

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA
MOLECULAR**

**Diversidade de rizóbios associados a *Desmodium* spp. e outros legumes
nativos dos Campos Sulinos do Rio Grande do Sul - Brasil**

Tese de Doutorado

Fernanda da Silva Moreira

Porto Alegre

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA
MOLECULAR**

**Diversidade de rizóbios associados a *Desmodium* spp. e outros legumes
nativos dos Campos Sulinos do Rio Grande do Sul - Brasil**

Fernanda da Silva Moreira

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (Genética e Biologia Molecular).

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Pereira Passaglia

Porto Alegre, maio de 2018.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Microbiologia Agrícola do Departamento de Genética da UFRGS em parceria com o Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação do Rio Grande do Sul-SEAPI e o Departamento Autônomo de Biologia Microbiana da Faculdade de Agricultura e Biologia, Universidade de Ciências da Vida de Varsóvia – Polônia. O projeto foi subvencionado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) da Fixação Biológica de Nitrogênio.

Dedico.

Aos meus filhos, Laira e Lúcio.

À memória de minha avó, Maria Iva, de quem fui a filha mais nova.

"Não explicar a ciência me parece perverso. Quando
você está apaixonado, quer contar para todo mundo."
Carl Sagan em O Mundo Assombrado Pelos Demônios

AGRADECIMENTOS

- À Prof.^a Dr.^a Luciane Passaglia pelos nove anos de convivência em que tive o privilégio de sua orientação, amizade, compreensão e muita paciência.
- Aos colegas do laboratório de Genética Vegetal, em especial do Núcleo de Microbiologia Agrícola, por todos os anos de convivência e aprendizado.
- Ao Bruno Brito Lisboa e ao Gilson Shlindwein da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do Rio Grande do Sul-SEAPI pela generosidade em dividir seus conhecimentos, o que permitiu a coleta e discussão dos dados dessa tese.
- À Adriana Ambrosini, Fernando Hayashi Sant'Anna, Karen Thomeny e à Prof.^a Dr.^a Andreia Carina Turchetto Zolet pela colaboração imensurável.
- Ao Tomasz Stepkowski, o maior entusiasta dos rizóbios.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS, em especial ao Elmo.
- À Gabi, Eve, Nicole e Karen, amigas que levo para além da academia. À Di e Pedro. Obrigada por todo apoio.
- Aos meus *Euamigos* que, longe ou perto, acompanharam essa caminhada e torceram por mim, em especial à Letícia e Guilherme.
- Ao Lauro.
- À minha família, que sofreu e comemorou junto cada etapa.
- A todos que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Fixação Biológica de Nitrogênio (INCT-FBN) pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Leguminosas e rizóbios.....	12
1.2. Fixação Biológica de Nitrogênio e nodulação	13
1.3. Campos Sulinos	15
1.4. Família Leguminosae (Fabaceae)	16
1.4.1 O gênero <i>Desmodium</i>	17
1.5. Análises filogenéticas	18
2. OBJETIVO GERAL.....	20
2.1. Objetivos específicos	20
3. CAPÍTULO I <i>Manuscrito a ser submetido à revista Systematic and Applied Microbiology</i>	22
4. CAPÍTULO II – Manuscrito em preparação.....	60
4.1. Resumo.....	60
4.2. Introdução.....	61
4.3. Material e métodos.....	62
4.3.1. Caracterização dos locais de coleta	62
4.3.2. Coleta dos nódulos e obtenção dos isolados	65
4.3.3. Caracterização genética dos isolados.....	65
4.4. Resultados e discussão	66
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
6. REFERÊNCIAS	73

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca	cálcio
µg	micrograma
µL	microlitro
µM	micromolar
Al	alumínio
DNA	<i>desoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
FBN	fixação biológica de nitrogênio
Kb	quilobase
M	mol
Mg	magnésio
Mg ²⁺	íon magnésio
MLSA	<i>multilocus sequence analysis</i> (análise de sequência multilocular)
mM	mili Molar
Mn	manganês
N	nitrogênio
N ₂	nitrogênio atmosférico
Ng	nanograma
P	fósforo (<i>phosphorus</i>)
pb	pares de base
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (reação de polimerização em cadeia)
pH	potencial hidrogeniônico
rDNA	<i>ribosomal desoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)

	ribossomal)
RNA	<i>ribonucleic acid</i> (ácido ribonucleico)
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i> (dodecil sulfato de sódio)
SEMIA	Seção de Microbiologia Agrícola
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

RESUMO

A importância das leguminosas na produção agrícola tanto para humanos como para a criação de gado é bem conhecida e é, sem dúvida, a razão pela qual temos tantas informações sobre a simbiose entre rizóbios e leguminosas de interesse comercial, como a soja. O resultado dessa parceria é a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). Este processo aumenta a quantidade de nitrogênio disponível para a planta associada, aumentando naturalmente o rendimento da produção, evitando perdas monetárias para o produtor e perdas de nitrogênio para o meio ambiente, que potencialmente levam à contaminação e eutrofização de cursos de água. Apesar desse interesse econômico, ainda sabemos pouco sobre o potencial das leguminosas nativas e sobre seus simbioses. Neste trabalho propusemo-nos a avaliar a diversidade de rizóbios associados a leguminosas nativas dos Campos Sulinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, e compreender a estrutura filogenética da relação leguminosa-rizóbios ao longo das diferenças climáticas e topográficas da região. Para leguminosas do gênero *Desmodium*, representantes da fauna nativa, os simbioses pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* a elas associados mostraram-se altamente diversificados. Nossos resultados também indicaram a falta de especialização bacteriana em relação aos genes constitutivos (*recA*, *dnaK* e *atpD*) entre diferentes populações de *Desmodium*, uma vez que muitos filogrupos foram formados por isolados bacterianos de diferentes hospedeiros vegetais. Entretanto, ao analisarmos o gene relacionado à simbiose, *nifD*, foi possível identificar uma tendência maior à especificidade entre o rizóbio e a planta hospedeira. Além disso, encontramos clados de isolados não agrupados em clados contendo espécies de referência utilizadas nas análises filogenéticas, indicando o potencial para novas espécies de *Bradyrhizobium* nessas regiões. Estes isolados podem representar espécies recentes, provavelmente originadas nos Neotrópicos. Entre os trezentos e trinta isolados bacterianos provenientes de sessenta e oito espécies vegetais nativas, incluindo as do gênero *Desmodium* utilizadas no primeiro estudo, foram encontradas linhagens bacterianas com alta identidade com os gêneros *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Azorhizobium* e *Burkholderia*.

ABSTRACT

The importance of legumes in agricultural production for both humans and livestock is well known and is undoubtedly the reason why there are so much information on the symbiosis between rhizobia and legumes of commercial interest, such as soybean. The result of this partnership is Biological Nitrogen Fixation (BNF). This process increases the amount of nitrogen available to the associated plant, naturally increasing yields, avoiding monetary losses to the producer and nitrogen losses to the environment, which potentially leads to contamination and eutrophication of water courses. Despite this economic interest, we still know little about the potential of native legumes and their symbionts. In this work we propose to evaluate the diversity of rhizobia associated with native leguminous plants of the Southern Brazilian fields in Rio Grande do Sul state, Brazil, and to understand the phylogenetic structure of the leguminous-rhizobia relationship along the climatic and topographic differences of the region. For the leguminous of the genus *Desmodium*, representing the native fauna, the associated *Bradyrhizobium* symbionts were highly diversified. Our results also indicated the lack of bacterial specialization in relation to the constitutive genes (*recA*, *dnaK* and *atpD*) among different populations of *Desmodium*, since many phylogroups were formed by isolates of different plant hosts. However, when we analyze one gene related to symbiosis, *nifD*, we were able to identify a greater tendency to specificity between the rhizobia and the host plant. In addition, we found clades of bacterial isolates that did not cluster together with reference species used in phylogenetic analyzes, indicating the potential for new *Bradyrhizobium* species in these regions. These isolates may represent recent species, probably originating in the Neotropics. Among the three hundred and thirty bacterial isolates from sixty-eight native plant species, including those of the genus *Desmodium* used in the previous study, we found bacterial strains with high identity with genera *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Azorhizobium* and *Burkholderia*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Leguminosas e rizóbios

Legumes representam um grupo funcional importante em todos os ecossistemas devido, principalmente, a sua participação no processo de Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN). Esse processo é facilitado pela interação simbiótica com bactérias, conhecidas pelo nome genérico de rizóbios, que formam estruturas especializadas na conversão do nitrogênio atmosférico em compostos utilizáveis pelas plantas, os nódulos. Essa simbiose fornece à planta hospedeira todo o nitrogênio necessário ao seu desenvolvimento, enquanto a bactéria obtém os nutrientes necessários para sua sobrevivência e multiplicação. Essa relação, desenvolvida e aperfeiçoada através da coevolução, tem consequências ambientais importantes e vem sendo estudada de modo a ser aproveitada em benefício das atividades humanas, inclusive na diminuição do impacto socioambiental causado por elas.

A manutenção sustentável da produção agrícola tornou-se uma necessidade evidenciada pelas práticas já amplamente adotadas, como o manejo correto da área a ser plantada (por exemplo, o plantio direto) e a utilização de técnicas de melhoramento tradicional e genético, para que sejam obtidas variedades de plantas com característica desejáveis, como maior produtividade, resistência a organismos predadores e a condições ambientais desfavoráveis. Juntamente com essas práticas, uma alternativa eficiente e economicamente viável é o uso de formulações inoculantes a base de micro-organismos. Tais inoculantes são capazes de substituir parcial ou integralmente a adição de pesticidas e fertilizantes nitrogenados ou fosfatados às culturas, poupando tanto o agricultor quanto o ambiente dos danos resultantes, visando, ainda, a maximização da produção. O uso de espécies de rizóbios na inoculação de soja na agricultura brasileira desde a década de 70 substituiu amplamente a aplicação de fertilizantes nitrogenados, oferecendo grande vantagem econômica e sem prejuízos ao rendimento da produção. Aliado a esse conhecimento, há um esforço no uso de leguminosas como adubo verde, trazendo benefícios além da produtividade, como a diminuição na emissão de dióxido de carbono gerado pela mineração e a utilização de fertilizantes nitrogenados, compromisso assumido internacionalmente pelo Brasil entre os anos de 2009 e 2010 (FILIPE *et al.*, 2016; HUNGRIA e MENDES, 2013).

