferentes fitofisionomias, Krug Vieira e colaboradores (2018) encontraram os mesmos resultados de diversidade, indicando que pode existir uma alta similaridade no perfil microbiano entre as fitofisionomias (KRUG VIEIRA et al., 2018).

Porém, ao realizar o PCoA foi possível identificar que existe diferença significativa na composição das comunidades microbianas nas diferentes fitofisionomias com exceção de *scrubland* e *Vellozia* (Figura 3, Tabela 2). Este resultado foi congruente com o encontrado nas análises de proteínas, em que o PCoA mostrou que existe diferença significativa na composição proteica nas diferentes fitofisionomias, novamente com exceção de *scrubland* e *Vellozia* (Figura 4). *Woodland* teve a porcentagem maior de microorganismos indicadores (5,26%) enquanto *scrubland* teve a menor porcentagem (0,08%), sendo igualmente baixo nas proteínas indicadoras (2,14%), enquanto *grassland* (7,75%) e *woodland* (7,46%) foram igualmente altas na análise de proteínas indicadoras. Este resultado foi contrário ao que esperávamos. Porém, Trindade e colaboradores (2020) encontraram resultados similares. Eles compararam solos de floresta com solos de canga e seus resultados também mostraram menos diversidade de espécies e menos proteínas, porém as proteínas encontradas foram relacionadas a condições estressantes, sendo mais funcionais em solo de canga, indicando maiores possibilidades bioquímicas e diversidade de processos moleculares emergentes neste ambiente (TRINDADE et al., 2020).

A análise de Procrustes (Tabela 3) mostrou uma associação significativa ente a comunidade microbiana e a cobertura vegetal (ervas e árvores), demonstrando assim uma potencial interação funcional entre os componentes. Essas relações intrincadas entre espécies de plantas e microorganismos foram observadas em ambientes controlados, onde provaram ser dependentes (MATTAROZZI et al., 2017). Igwe e Vannette (2019), também sob experimentos controlados, demonstraram que o estabelecimento da comunidade microbiana do solo e das

espécies de plantas podem se influenciar mutuamente de maneira dependente (IGWE; VANNETTE, 2019).

Finalmente encontramos que a microbiota *core* entre as fitofisionomias é alta, sendo que 80,28% da microbiota está em mais do que 80% das amostras. Isto pode estar correlacionado com o resultado de riqueza e diversidade, em que não foi possível encontrar diferença significativa. Esse resultado é importante desde o ponto de vista de recuperação de áreas degradadas, pois mesmo sabendo que existem comunidades bacterianas e proteínas específicas para cada fitofisionomia a comunidade *core* é a estrutura que suporta o estabelecimento das plantas e microrganismos especializados.

Skirycz e colaboradores (2014) realizaram um estudo de diversidade e adaptações das plantas nas áreas de canga. Eles concluíram que a canga é um lugar importante do ponto de vista ecológico, mas também atraído pela mineração, o que torna inevitável pensar na proteção e restauração do sistema, tornando importante a remoção e o armazenamento da camada superficial do solo (topsoil). Nessa porção do solo, não há apenas sementes, há também os microrganismos associados, que é a prioridade para a restauração do ecossistema (SKIRYCYZ et al., 2014). O que torna o estudo da metagenômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica importante em conjunto com a matriz vegetal e as características do solo para o entendimento global do funcionamento destes ambientes particulares.

## **CONCLUSÕES GERAIS**

A composição da microbiota envolvida no ciclo do nitrogênio muda de acordo com o tipo de fitofisionomia, embora a maioria das funções pareça permanecer estável. Grassland foi a fitofisionomia que mostrou maior riqueza de N-Bactérias e fungos. Porém, não foi possível encontrar indicadores em todas as fitofisionomias, só a fitofisionomia Grassland mostrou N-Bactérias, N-Proteínas e fungos micorrízicos indicadores. Embora Na e Fe influenciaram a

composição da comunidade de N-Bactérias, nenhum atributo químico do solo explicou a variação da comunidade de fungos micorrízicos.