Devido ao aporte de nitrogênio e, conseqüentemente, à grande biomassa proporcionada pelas leguminosas, essas plantas adquiriram grande importância na manutenção da fertilidade do solo (KERMAH et al., 2017). Apesar de muitos estudos focarem no seu uso para a agricultura, essa característica também é interessante para a recuperação de ambientes naturais degradados e para o pastejo animal. Portanto, espécies de leguminosas nativas são potenciais candidatos a serem utilizados no manejo de culturas através da adubação verde (CREWS e PEOPLES, 2005).

A simbiose entre legumes cultiváveis é relativamente bem conhecida e estudada há muitos anos, gerando resultados positivos em relação à produtividade e custo para a agricultura brasileira e mundial. Outras bactérias fixadoras de nitrogênio e possuidoras de diversas características promotoras de crescimento vegetal, associadas a plantas não leguminosas, também têm fornecido bons resultados como inoculantes, apesar dessa relação não ser tão estreita como no caso dos legumes (BENEDUZI *et al.*, 2013; BHATTACHARJEE *et al.*, 2008). De uma perspectiva microbiológica, pouca informação está disponível em relação aos rizóbios que nodulam legumes nativos brasileiros em seus limites naturais. A alta diversidade dos parceiros vegetais nessa simbiose pode justificar esse fato: o Brasil representa o centro de diversidade de muitos grupos de legumes, incluindo o grupo inicial dos papilionoides e os dalbergoides *sensu lato*. Além disso, o tamanho e a complexidade do território brasileiro dificultam estudos mais amplos, amplificando o impacto que os fatores geográficos e ambientais ocasionam na distribuição de ambos os parceiros simbióticos (ANDAM e PARKER, 2007; STEPKOWSKI *et al.*, 2007). Portanto, a partir da escassa informação disponível, não estão claros quais desses fatores em particular modularam a evolução de rizóbios simbióticos e em que extensão essa evolução foi acompanhada pela evolução das plantas da família das leguminosas.

1.2. Fixação Biológica de Nitrogênio e nodulação

O processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico em amônia é realizado por micro-organismos chamados, de forma geral, de diazotróficos, nome relativo justamente a sua capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico (N₂) à amônia (NH₃) (NEWTON, 2000). Esse processo é realizado pelo complexo enzimático da enzima nitrogenase, no qual estão envolvidos os genes *nif* (de *nitrogen fixation*),

responsáveis pela montagem e funcionamento, assim como pela própria regulação da expressão dos genes *nif* (DIXON, 1984; DIXON; KAHN, 2004). Os diversos genes *nif* costumam estar organizados em *operons*, seja em ilhas genômicas (KANEKO et al., 2002, 2011) ou em grandes plasmídeos simbióticos (OKAZAKI et al., 2015; TEAMTISONG et al., 2014).

Apesar do conhecimento sólido de algumas décadas de estudo sobre bactérias diazotróficas de vida livre relacionadas a plantas não leguminosas (BALDANI *et al.*, 1997), é da simbiose entre rizóbios e espécies vegetais da família Leguminosae o processo de fixação biológica de nitrogênio mais bem estudado, assim como a própria simbiose (GRAY e SMITH, 2005). Esses micro-organismos são capazes de invadir o tecido da planta para, uma vez no espaço intracelular, induzir a formação do nódulo onde realizam a FBN em estreita simbiose. São representados, em sua maioria, pelos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Porém, outros gêneros também podem apresentar essa mesma habilidade, como os representantes fixadores de nitrogênio do gênero *Burkholderia*, geralmente noduladores de espécies vegetais da tribo Mimosae (subfamília Mimosoidae) (BOURNAUD et al., 2013).

A formação de nódulos é possibilitada pela troca de sinais moleculares entre a planta hospedeira e o rizóbio que ocorre no solo, em que compostos flavonoides são liberados pela planta, induzindo a expressão dos genes responsáveis pelo processo de infecção bacteriana às raízes das leguminosas, os genes *nod* (AUSMEES et al., 2004; MCLENNAN et al., 2014). Esses genes codificam enzimas de biossíntese e liberação de lipo-quito-oligossacarídeos, conhecidos como fatores Nod, que promovem a fase inicial da nodulação (AUSMEES et al., 2004; GRESSHOFF, 2003). Em um segundo momento, polissacarídeos de superfície ou proteínas secretadas pelas bactérias, também são requeridos para que haja uma eficiente formação do nódulo (AUSMEES et al., 2004). As bactérias invadem as raízes, através de brechas de infecção e, uma vez dentro do nódulo, se diferenciam em bacteroides, estrutura bacteriana sem parede celular, que é a forma capaz de reduzir o nitrogênio atmosférico (MYLONA *et al.*, 1995).

Assim como ocorre com os genes *nif*, os genes de nodulação de rizóbios também estão organizados em diversos *operons*, que podem estar localizados no cromossomo

(LOH et al., 2003) ou em grandes plasmídeos (FREIBERG et al., 1997), dependendo da espécie (CHEN et al., 2005).

Essas características de localização e organização dos *operons* relacionados à simbiose em rizóbios são fonte de informação importante quanto ao relacionamento filogenético entre diferentes linhagens, contando histórias evolutivas que divergem daquela contada pelos genes que são expressos constitutivamente (*housekeeping*). Inicialmente trazendo falta de resolução nas árvores filogenéticas, esses genes nos levam à história da coevolução entre os parceiros simbióticos (BARCELLOS et al., 2007; SYVANEN, 2012)

1.3. Campos Sulinos

Os Campos Sulinos compreendem as regiões campestres dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Fig. 1), que ainda se estendem pelo Uruguai e Argentina, incluindo áreas do bioma Pampa e do bioma Mata Atlântica (PILLAR e LANGE, 2015).

O bioma Pampa possui uma área de 178.243 quilômetros quadrados, segundo o mapa de biomas brasileiros elaborado pelo IBGE (2004), abrangendo os campos da metade sul e das Missões no Estado do Rio Grande do Sul. Menos de 12% de sua área está livre da atividade humana (HASENACK et al., 2007). O cultivo de lavouras e a pecuária, entre outras atividades, faz com que o Pampa seja um dos mais devastados biomas brasileiros, ficando atrás apenas do bioma Mata Atlântica, segundo componente dos Campos Sulinos. A porção dos Campos Sulinos ocupada pela Mata Atlântica está concentrada nos campos de altitude, também conhecidos como Campos de Cima da Serra. Essa região se caracteriza pela formação de mosaicos de matas de Araucária e outras formações florestais (PILLAR et al., 2009).

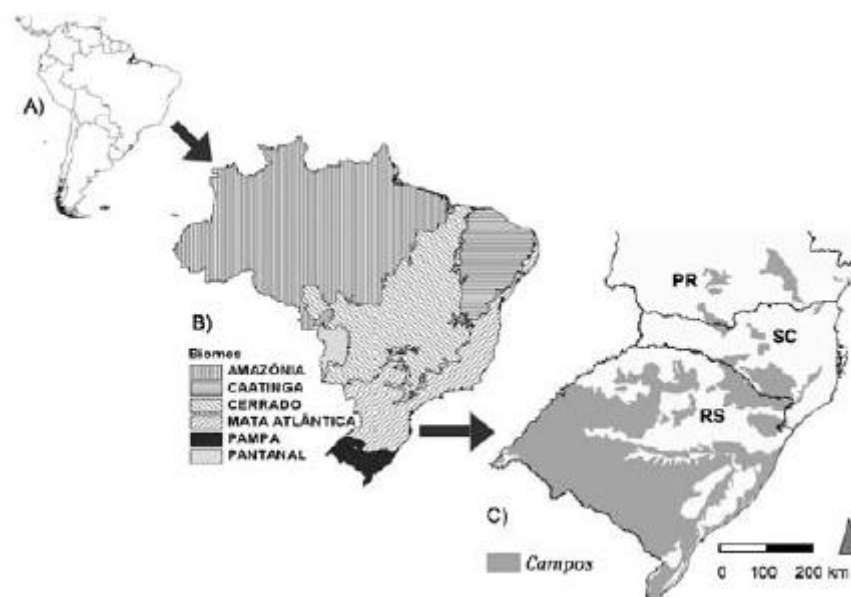


Fig. 1: Localização dos Campos Sulinos: (a) visão geral da América do Sul (b) o Brasil e a classificação oficial dos biomas brasileiros, segundo o IBGE (2004) e (c) distribuição dos Campos na região sul do Brasil. Fonte: PILLAR *et al.*, 2009.

Grande parte da riqueza da biodiversidade do Pampa ainda é desconhecida pela escassez de pesquisas de levantamento e de identificação da fauna e da flora deste bioma. A grande quantidade e diversidade de plantas nativas com potencial forrageiro que existe nos campos do Rio Grande do Sul, faz com que a pecuária seja uma das principais atividades da região. A lotação excessiva de gado nessas áreas pode gerar perda de biodiversidade. Além do potencial forrageiro, as pastagens permanentes e a introdução de espécies nativas são fundamentais para a proteção do solo, demonstrando o importante papel que as plantas leguminosas podem desempenhar.

1.4. Família Leguminosae (Fabaceae)

A família Leguminosae compreende, no Brasil, 2.848 espécies de legumes, distribuídas em 222 gêneros, das quais 1.539 são espécies endêmicas (FLORA DO BRASIL 2020, 2016). Devido a esse grande número de espécies endêmicas, o Brasil representa o centro de diversidade de muitas espécies de legumes. De uma perspectiva microbiológica, pouca informação está disponível em relação aos rizóbios que nodulam os legumes nativos brasileiros em seus limites naturais. Além disso, fatores geográficos e ambientais tiveram seus impactos na distribuição de ambos os parceiros simbióticos.

Porém, a partir da escassa informação disponível, não estão claros quais são esses fatores e de que forma eles modularam a evolução de rizóbios. Também é desconhecida como essa evolução foi acompanhada pela evolução das plantas da referida família.

Existem diversas espécies de leguminosas características dos Campos Sulinos que apresentam um grande potencial forrageiro. Entre elas encontram-se as espécies do gênero *Desmodium*. Assim como outros legumes, as raízes destas plantas podem ser eficientemente colonizadas por bactérias diazotróficas genericamente denominadas rizóbios, formando uma associação simbiótica entre a planta e a bactéria.

1.4.1 O gênero *Desmodium*

Espécies do gênero *Desmodium* (cerca de 300) são leguminosas da subfamília Papilionoideae, tribo Desmodieae, amplamente distribuídas em regiões temperadas e subtropicais, com maior concentração a leste da Ásia, México e Brasil. Elas são usadas na medicina popular tradicional como agentes antipiréticos e anti-inflamatórios e possuem um grande potencial como plantas forrageiras. O gênero também inclui espécies pioneiras resistentes ao ambiente estressado pela seca (OHASHI, 2005; WULFF, 1986). As espécies de *Desmodium* que realizam simbiose para a fixação biológica de nitrogênio com rizóbios também desempenham um papel importante na agricultura sustentável e na nutrição do gado. A maioria dos rizóbios nodulantes de *Desmodium* descritos até o momento pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*. No entanto, esta leguminosa também é nodulada por estirpes que pertencem aos gêneros *Rhizobium*, *Ensifer* e *Mesorhizobium* (PARKER, 1999).

Diversos estudos revelaram a importância do isolamento geográfico em uma escala continental, como um fator definidor do padrão de agrupamento em árvores filogenéticas de genes simbióticos de *Bradyrhizobium* (BEUKES *et al.*, 2016; KOPPELL e PARKER, 2012; STEPKOWSKI *et al.*, 2012). Devido ao fato de que a América do Sul permaneceu em um isolamento geográfico quase completo de qualquer área continental há mais de 130 milhões de anos (DIETZ e HOLDEN, 1970; SARMIENTO, 1975) e de que a região Neotropical é conhecida pela ocorrência de uma grande diversidade de sua flora de leguminosas (OHASHI, 2005), é interessante

investigar se o isolamento geográfico e a radiação da planta hospedeira atuaram como fatores críticos para a evolução do gênero *Bradyrhizobium* nessa região.

1.5. Análises filogenéticas

O estudo da variabilidade genética em isolados bacterianos vem se aperfeiçoando junto às variações da técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*), por exemplo, associadas às técnicas que se utilizam de características específicas das sequências (polimorfismos, sequências repetitivas) (FAROOQ; VESSEY, 2009; TIAN *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2007). Atualmente, o incremento da capacidade e acurácia de sequenciamento dos produtos amplificados pela PCR junto à disponibilidade de informações contidas em bancos de dados de sequências nucleotídicas, entre outras, permite a exploração e comparação entre micro-organismos de forma a elucidar suas relações filogenéticas, servindo de ferramenta indispensável na compreensão da evolução dos mesmos e, no caso específico de rizóbios, de sua coevolução em relação a seus parceiros simbióticos.

A alta conservação nucleotídica do gene 16S rDNA faz com que o mesmo represente um marcador molecular importante na elucidação da história evolutiva de bactérias, sendo um critério indispensável na taxonomia bacteriana. Apesar de muito usado na caracterização de isolados bacterianos com bastante sucesso devido suas características, o gene do 16S rDNA não costuma ser variável o suficiente para oferecer informações que suportem a diferenciação de linhagens de rizóbios (SANT'ANNA *et al.*, 2017), havendo ainda a questão da existência de múltiplas cópias do gene em um mesmo genoma, o que confere certa heterogeneidade entre as sequências (ACINAS *et al.*, 2004).

Outros genes, tipicamente de expressão constitutiva, conhecidos como genes *housekeeping* têm sido utilizados na intenção de resolver as relações filogenéticas entre micro-organismos em geral (*e. g.* NOISANGIAM *et al.*, 2010; OKAMURA; TAKATA; HIRAISHI, 2009; XU *et al.*, 2013; XU *et al.*, 2015). Atualmente, a técnica de MLSA (de *Multilocus sequence analysis*) tem sido utilizada em estudos filogenéticos de forma a somar a informação presente em cada gene, a fim de encontrar melhor resolução das relações filogenéticas, permitindo esclarecer essas relações

dentro do mesmo gênero, ou mesmo entre linhagens de uma mesma espécie (RIVAS *et al.*, 2009; STEPKOWSKI *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2016).

O uso de *loci* simbióticos na elucidação de filogenias de rizóbios revelou o alto nível de diversidade do gênero *Bradyrhizobium* (*e. g.* GRANADA *et al.*, 2015; KOPPELL e PARKER, 2012; PARKER, 2012; STEPKOWSKI *et al.*, 2012). Um dos fatores que contribuem para essa alta diversidade é transferência horizontal de genes (HGT – *Horizontal Gene Transfer*), muito comum em sequências presentes em ilhas genômicas ou plasmídeos, como é o caso dos genes relacionados à nodulação (genes *nod*) e os genes ligados ao processo de fixação de nitrogênio (genes *nif*) (BARCELLOS *et al.*, 2007; NIELSEN *et al.*, 2013; STEENKAMP *et al.*, 2008). Apesar de altamente diversificado, ou talvez por esse mesmo motivo, as sequências oriundas desses genes são altamente informativas filogeograficamente, permitindo a visualização de grupos relacionados tanto à origem do micro-organismo simbiote quanto da planta hospedeira (BEUKES *et al.*, 2016a).

2. OBJETIVO GERAL

Na tentativa de preencher algumas lacunas de conhecimento, o presente estudo teve como objetivo geral descrever a diversidade de rizóbios que nodulam legumes nativos em várias localidades do Rio Grande do Sul situadas na região conhecida como Campos Sulinos. O conhecimento gerado contribuirá para um melhor entendimento da distribuição e origem das espécies de rizóbios nas áreas amostradas.

2.1. Objetivos específicos

- a) Realizar coletas de nódulos de diferentes leguminosas nativas em sítios de amostragem localizados nos biomas Pampa e Mata Atlântica do Estado do Rio Grande do Sul;
- b) Avaliar os sítios de amostragem quanto às suas características ambientais, a fim de estimar a distribuição de plantas e bactérias entre os diferentes locais;
- c) Obter diferentes isolados de rizóbios e seus DNAs genômicos, a fim de amplificar e sequenciar genes *housekeeping* e simbióticos que sejam comumente empregados em análises taxonômicas de rizóbios, de acordo com a literatura;
- d) Inferir sobre relações filogenéticas entre os isolados obtidos e diferentes linhagens tipo de rizóbios, as quais serão selecionadas de acordo com a disponibilidade de sequências e a comparação em diferentes bancos de dados;
- e) Avaliar a distribuição de grupos bem suportados entre as filogenias de genes individuais e dos genes *housekeeping* concatenados, a fim de inferir sobre a possibilidade de relação específica entre rizóbio e planta hospedeira;
- f) Comparar as filogenias de genes simbióticos e *housekeeping* e a possibilidade de eventos de transferência gênica entre as diferentes linhagens obtidas;
- g) Analisar as relações de ancestralidade de rizóbios obtidos a partir de diferentes leguminosas nativas, bem como a possível existência de linhagens originadas no sul da América do Sul;
- h) Contribuir para o conhecimento da distribuição de comunidades de rizóbios associadas a leguminosas nativas do sul do Brasil, dado seu potencial como bactérias promotoras de crescimento de plantas em solos degradados do bioma Pampa.

Em um primeiro momento, o trabalho se concentrou especificamente nas plantas pertencentes ao gênero *Desmodium*, presentes em praticamente todos os pontos de coleta (Capítulo I). Posteriormente, ele foi ampliado para todas as espécies de legumes amostradas (Capítulo II).

4. CAPÍTULO II – Manuscrito em preparação

Diversidade de rizóbios associados a plantas leguminosas nativas dos Campos Sulinos -RS/Brasil

Fernanda da Silva Moreira¹, Bruno Brito Lisboa², Gilson Shlindwein², Tomasz Stepkowski³, Luciane Maria Pereira Passaglia¹

¹Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Brazil),

²Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do Rio Grande do Sul-SEAPI (Brazil),

³Biology College of Warsaw University of Life Sciences (Poland).

4.1. Resumo

Os Campos Sulinos, que incluem o Bioma Pampa e o de Mata Atlântica em áreas de maior altitude, são conhecidos pela diversidade florística como um todo. Porém, o potencial de Fixação Biológica de Nitrogênio pelos legumes nativos, especialmente os de menor interesse forrageiro, assim como seus parceiros bacterianos, ainda é pouco conhecido. Nesse estudo nos propusemos a conhecer a diversidade de rizóbios que nodulam as espécies nativas de leguminosas nessa grande área do Estado do Rio Grande do Sul. De sessenta e oito espécies vegetais, com destaque para a subfamília Papilionoidea, foram isolados trezentos e trinta micro-organismos simbióticos, entre eles bactérias relacionadas aos gêneros *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Azorhizobium* e *Burkholderia*. Foram realizadas amplificação e sequenciamento de genes *housekeeping* (*recA*, *atpD* e *dnaK*) e um gene relacionado à simbiose (*nifD*) para futuras análises filogenéticas, além de avaliação das condições ambientais de cada ponto de coleta a fim de relacionar a diversidade bacteriana e fatores edafoclimáticos. A exemplo de estudos prévios nesse mesmo sentido, o potencial para a geração de resultados que colaborem com a compreensão das relações filogenéticas entre os parceiros dessa simbiose é imenso e deverão ser explorados extensivamente.