Ao avaliar a comunidade microbiana geral, não foi possível observar diferenças significativas na riqueza e diversidade das comunidades microbianas encontradas nas diferentes fitofisionomias. A composição das comunidades microbianas e das proteínas foi significativamente diferente entre as fitofisionomias, com exceção de Scrubland e Vellozia. O Fe<sup>+</sup> foi o elemento químico do solo que influenciou significativamente a variação da comunidade microbiana. Novamente foi encontrado que existe uma relação significativa entre a comunidade microbiana e a composição vegetal, finalmente, uma grande parte da comunidade microbiana é core.

## **BIBLIOGRAFIA**

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. Enrichment, isolation and counting of soil microorganisms. In: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. [s.l.] Elsevier, 1995. p. 123–191.

BRUNO, A. et al. One step forwards for the routine use of high-throughput DNA sequencing in environmental monitoring. An efficient and standardizable method to maximize the detection of environmental bacteria. *MicrobiologyOpen*, v. 6, n. 1, 1 fev. 2017.

CHANG, H. X. et al. Metagenome-wide association study and machine learning prediction of bulk soil microbiome and crop productivity. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. APR, p. 519, 3 abr. 2017.

DE CÁCERES, M.; LEGENDRE, P. Associations between species and groups of sites: Indices and statistical inference. *Ecology*, v. 90, n. 12, p. 3566–3574, 2009.

DE CARVALHO, W. D.; MUSTIN, K. The highly threatened and little known Amazonian savannahs. *Nature Ecology & Evolution*, v. 1, n. 4, p. 0100, 2017.

DOBSON, A. P.; BRADSHAW, A. D.; BAKER, A. J. M. Hopes for the future: Restoration ecology and conservation biology. *Science*, v. 277, n. 5325, p. 515–522, 1997.

EPSTEIN, S. S. The phenomenon of microbial uncultivability. *Current Opinion in Microbiology*, v. 16, n. 5, p. 636–642, 2013.

HAINES, J. R. et al. Microbial Population Analysis as a Measure of Ecosystem Restoration. *Biorremediation J*, v. 3, p. 37–41, 2002.

HECKENBERGER, M. J. et al. The legacy of cultural landscapes in the Brazilian Amazon: Implications for biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 362, n. 1478, p. 197–208, 2007.

HESTRIN, R. et al. Synergies between mycorrhizal fungi and soil microbial communities increase plant nitrogen acquisition. *Communications Biology*, v. 2, n. 1, p. 233, 1 dez. 2019.

HUANG, L. et al. Biodiversity, abundance, and activity of nitrogen-fixing bacteria during primary succession on a copper mine tailings. *FEMS microbiology ecology*, v. 78, p. 439–450, 2011.

IGWE, A. N.; VANNETTE, R. L. Bacterial communities differ between plant species and soil type, and differentially influence seedling establishment on serpentine soils. *Plant and Soil*, v. 441, n. 1–2, p. 423–437, 2019.

JESUS, E. C. et al. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *The ISME journal*, v. 3, n. 9, p. 1004–1011, 2009.

JOSSE, J.; HUSSON, F. missMDA: A package for handling missing values in multivariate data analysis. *Journal of Statistical Software*, v. 70, n. 1, 2016.

KRUG VIEIRA, C. et al. Microbiome of a revegetated iron-mining site and pristine ecosystems from the Brazilian Cerrado. *Applied Soil Ecology*, p. 1– 0, 2018.

LI, D. et al. MEGAHIT: An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, v. 31, n. 10, p. 1674–1676, 2015.

LI, X. et al. Legacy of land use history determines reprogramming of plant physiology by soil microbiome. *The ISME Journal* 2018 13:3, v. 13, n. 3, p. 738–751, 27 out. 2018.

MATTAROZZI, M. et al. A metaproteomic approach dissecting major bacterial functions in the rhizosphere of plants living in serpentine soil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 409, n. 9, p. 2327–2339, 2017.

MENDES, L. W. et al. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*, v. 70, n. 1, p. 255–265, 2015.

MENZEL, P.; NG, K. L.; KROGH, A. Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nature Communications*, v. 7, 13 abr. 2016.

MITCHELL, A. L. et al. EBI Metagenomics in 2017: Enriching the analysis of microbial communities, from sequence reads to assemblies. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. D1, p. D726–D735, 1 jan. 2018.