4.2. Introdução

Os campos do Bioma Pampa estendem-se ao sul e a oeste do Uruguai, nas províncias argentinas de Corrientes, Entre Rios, Santa Fé, Córdoba, Buenos Aires e La Pampa, na parte do Noroeste e na metade sul do Estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, incluindo a capital, Porto Alegre. Esses campos apresentam uma grande riqueza de espécies com diversos usos, como árvores frutíferas, plantas medicinais e plantas ornamentais nativas. Além disso, também existe uma diversidade de plantas domesticadas de outras partes do mundo e que se adaptaram às condições locais, como milho, feijão, batata-doce, mandioca, pimentas, cucurbitáceas, cenoura e cebola, as quais têm características únicas, devido ao processo de colonização do território por diferentes culturas (indígena, portuguesa, espanhola, africana, alemã, italiana e francesa). Porém, o uso tradicional do Bioma Pampa como um todo está associado, principalmente, à pecuária extensiva e à cultura de arroz irrigado, soja e integração lavoura-pecuária. A geração de renda e o uso sustentável desse bioma geralmente estão ligados a espécies forrageiras que compõe o campo nativo, em especial, gramíneas e leguminosas, relacionadas à criação de gado, aproveitando os recursos naturais disponíveis (BARBIERI et al., 2009).

Na porção de terras mais alta do estado do RS estão localizados os Campos de Cima da Serra. Assim como no Bioma Pampa, nessa região a vegetação predominante é a de campos, com participação significativa de vegetação arbórea característica da Mata Atlântica, chamando atenção a Mata de Araucária, caracterizada pela presença do pinheiro brasileiro (*Araucaria angustifolia*). A vegetação característica dos campos são as gramíneas, como as pertencentes aos gêneros *Andropogon* e *Paspalum* e as carquejas do gênero *Bacharis*, classificadas como estivais (de clima quente). Devido às características climáticas da área também se destacam as leguminosas hibernais (de clima temperado) dos gêneros *Trifolium* e *Adesmia* (BOLDRINI, 1997).

Essas duas regiões são demarcadas pelas diferenças climáticas e pela origem e composição da flora. Muitas espécies de plantas que habitam climas mais tropicais têm nos Campos Sulinos o seu limite sul, assim como espécies de climas mais temperados o seu limite norte de distribuição. Existe uma clara distinção na vegetação entre os campos do bioma Pampa, no sul do RS, e os campos do bioma Mata Atlântica. Porém, a distribuição de um grande número de plantas, incluindo algumas

das mais abundantes, se sobrepõe nessa região, o que justifica o emprego do termo Campos Sulinos unindo os dois biomas como um todo. Os Campos Sulinos se estendem por regiões campestres nos três estados da região Sul do Brasil, Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR) (PILLAR et al., 2009; PILLAR; LANGE, 2015).

As condições do solo nos Campos Sulinos variam, porém, os solos profundos dominam a parte sudeste da Campanha e são, em sua maioria, dominados pela agricultura. Solos rasos devido a afloramentos rochosos e solos arenosos, como nos campos Litorâneos (não contemplados nesse estudo) e no centro-oeste do RS, proporcionam ambientes desafiadores para a cobertura vegetal, onde leguminosas resistentes a estresse hídrico obtêm vantagem (PILLAR e LANGE, 2015). Ainda, a formação de uma relação simbiótica com micro-organismos para exercer sua capacidade de converter o nitrogênio atmosférico em amônia, confere às plantas leguminosas uma vantagem em se desenvolver em solos pobres em nitrogênio (ANDREWS *et al.*, 2013; ANDREWS *et al.*, 2011)(ANDREWS et al., 2011)(ANDREWS et al., 2011)(ANDREWS et al., 2011).

A vasta extensão dos Campos Sulinos e suas características heterogêneas, ao mesmo tempo que permite a classificação conjunta do Bioma Pampa e dos Campos de Cima da Serra, representam um desafio no estudo de diversidade como um todo, seja florística, zoológica e, principalmente, microbiológica. A especificidade entre rizóbios e legumes nativos, bem como seu padrão de distribuição ao longo da região é ainda um campo a ser explorado. Portanto, identificar as espécies de rizóbios que nodulam legumes nativos avaliando sua diversidade e distribuição nesse ambiente contribuirá para ampliar o conhecimento a respeito das origens evolutivas desses parceiros simbióticos.

4.3. Material e métodos

4.3.1. Caracterização dos locais de coleta

Foram realizadas, entre maio de 2014 e março de 2015, quatro incursões a diferentes ambientes do Rio Grande do Sul contemplando os chamados Campos Sulinos. A elas nos referimos como Campos A, B, C e D na ordem em que tais incursões ocorreram. Campos A, B e D abrangeram localidades situadas no Bioma

Pampa, enquanto o Campo C abrangeu localidades situadas nos Campos de Cima da Serra, onde predomina o Bioma Mata Atlântica, como mostra a Figura 1 com o panorama geral dos pontos amostrados.

O Campo A compreendeu localidades na Serra do Sudeste e Depressão Central do RS. De maneira geral, a vegetação das áreas amostradas representa as zonas de campos savanoides do bioma Pampa constituídos por mosaicos de campo, arbustos e pequenos agrupamentos florestais (CRAWSHAW et al., 2007; HASENACK et al., 2007). Os pontos de coleta se concentraram em áreas próximas a estradas secundárias da região, em zonas de encostas e afloramentos rochosos, a maioria sob a influência de pastejo e alguns com a interferência da faixa de domínio.

Com relação à composição florística, destaca-se a subfamília Papilionoidea com maior número de gêneros encontrados (12). Os gêneros *Mimosa* e *Desmodium* foram os que apresentaram o maior número de espécies nativas, quatro e três, respectivamente. Entre as espécies destaca-se *Desmodium incanum* com presença em todos os pontos amostrados, concordando com a descrição feita por Oliveira (1983) como a espécie mais comum, abundante e de ampla distribuição em todo o Estado do Rio Grande do Sul.

O Campo B abrangeu duas regiões do RS bastante distintas entre si: Fronteira e Campanha. A Fronteira caracteriza-se por campos naturais sobre solos originados por materiais de origem contrastantes: arenitos (solos profundos, pobres quimicamente e com pouca capacidade de retenção de umidade) e basalto (solos rasos com textura argilosa, quimicamente ricos e com capacidade de retenção de água variando conforme a espessura do perfil). Na Campanha é característica a formação de campo natural fino, conhecido como “Ponche verde” em solos originados de rochas sedimentares (argilitos e siltitos). Também quimicamente ricos esses solos podem apresentar má drenagem devida a sua textura muito argilosa. Ainda na região de Bagé, foram coletadas amostras em locais com características da região da Serra do Sudeste, isto é, apresentando relevo forte ondulado e com solos originados de granitos (CRAWSHAW et al., 2007).

Durante o Campo C, realizado nos Campos de Cima da Serra e da Encosta Nordeste do Estado, foram coletadas amostras na região do planalto Rio-grandense, na qual os solos são originados a partir de rochas vulcânicas de caráter básico (formam

solos classificados como Latossolos e Neossolos litólicos) e ácido (formam solos classificados como Cambissolos e Neossolos litólicos) (IGANCI et al., 2011). Estes solos variam em profundidade, textura e composição química.

Na última incursão, ao Noroeste do estado do RS, no Campo D, encontramos áreas de transição entre o campo nativo degradado e parcelas de desertificação (Formação Guará) (VERDUM, 1997). Campos de solo raso formados sobre o basalto alegreite (DO NASCIMENTO et al., 2014) e áreas baixas, inundáveis (geralmente utilizadas para o plantio de arroz) também são características desse local.

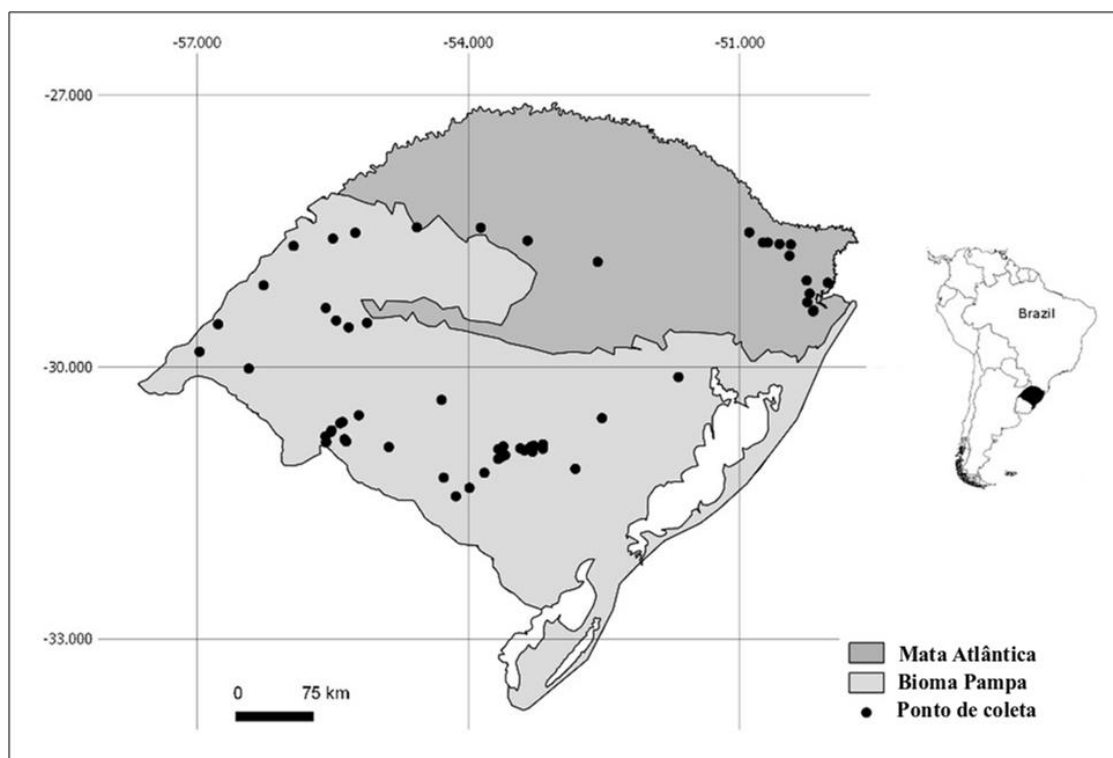


Figura 1: panorama geral dos pontos amostrados nos Campos Sulinos, separados por Bioma de amostragem.

De cada ponto amostrado foram coletados 0.5 kg de solo para determinação do pH, conteúdo de matéria orgânica (OM), argila, fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al), de acordo como o método padrão de análise (SPARKS, 1996).

4.3.2. Coleta dos nódulos e obtenção dos isolados

As raízes das plantas contendo os nódulos foram armazenadas em frascos contendo sílica e mantidas em ambiente protegido da luz até o momento de sua utilização. Para o isolamento das bactérias os nódulos foram destacados das raízes e desinfetados por lavagens sucessivas com etanol (70%) por 45 segundos, seguidas de hipoclorito (1%) por 30 segundos e cinco lavagens com água destilada e esterilizada. Em seguida, cada nódulo foi macerado com uma pinça estéril em tubos de microcentrífuga contendo 100 μL de água destilada esterilizada. A suspensão obtida foi inoculada pela técnica de esgotamento por estrias em placas de Petri contendo o meio ágar Levedura Manitol (LM) (VINCENT, 1970) com Vermelho Congo (25 mg L^{-1}) e incubadas em estufa a 28°C pelo tempo necessário ao aparecimento de colônias bacterianas (de 3 a 10 dias). As colônias obtidas foram novamente cultivadas em meio LM líquido e seguiu-se à inoculação por agulha em meio LM sólido (tubos de 2 mL). Os tubos foram incubados em estufa a 28°C pelo tempo necessário ao aparecimento de crescimento bacteriano visível. A cultura foi coberta por uma fina camada óleo mineral estéril para conservação em temperatura ambiente dos isolados. Parte da cultura líquida foi reservada para extração de ácidos nucleicos.

4.3.3. Caracterização genética dos isolados

Os isolados foram submetidos à extração do DNA genômico pelo método de extração de DNA com clorofórmio (SOMASEGARAM e HOBEN, 1985). Uma alíquota de 1,5 mL das culturas bacterianas (cultivadas em meio LM por 72 horas a 28°C sob agitação de 120 rpm) foi transferida para tubos de microcentrífuga esterilizados e centrifugada por três minutos a 12.000 rpm. A suspensão de células obtida foi submetida à lavagem com solução estéril de cloreto de sódio (NaCl) 1%. As células foram homogeneizadas em 700 μL de TES (Tris 10mM, EDTA 25 mM e NaCl 150 mM) e a suspensão foi novamente centrifugada por dois minutos a 12.000 rpm. Os sobrenadantes foram desprezados, as suspensões de células foram homogeneizadas em 500 μL de TE1 (Tris 10mM e EDTA 25 mM) e 25 μL de lisozima (20 mg mL^{-1}) e posteriormente foram incubadas a 37°C por uma hora. Após este período, foram adicionados 100 μL de SDS 20% a 60°C e 5 μL de proteinase K (20 mg mL^{-1}) e as misturas foram incubadas a 60°C por 15 min. Logo após, foram adicionados 600 μL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1). As suspensões foram agitadas em vórtex e

centrifugadas por três min. a 10.000 rpm. Os sobrenadantes foram transferidos para novos microtubos e foram adicionados 8 µL de NaCl 5M juntamente com 500 µL de isopropanol gelado. Após 10 min. no gelo, as misturas foram centrifugadas por 15 min. a 12000 rpm. Os concentrados obtidos foram lavados com etanol 70%, secos à temperatura ambiente e finalmente suspensos em 50 µL de TE2 (Tris 2 mM e EDTA 25 mM).

Sequências parciais de três genes *housekeeping* (*recA*, *atpD* e *ednAK*) e um gene relacionado à simbiose (*nifD*) foram amplificadas com seus respectivos iniciadores e sob as condições demonstradas na Tabela 1. Os produtos das ampliações foram sequenciados em sequenciador automático Megabace 1000 utilizando DYEnamic™ ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (GE Health Care). As sequências obtidas foram analisadas no programa BioEdit 7.0.9.0 (HALL, 1999). O tamanho dos fragmentos resultantes, em pares de bases (pb), foram os seguintes: *dnaK* (proteína chaperona 70 kDa – 245 pb), *recA* (proteína de recombinação A – 381 pb), *atpD* (ATP sintase cadeia beta – 333 pb) e *nifD* (subunidade alfa da dinitrogenase – 798 pb). As sequências obtidas foram comparadas às disponíveis na base de dados GeneBank.

Tabela 1: Sequências iniciadoras e condições de amplificação em PCR.

Primer	Sequência (5' - 3')	Gene Alvo (tamanho do fragmento)	Condições da PCR	Referência
BRdnaKf	TTCGACATCGACGCSAACGG	<i>dnaK</i> (245)	2 min 95°C, 35 X (45 s 95°C, 30 s 58°C, 1.5 min 72°C), 7 min 72°C	MENNA <i>et al.</i> , 2009
BRdnaKr	GCCTGCTGCKTGACATGGC			
TsrecAf	CAACTGCMYTGCGTATCGTC GAAGG	<i>recA</i> (381)	2 min 95°C, 35 X (45 s 95°C, 30 s 58°C, 1.5 min 72°C), 7 min 72°C	STEPKOWSKI <i>et al.</i> , 2005
TsrecAr	CGGATCTGGTTGATGAAGAT CACCATG			
TSatpDf	TCTGGTCCGYGGCCAGGAAG	<i>atpD</i> (333)	2 min 95°C, 35 X (45 s 95°C, 30 s 58°C, 1.5 min 72°C), 7 min 72°C	STEPKOWSKI <i>et al.</i> , 2005
TSatpDr	CGACACTTCCGARCCSGCCTG			
TSnifDf1	CGV GGA GGT SCT SAA GGT CTA TCC	<i>nifD</i> (798)	2 min 95°C, 35 X (45 s 95°C, 30 s 53°C, 1.5 min 72°C), 7 min 72°C	(BEUKES <i>et al.</i> , 2016a)
nifp12	CCGAAGAAGTTGTACTCGCA CCA			

4.4. Resultados e discussão

Trezentos e trinta isolados de rizóbios foram obtidos a partir de 68 espécies de leguminosas nativas do Rio Grande do Sul distintas. As ocorrências das espécies nos

pontos amostrados estão descritas na Tabela 2, referente às quatro incursões a campo realizadas; Campanha e Fronteira do RS, chamadas de A, B, C e D, respectivamente.

Tabela 2: Ocorrências das espécies nos pontos amostrados e identificação de seus respectivos isolados bacterianos.

Espécie vegetal ¹	Ponto de coleta de nódulos ²	Identificação do isolado bacteriano ³
<i>Adesmia incana</i>	B 3-6, 8, 10, 14	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Adesmia latifolia</i>	C 3	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Adesmia punctata</i>	C 8	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Adesmia securigerifolia</i>	B 10, 11, 14	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Adesmia tristis</i>	C 2, 3, 5	<i>Mezorhizobium</i> sp., <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Adesmia</i> sp. 1	B 14, 15	<i>Azorhizobium caulinodans</i>
	D 1	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Adesmia</i> sp. 2	D 5	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Aeschynomene falcata</i>	D 1, 5, 13, 14, 16	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Aeschynomene erudis</i>	D 9	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Aeschynomene sensitiva</i>	D 11	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Aeschynomene</i> sp. 1	D 5, 14	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Aeschynomene</i> sp. 2	D 12	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Arachis burkartii</i>	A 1, 9, 10, 13	<i>Bradyrhizobium embrapense</i> , <i>B. japonicum</i> , <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	B 1, 4, 7, 10	<i>Bradyrhizobium daqingense</i> , <i>B. japonicum</i>
<i>Arachis</i> sp.1	D 6	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Arachis</i> sp.2	D 6	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Ateleia glazioviana</i>	D 3	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Chamaecrista nictitans</i>	A 16	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
	D 4, 5, 7, 15	<i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Rhizobium lupini</i>
<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D 10	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Chamaecrista</i> sp.1	D 14	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Collaea stenophylla</i>	C 9	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Crotalaria hilariana</i>	D 16	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Crotalaria lanceolata</i>	A 15	<i>Rhizobium</i> sp.
	C 11	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Desmanthus virgatus</i>	A 14	<i>Rhizobium</i> sp.
	D 1	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Desmodium adscendens</i>	C 11, 12	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	D 5, 9	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Desmodium affine</i>	A 1, 5, 8, 12-14	<i>Bradyrhizobium jicamae</i> , <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	B 2	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Desmodium cuneatum</i>	D 14	<i>Bradyrhizobium liaoningense</i>
<i>Desmodium incanum</i>	A 1-17	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium iriomotense</i> , <i>Bradyrhizobium canariense</i> , <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> , <i>Bradyrhizobium viridifuturi</i> <i>Bradyrhizobium embrapense</i>
	B 1-3, 6, 10-12, 14	<i>Bradyrhizobium tropiciagri</i> , <i>Bradyrhizobium viridifuturi</i> , <i>Bradyrhizobium liaoningense</i> , <i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>
	C 11	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium liaoningense</i>
	D 1, 2, 12	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Bradyrhizobium viridifuturi</i>
<i>Desmodium uncinatum</i>	D 16	<i>Bradyrhizobium viridifuturi</i>
<i>Eriosema tacuareboense</i>	D 1	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Eriosema</i> sp.1	B 1	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Galactia marginalis</i>	C 9	<i>Rhizobium</i> sp.