MOTA, N. F. de O. et al. Amazon canga: the unique vegetation of Carajás revealed by the list of seed plants. *Rodriguésia*, v. 69, n. 3, p. 1435–1488, 1 jul. 2018.

MUS, F. et al. Exploring the alternatives of biological nitrogen fixation. *Metallomics*, v. 10, p. 523–538, 2018.

NASCIMENTO LEMOS, L. et al. Metagenome assembled-genomes reveal similar functional profiles of CPR/Patescibacteria phyla in soils. *Environmental Microbiology Reports*, v. 12, n. 6, p. 651–655, 2020.

NAVARRETE, A. A. et al. Soil microbiome responses to the short-term effects of Amazonian deforestation. *Molecular ecology*, v. 24, n. 10, p. 2433–2448, 2015.

NOTTINGHAM, A. T. et al. Microbes follow Humboldt: temperature drives plant and soil microbial diversity patterns from the Amazon to the Andes. *Ecology*, v. 44, n. 0, p. 0–1, 2018.

NUNES, J. A. et al. Soil-vegetation relationships on a banded ironstone ‘island’, Carajás Plateau, Brazilian Eastern Amazonia. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, v. 87, n. 4, p. 2097–2110, 2015.

REIS, M. P. et al. Metagenomic signatures of a tropical mining-impacted stream reveal complex microbial and metabolic networks. *Chemosphere*, v. 161, p. 266–273, 2016.

SCHETTINI, A. T. et al. Exploring Al, Mn and Fe phytoextraction in 27 ferruginous rocky outcrops plant species. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v. 238, p. 175–182, 2018.

SKIRYCZ, A. et al. Canga biodiversity, a matter of mining. *Frontiers in Plant Science*, v. 5, p. 653, 2014.

SUN, S.; BADGLEY, B. D. Changes in microbial functional genes within the soil metagenome during forest ecosystem restoration. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 135, p. 163–172, 2019.

SUNAGAWA, S. et al. Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, v. 348, n. 6237, 22 maio 2015.

- TRINDADE, F. C. et al. Metaproteomes reveal increased capacity for stress tolerance of soil microbes in ferruginous tropical rocky outcrops. *Pedobiologia*, v. 81–82, p. 150664, 2020.
- TRIPATHI, B. M. et al. The impact of tropical forest logging and oil palm agriculture on the soil microbiome. *Molecular Ecology*, v. 25, n. 10, p. 2244–2257, 2016.
- TU, Q. et al. Metagenomic reconstruction of nitrogen cycling pathways in a CO<sub>2</sub>-enriched grassland ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry journal*, v. 106, p. 99–108, 2017.
- VALENTINI, A. et al. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular ecology*, v. 25, n. 4, p. 929–942, 2016.
- VASCONCELOS, J. M. et al. Solos metalíferos: atributos químicos nas diferentes fitofisionomias da Serra Sul, Serra dos Carajás, Pará, Brasil. *Ciências Naturais*, v. 11, n. 1, p. 49–55, 2016.
- VIANA, P. L. et al. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: história, área de estudos e metodologia. *Rodriguésia*, v. 67, n. 5, p. 1107–1124, 2016.
- XUE, Y. et al. Metagenome-assembled genome distribution and key functionality highlight importance of aerobic metabolism in Svalbard permafrost. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 96, n. 5, 2020.
- YAN, D. et al. High-throughput eDNA monitoring of fungi to track functional recovery in ecological restoration. *Biological Conservation*, v. 217, p. 113–120, 2018.
- YANG, P. et al. Decoding microbiome and protein family linkage to improve protein structure prediction. *bioRxiv*, p. 2021.04.15.440088, 2021.

## **PUBLICAÇÕES EM PARCERIA DURANTE O DOUTORADO**

GASTAUER, M. et al. Integrating Environmental Variables by Multivariate Ordination enables the Reliable Estimation of Mineland Rehabilitation Status. v. 256, n. December 2018, 2019. Disponível em: <<https://www.preprints.org/manuscript/201909.0206/v1>>.

SILVA, A. R. et al. Range-wide neutral and adaptive genetic structure of an endemic herb from Amazonian Savannas. AoB PLANTS, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2020.