<i>Indigofera asperifolia</i>	C 12	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Indigofera suffruticosa</i>	D 5	<i>Rhizobium indigofera</i>
<i>Lathyrus</i> sp.1	B 10	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Lupinus bracteolaris</i>	B 7	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>
	C 10	<i>Bradyrhizobium iriomotense</i>
<i>Lupinus reitzii</i>	C 4, 9	<i>Bradyrhizobium iriomotense</i> ,
<i>Lupinus</i> sp.1	C 2, 3	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>
	D 2, 16	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Macroptilium gibbosifolium</i>	D 16	<i>Rhizobium melilot</i>
<i>Macroptilium heterophyllum</i>	D 5, 10	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Mimosa ramosissima</i>	C 8	<i>Burkholderia phymatum</i>
<i>Mimosa</i> sp.1	A 4	<i>Burkholderia phymatum</i>
	C 6	<i>Burkholderia phymatum</i>
<i>Mimosa</i> sp.2	A 10, 12	<i>Burkholderia mimosarum</i> , <i>Burkholderia phymatum</i>
<i>Mimosa</i> sp.3	A 15	<i>Burkholderia mimosarum</i>
	C 7	<i>Burkholderia mimosarum</i>
	D 10	<i>Burkholderia mimosarum</i>
<i>Mimosa</i> sp.4	C 8	<i>Burkholderia phymatum</i>
<i>Poiretia tetraphylla</i>	D 1	<i>Burkholderia phymatum</i>
<i>Rhynchosia corylifolia</i>	B 4	<i>Azorhizobium caulinodans</i>
	D 1, 4	<i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Rhynchosia diversifolia</i>	B 1	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
<i>Rhynchosia</i> sp.1	A 12	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Rhynchosia</i> sp. 2	C 12	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Rhynchosia</i> sp.3	C 12	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Senna</i> sp.1	D 6	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Senna</i> sp.2	D 6	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Sesbania punicea</i>	B 1	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>
<i>Sesbania virgata</i>	A 2, 11	<i>Azorhizobium doebereineriae</i> , <i>Rhizobium tropici</i>
	B 3, 10	<i>Rhizobium</i> sp.
<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	A 7	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
	D 1, 15, 16	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
		<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Bradyrhizobium</i>
<i>Stylosanthes montevidensis</i>	D 1, 12, 13	<i>stylosanthis</i>
<i>Stylosanthes</i> sp.1	D 12	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Trifolium polymorphum</i>	A 5, 6, 12, 13	<i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	B 1, 4, 5, 6, 7,9, 14, 15	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>Bradyrhizobium trifolii</i>
<i>Trifolium riograndense</i>	C 9	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Trifolium repens</i>	B 10	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
	A 2, 4	<i>Bradyrhizobium viridifuturi</i> , <i>Bradyrhizobium</i>
<i>Trifolium</i> sp.1		<i>yuanmingense</i>
<i>Vicia graminea</i>	B 10	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Vicia</i> sp.1	C 6	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Vicia</i> sp.2	C 6	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
<i>Vigna peduncularis</i>	A 1	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>
	B 11	<i>Bradyrhizobium brasilense</i>
	D 1	<i>Bradyrhizobium brasilense</i>
		<i>Bradyrhizobium liaoningense</i> , <i>Bradyrhizobium</i>
<i>Zornia</i> sp.1	D 12, 15	<i>japonicum</i>
<i>Zornia</i> sp.2	B 1	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>
	D 12, 15	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
<i>Zornia</i> sp.3	D 2	<i>Bradyrhizobium liaoningense</i>

¹Identificação através de chave dicotômica. As plantas identificadas como sp.1, sp.2, sp.3 e sp.4 não puderem ser identificadas em nível taxonômico específico;

²Nomenclatura de referência às incursões realizadas a campo. Campos A, B e D = Bioma Pampa, Campo C = Campos de Cima da Serra, onde predomina o Bioma Mata Atlântica. Características de cada ponto são mostrados na Tabela Suplementar 1.

³Identidade acima de 85% de acordo com a base de dados GenBank.

Em estudos de diversidade genética microbiana, especialmente de amostras ambientais, não é raro que se encontre uma alta taxa de diversidade, não somente de espécies como de linhagens, bem como o potencial para descoberta de novas espécies entre as bactérias noduladoras de plantas leguminosas. Parker e seus colaboradores (Koppel e Parker, 2012; Parker, 2015) têm estudos sólidos na tentativa de elucidar as relações filogenéticas entre rizóbios e avaliar a evolução dos mesmos ao longo dessa tão bem-sucedida parceria bactéria-legume. Koppel e Parker (2012) realizaram uma análise avaliando linhagens de *Bradyrhizobium* ao longo da América do Norte. Mais recentemente, Parker (2015) realizou um amplo estudo utilizando 420 linhagens disponíveis do gênero *Bradyrhizobium* coletadas de 75 gêneros de plantas leguminosas provenientes de 25 países (que incluíram amostras da América do Norte, América Central, Europa e Ásia). Os isolados foram caracterizados através de MLSA de genes *housekeeping* e separadamente um gene relacionado à simbiose (*nifD*). Ambos os estudos demonstraram que muitos grupos de *Bradyrhizobium* utilizam diferentes grupos de leguminosas para estabelecer relações simbióticas, sugerindo que o gênero é muito plástico, pelo menos na sua evolução recente, em escolher o vegetal a ser colonizado e que maior especificidade é demonstrada ao analisarmos genes relacionados à simbiose. Portanto, apesar de alguns grupos manterem um certo padrão de especificidade com a planta hospedeira, há possibilidade de ampliação do alcance das linhagens atuais de *Bradyrhizobium* em relação a outros parceiros simbióticos.

Da mesma forma, outro pesquisador, Tomasz Stepkowski, possui estudos com isolados bacterianos de leguminosas coletadas na Europa (STEPKOWSKI et al., 2011; STEPKOWSKI et al., 2007), África (BEUKES et al., 2016b; STEENKAMP et al., 2008), Austrália (STEPKOWSKI et al., 2012) e América Central. No Brasil e América do Sul também houve uma série de estudos focados na simbiose existente entre rizóbios e soja (GALLI-TERASAWA et al., 2003; HUNGRIA et al., 2006; LU SHI CHEN et al., 2000).

Dessa forma, o presente estudo se propõe a incluir uma diversidade maior de gêneros de plantas abordados, com ênfase nas plantas nativas. Abrangendo uma grande

área ainda a ser explorada como fonte de conhecimento, visando também a aplicação do mesmo na conservação e recuperação de área degradadas, dado o potencial inerente das plantas leguminosas em sobreviver em ambientes relativamente pobres nutricionalmente e árdus nos fatores climáticos e de proporcionar nutrientes para os referidos solos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O projeto de pesquisa aqui proposto teve como objetivo descrever a diversidade de rizóbios nas regiões subtropicais e temperadas do estado do Rio Grande do Sul. O conhecimento adquirido não apenas irá contribuir para um melhor entendimento da distribuição de espécies de rizóbios nas áreas amostradas, como também irá contribuir para futuros empreendimentos que visem o estudo e a utilização desses importantes organismos. Entre nossos objetivos específicos estavam identificar as espécies de rizóbios que nodulam legumes nativos nas regiões amostradas e investigar o nível de diversidade geral dos rizóbios nessas regiões, uma vez que a especificidade entre rizóbios e legumes nativos não é amplamente conhecida e existe a possibilidade de existirem diferentes rizóbios nesses ambientes.

Nossos resultados indicaram a falta de especificidade entre o parceiro bacteriano do gênero *Bradyrhizobium* e a planta hospedeira, demonstrados pelas análises filogenéticas dos genes *housekeeping* em legumes nativos do gênero *Desmodium* de diferentes populações. Porém, ao analisarmos o gene *nifD*, envolvido na fixação de nitrogênio e, portanto, envolvido diretamente em um dos fatores da simbiose, encontramos um padrão mais visível de seleção espécie-específica entre os parceiros simbióticos. Os resultados encontrados no primeiro capítulo ainda trazem reflexões sobre o uso de marcadores moleculares tradicionais nesse tipo de estudo, como o gene *dnaK*, que, em princípio, não se demonstrou muito apropriado, necessitando maior investigação. Além disso, há ainda grande possibilidade de haver novas espécies entre os isolados, visto que os mesmos não se agruparam de forma concordante com nenhuma espécie de referência utilizada no estudo.

Dados ambientais aqui obtidos poderão nos ajudar a compreender melhor o padrão de distribuição das espécies bacterianas e de suas plantas hospedeiras ao longo dos diferentes ambientes amostrados. Essas análises ainda deverão ser realizadas.

Outra possibilidade de estudo é a inclusão de genes de linhagens amplamente utilizadas como inoculantes no Brasil (SEMIA 587, 5019, 5079 e 5080) nas análises filogenéticas, a fim de verificarmos se as bactérias isoladas poderiam ter sido originadas dessas linhagens.

6. REFERÊNCIAS

- ACINAS, Silvia G. et al. Divergence and Redundancy of 16S rRNA Sequences in Genomes with Multiple *rrn* Operons. **Journal of Bacteriology**, [s. l.], v. 186, n. 9, p. 2629–2635, 2004.
- ANDAM, Cheryl P.; PARKER, Matthew A. Novel alphaproteobacterial root nodule symbiont associated with *Lupinus texensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 73, n. 17, p. 5687–5691, 2007.
- ANDREWS, M.; RAVEN, J. A.; LEA, P. J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. [s. l.], n. 3, p. 1–26, 2013.
- ANDREWS, Mitchell et al. Nitrogen fixation in legumes and actinorhizal plants in natural ecosystems: values obtained using ¹⁵N natural abundance. **Plant Ecology & Diversity**, [s. l.], v. 4, n. 2–3, p. 131–140, 2011. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17550874.2011.644343>>
- AUSMEES, N. et al. Characterization of NopP, a Type III Secreted Effector of *Rhizobium* sp. Strain NGR234. **Journal of Bacteriology**, [s. l.], v. 186, n. 14, p. 4774–4780, 2004. Disponível em: <<http://jb.asm.org/cgi/doi/10.1128/JB.186.14.4774-4780.2004>>. Acesso em: 27 abr. 2018.
- BALDANI, JoséI. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 29, n. 5–6, p. 911–922, 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071796002180>>. Acesso em: 12 abr. 2018.
- BARBIERI, Rosa Lía et al. Recursos genéticos do Bioma Pampa. **Mesa Redonda 10 - USO, VALORAÇÃO E EXPERIÊNCIAS EXITOSAS COM RECURSO GENÉTICOS VEGETAIS NO CERRADO, CAATINGA E PAMPA**, [s. l.], 2009.
- BARCELLOS, Fernando Gomes et al. Evidence of horizontal transfer of symbiotic genes from a *Bradyrhizobium japonicum* inoculant strain to indigenous diazotrophs *Sinorhizobium* (*Ensifer*) *fredii* and *Bradyrhizobium elkanii* in a Brazilian savannah soil. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 73, n. 8, p. 2635–2643, 2007.
- BENEDUZI, Anelise et al. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, [s. l.], v. 63, p. 94–104, 2013.
- BEUKES, Chrizelle W. et al. *Crotalariaeae* and *Genisteae* of the South African Great Escarpment are nodulated by novel *Bradyrhizobium* species with unique and diverse symbiotic loci. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 100, p. 206–218, 2016. a. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790316300458>>
- BEUKES, Chrizelle W. et al. *Crotalariaeae* and *Genisteae* of the South African Great Escarpment are nodulated by novel *Bradyrhizobium* species with unique and diverse symbiotic loci. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 100, p. 206–218, 2016. b. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790316300458>>. Acesso em: 12 abr. 2018.
- BHATTACHARJEE, Rumpa Biswas; SINGH, Aqbal; MUKHOPADHYAY, S. N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospects and challenges.

- Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 199–209, 2008.
- BOLDRINI, Ilsi. **Campos do Rio Grande do Sul: caracterização fisionômica e problemática ocupacional**. 56. ed. Porto Alegre: B. Inst. Bioc./UFRGS, 1997. Disponível em: <al/oclc/77551059?referer=di&ht=edition>
- BOURNAUD, Caroline et al. Burkholderia Species Are the Most Common and Preferred Nodulating Symbionts of the Piptadenia Group (Tribe Mimoseae). **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 5, 2013.
- BRADY, Nyle C. **The nature and properties of soils**. Ninth ed. New York, USA: Macmillan Publishing Company, 1984.
- CHEN, W. M. et al. Beta-Rhizobia from Mimosoza pigra, a newly discovered invasive plant in Taiwan; **New Phytol**, [s. l.], p. 1–15, 2005.
- CRAWSHAW, Danielle et al. CARACTERIZAÇÃO DOS CAMPOS SUL-RIO-GRANDENSES: UMA PERSPECTIVA DA ECOLOGIA DA PAISAGEM. [s. l.], p. 233–252, 2007. Disponível em: <http://files.agb-portoalegre.webnode.com.br/200000057-a7a38a89db/33_art_04.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2018.
- CREWS, Timothy E.; PEOPLES, Mark B. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A review. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 101–120, 2005.
- DIETZ, Robert S.; HOLDEN, John C. Reconstruction of Pangaea: Breakup and dispersion of continents, Permian to Present. **Journal of Geophysical Research**, [s. l.], v. 75, n. 26, p. 4939, 1970.
- DIXON, Ray A. The genetic Complexity of Nitrogen Fixation. **Journal of bone & joint surgery**, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 709–718, 1984.
- DIXON, Ray; KAHN, Daniel. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 8, p. 621–631, 2004.
- DO NASCIMENTO, Paulo C. et al. Uso da terra e atributos de solos do estado do Rio Grande do Sul. [s. l.], p. 920–926, 2014.
- FAROOQ, Faisal T.; VESSEY, J. Kevin. Genetic diversity of Bradyrhizobium japonicum within soybean growing regions of the north-eastern Great Plains of North America as determined by REP-PCR and ERIC-PCR profiling. **Symbiosis**, [s. l.], v. 48, n. 1–3, p. 131–142, 2009.
- FILIPE, Fernandes de Sousa et al. Legumes as green manure for common bean cultivated in two growing seasons at southeast Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 11, n. 49, p. 4953–4958, 2016. Disponível em: <<http://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/72907A362021>>. Acesso em: 12 mar. 2018.
- FLORA DO BRASIL 2020. **Flora do Brasil 2020**. 2016. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 11 mar. 2018.
- FREIBERG, Christoph et al. Molecular Basis of symbiosis between Rhizobium and legumes. **Nature**, [s. l.], v. 387, n. 394–401, 1997.
- GALLI-TERASAWA, L. V.; GLIENKE-BLANCO, C.; HUNGRIA, M. Diversity of a soybean rhizobial population adapted to a Cerrados soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 19, n. 9, p. 933–939, 2003.

GRANADA, Camille E. et al. Multilocus sequence analysis reveals taxonomic differences among Bradyrhizobium sp. symbionts of Lupinus albescens plants growing in arenized and non-arenized areas. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 38, n. 5, p. 323–329, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.009>>

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 395–412, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071704003608>>. Acesso em: 12 abr. 2018.

GRESSHOFF, Peter M. Post-genomic insights into plant nodulation symbioses. **Genome Biology**, [s. l.], v. 4, n. 1, 2003.

GU, Chun Tao et al. Diversity and geographical distribution of rhizobia associated with Lespedeza spp. in temperate and subtropical regions of China. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 188, n. 4, p. 355–365, 2007.

HALL, Thomas A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, [s. l.], v. 41, p. 95–98, 1999. Disponível em: <<http://brownlab.mbio.ncsu.edu/JWB/papers/1999Hall1.pdf>>. Acesso em: 27 abr. 2018.

HASENACK, Heinrich et al. **Mapa de sistemas ecológicos da ecorregião das savanas uruguaias. Centro de Ecologia UFRGS e TNC**. Porto Alegre. Disponível em: <http://www.ecologia.ufrgs.br/labgeo/arquivos/downloads/dados/Mapeamento_bioma_pampa/Relatorio_bioma_Pampa.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2018.

HUNGRIA M., MENDES I. C., Mercante F. M. **A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e da soja**. Londrina Embrapa Soja, , 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/964424/a-fixacao-biologica-do-nitrogenio-como-tecnologia-de-baixa-emissao-de-carbono-para-as-culturas-do-feijoeiro-e-da-soja>>

HUNGRIA, Mariangela et al. Genetic diversity of indigenous tropical fast-growing rhizobia isolated from soybean nodules. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 288, n. 1–2, p. 343–356, 2006.

IGANCI, João R. V et al. Campos de Cima da Serra: The Brazilian Subtropical Highland Grasslands show an unexpected level of plant endemism. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 167, n. 4, p. 378–393, 2011.

IRSHAD, Saba et al. Molecular characterization of Desmodium species - An important ingredient of “Dashmoola” by RAPD analysis. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 115–118, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2008.11.004>>

K, Allen O. N; .. Allen Ethel. **The Leguminosae: A Source Book of Characteristics, Uses and Nodulation**, 1981.

KANEKO, Takakazu et al. Complete genomic sequence of nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. **DNA Research**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 189–97, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12597275>>

KANEKO, Takakazu et al. Complete genome sequence of the soybean symbiont bradyrhizobium japonicum strain USDA6 T. **Genes**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 763–787, 2011.

- KERMAH, M. et al. N₂ -fixation and N contribution by grain legumes under different soil fertility status and cropping systems in the Guinea savanna of northern Ghana. [s. l.], 2017. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0167880917303857/1-s2.0-S0167880917303857-main.pdf?_tid=f9d7ca95-92d4-4dde-a6de-ae607e5cc9d6&acdnat=1520818843_6bf0cb4acd348f45f36aacc5b8279473>. Acesso em: 11 mar. 2018.
- KOPPELL, Jonathan H.; PARKER, Matthew A. Phylogenetic clustering of Bradyrhizobium symbionts on legumes indigenous to North America. **Microbiology (United Kingdom)**, [s. l.], v. 158, n. 8, p. 2050–2059, 2012.
- LOH, John et al. Nodulation Gene Regulation in. **Society**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 10–17, 2003.
- LU SHI CHEN et al. Genetic characterization of soybean rhizobia in Paraguay. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 11, p. 5099–5103, 2000.
- MCLENNAN, S. M. et al. Elemental Geochemistry of Sedimentary Rocks at Yellowknife Bay, Gale Crater, Mars. **Science**, [s. l.], v. 343, n. 6169, p. 1244734–1244734, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1244734>>
- MENNA, Pâmela; BARCELLOS, Fernando Gomes; HUNGRIA, Mariangela. Phylogeny and taxonomy of a diverse collection of Bradyrhizobium strains based on multilocus sequence analysis of the 16S rRNA gene, ITS region and glnII, recA, atpD and dnaK genes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [s. l.], v. 59, n. 12, p. 2934–2950, 2009.
- MYLONA, Panagiota; PAWLOWSKI, Katarina; BISSELING, Ton. Symbiotic Nitrogen Fixation. **The Plant Cell**, [s. l.], v. 7, n. July, p. 869–885, 1995. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119991311.ch3/summary>>
- NEWTON, WE. Nitrogen fixation in perspective. In: FO PEDROSA , M HUNGRIA, MG YATES, WE; NEWTON (Eds.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 3–8.
- NIELSEN, Kaare M.; B??HN, Thomas; TOWNSEND, Jeffrey P. Detecting rare gene transfer events in bacterial populations. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 4, n. JAN, p. 1–12, 2013.
- NOISANGIAM, Rujirek et al. Heavy metal tolerant Metalliresistens boonkerdii gen. nov., sp. nov., a new genus in the family Bradyrhizobiaceae isolated from soil in Thailand. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 374–382, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2010.06.002>>
- OHASHI, H. Desmodieae Tribe. In: LEWIS, G., SCHRIRE, B., MACKINDER, B., LOCK, M. (Ed.). **World, Legumes of the Royal**, . Kew: Botanic Gardens, 2005. p. 433–453.
- OKAMURA, Keiko; TAKATA, Koji; HIRAISHI, Akira. Intrageneric relationships of members of the genus Rhodopseudomonas. **The Journal of general and applied microbiology**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 469–478, 2009.
- OKAZAKI, Shin et al. Genome analysis of a novel bradyrhizobium sp. doa9 carrying a symbiotic plasmid. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 1–18, 2015.
- OLIVEIRA, M. Estudo taxonômico do gênero Desmodium (Leguminosae, Papilionoideae,

- Desmodieae). **Iheringia Série Botânica**, [s. l.], v. 31, p. 37–104, 1983.
- PARKER, M. A. Bradyrhizobia from Wild Phaseolus, Desmodium, and Macroptilium Species in Northern Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 68, n. 4, p. 2044–2048, 2002. Disponível em: <<http://aem.asm.org/cgi/content/long/68/4/2044>>. Acesso em: 12 jul. 2016.
- PARKER, Matthew A. Relationships of bradyrhizobia from the legumes *Apios americana* and *Desmodium glutinosum*. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 65, n. 11, p. 4914–4920, 1999.
- PARKER, Matthew A. Legumes select symbiosis island sequence variants in *Bradyrhizobium*. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 1769–1778, 2012.
- PARKER, Matthew A. The Spread of *Bradyrhizobium* Lineages Across Host Legume Clades: from *Abarema* to *Zygia*. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 630–640, 2015.
- PILLAR, Valério de Patta et al. **Campos Sulinos**. Brasília: MMA, 2009.
- PILLAR, Valério de Patta; LANGE, Omara. **Os Campos do Sul**. Porto Alegre: Rede Campos Sulinos- UFRGS, 2015.
- RIVAS, Raul et al. Multilocus sequence analysis of the genus *Bradyrhizobium*. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 101–110, 2009.
- SANT'ANNA, Fernando H. et al. Reclassification of *Paenibacillus riograndensis* as a Genomovar of *Paenibacillus sonchi*: Genome-Based Metrics Improve Bacterial Taxonomic Classification. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, p. 1849, 2017. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01849/full>>. Acesso em: 27 abr. 2018.
- SARMIENTO, Guillermo. The Dry Plant Formations of South America and Their Floristic Connections. **Journal of Biogeography**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 233, 1975. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/3037998?origin=crossref>>. Acesso em: 24 mar. 2018.
- SOMASEGARAM, P., HOBEN, M. J. Methods in legume-rhizobium technology. 1985. **NIFTAL, Hawaii.**, [s. l.], p. 367, [s.d.].
- SPARKS, Donald. Methods of soil analysis: chemical methods. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. SSSA Book, 1996.
- STEENKAMP, Emma T. et al. Cowpea and peanut in southern Africa are nodulated by diverse *Bradyrhizobium* strains harboring nodulation genes that belong to the large pantropical clade common in Africa. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 1131–1144, 2008.
- STEPKOWSKI, T. et al. European Origin of *Bradyrhizobium* Populations Infecting Lupins and *Serradella* in Soils of Western Australia and South Africa. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 71, n. 11, p. 7041–7052, 2005. Disponível em: <<http://aem.asm.org/cgi/doi/10.1128/AEM.71.11.7041-7052.2005>>. Acesso em: 27 abr. 2018.
- STEPKOWSKI, Tomasz et al. *Bradyrhizobium canariense* and *Bradyrhizobium japonicum* are the two dominant rhizobium species in root nodules of lupin and *serradella* plants growing in Europe. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 368–375, 2011.
- STEPKOWSKI, Tomasz et al. Distinct *Bradyrhizobium* communities nodulate legumes

native to temperate and tropical monsoon Australia. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 63, n. 2, p. 265–277, 2012.

STĘPKOWSKI, Tomasz et al. Diversification of lupine Bradyrhizobium strains: Evidence from nodulation gene trees. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 73, n. 10, p. 3254–3264, 2007.

SYVANEN, Michael. Evolutionary implications of horizontal gene transfer. **Annual review of genetics**, [s. l.], v. 46, p. 341–58, 2012. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org.proxy.library.cornell.edu/doi/full/10.1146/annurev-genet-110711-155529>>

TEAMTISONG, Kamonluck et al. Divergent Nod-Containing Bradyrhizobium sp. DOA9 with a Megaplasmid and its Host Range. **Microbes and Environments**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 370–376, 2014. Disponível em: <<http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/jsme2/ME14065?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>>

TIAN, Chang Fu et al. Genetic diversity of rhizobia associated with Vicia faba in three ecological regions of China. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 188, n. 3, p. 273–282, 2007.

VERDUM, R. Approche géographique des “déserts” dans les communes de São Francisco de Assis et Manuel Viana, Etat du Rio Grande do Sul, Brésil. [s. l.], p. 221, 1997. Disponível em: <<http://www.ehess.fr/crbc/cbc-thes/geo.html#1985>>

VINCENT, J. M. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. **A manual for the practical study of the root-nodule bacteria.**, [s. l.], 1970. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19710700726>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

WULFF, Renata D. Seed Size Variation in Desmodium Paniculatum: II . Effects on Seedling Growth and Physiological Performance Author (s): Renata D . Wulff Published by: British Ecological Society Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/2260351> REFERENCES Linked refere. [s. l.], v. 74, n. 1, p. 99–114, 2018.

XU, Kai Wei et al. Polyphasic characterization of rhizobia isolated from Leucaena leucocephala from Panxi, China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 29, n. 12, p. 2303–2315, 2013.

XU, Kai Wei et al. Diversity and phylogeny of rhizobia associated with Desmodium spp. in Panxi, Sichuan, China. **Systematic and Applied Microbiology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 33–40, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2015.10.005>>

XU, Lin et al. Phylogenetic diversity on housekeeping and symbiotic genes of rhizobial from Sphaerophysa in China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 31, n. 9, p. 1451–1459, 2015.

ZHANG, Wei Tao et al. Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [Vigna unguiculata (L.) Walp.]. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 201–210, 2007.

Tabela suplementar 1: Locais de coleta e suas características, plantas hospedeiras e identificação aproximada do isolado bacteriano correspondente.

Cidade	Código	Local de coleta	Tipo de Solo	Planta Hospedeira	Isolado	Identificação (housekeeping genes)*	Argila (%)	OM (%)	P (ppm)	K (ppm)	Al (cmolc/dm ³)	pH	CEC pH 7	Ca (cmol/dm ³)	Mg (cmolc/dm ³)	V (%)
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Arachis burkartii</i>	A3.2	<i>B.¹ embrapense</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Arachis burkartii</i>	A3.3	<i>B. embrapense</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Arachis burkartii</i>	A3.4	<i>B. embrapense</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A1.4	<i>B. elkanii</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A1.5	<i>B. elkanii</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	1	Neossolo litólico	<i>Vigna peduncularis</i>	A2.2	<i>B. diazoefficiens</i>	8	1,7	17,8	149	0,1	5,4	6,6	3,5	0,7	70,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A5.5	<i>B. iriomotense</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A5.6	<i>B. iriomotense</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	A6.3	<i>A.² doebereineriae</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	A6.4	<i>A. doebereineriae</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	A6.5	<i>A. doebereineriae</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Trifolium sp.1</i>	A4.1	<i>B. yuanmingense</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Trifolium sp.1</i>	A4.2	<i>B. yuanmingense</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	2	Neossolo litólico	<i>Trifolium sp.1</i>	A4.3	<i>B. viridifuturi</i>	14	2,2	1,5	76	0,4	5,1	12,3	4,2	2,4	55,5
Bagé	A	4	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A9.1	<i>B. canariense</i>	14	3,7	1,5	99	0,2	5,3	15,1	6,2	1,7	54,4
Bagé	A	4	Neossolo litólico	<i>Mimosa sp.1</i>	A10.1	<i>B. phymatum³</i>	14	3,7	1,5	99	0,2	5,3	15,1	6,2	1,7	54,4
Bagé	A	4	Neossolo litólico	<i>Mimosa sp.1</i>	A10.2	<i>B. phymatum</i>	14	3,7	1,5	99	0,2	5,3	15,1	6,2	1,7	54,4
Bagé	A	4	Neossolo litólico	<i>Trifolium sp.1</i>	A11.1	<i>B. viridifuturi</i>	14	3,7	1,5	99	0,2	5,3	15,1	6,2	1,7	54,4
Bagé	A	4	Neossolo litólico	<i>Trifolium sp.1</i>	A11.2	<i>B. viridifuturi</i>	14	3,7	1,5	99	0,2	5,3	15,1	6,2	1,7	54,4
Bagé	A	5	Neossolo litólico	<i>Rhynchosia sp.1</i>	A12.1	<i>B. japonicum</i>	15	2	57,1	74	0,1	5,9	14,7	8,2	2,3	73,5
Bagé	A	5	Neossolo litólico	<i>Rhynchosia sp.1</i>	A12.2	<i>B. japonicum</i>	15	2	57,1	74	0,1	5,9	14,7	8,2	2,3	73,5
Bagé	A	5	Neossolo litólico	<i>Rhynchosia sp.1</i>	A12.3	<i>B. japonicum</i>	15	2	57,1	74	0,1	5,9	14,7	8,2	2,3	73,5
Bagé	A	5	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A13.1	<i>R.⁴ leguminosarum</i>	15	2	57,1	74	0,1	5,9	14,7	8,2	2,3	73,5
Bagé	A	5	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A13.2	<i>R. leguminosarum</i>	15	2	57,1	74	0,1	5,9	14,7	8,2	2,3	73,5
Bagé	A	6	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A15.1	<i>R. leguminosarum</i>	15	2,7	203	155	0,2	5,3	19,6	9,2	4,4	72
Bagé	A	6	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A15.2	<i>R. leguminosarum</i>	15	2,7	203	155	0,2	5,3	19,6	9,2	4,4	72

Bagé	A	6	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A15.6	<i>R. leguminosarum</i>	15	2,7	203	155	0,2	5,3	19,6	9,2	4,4	72
Santana da Boa Vista	A	7	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A17.3	<i>B. elkanii</i>	19	1,3	1,5	87	4,5	5	17,3	1	0,6	10,7
Santana da Boa Vista	A	7	Neossolo litólico	<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	A16.2	<i>B. japonicum</i>	19	1,3	1,5	87	4,5	5	17,3	1	0,6	10,7
Santana da Boa Vista	A	8	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A19.1	<i>B. yuanmingense</i>	14	2,2	1,5	344	1	4,8	9,9	2,3	0,5	37,9
Santana da Boa Vista	A	8	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A19.2	<i>B. yuanmingense</i>	14	2,2	1,5	344	1	4,8	9,9	2,3	0,5	37,9
Santana da Boa Vista	A	8	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A19.3	<i>B. viridifuturi</i>	14	2,2	1,5	344	1	4,8	9,9	2,3	0,5	37,9
Santana da Boa Vista	A	9	Nitossolo/Chernossolo	<i>Arachis burkartii</i>	A20.1	<i>B. japonicum</i>	20	2,9	1,5	97	0,4	5,3	13,7	3,6	2,8	49,6
Santana da Boa Vista	A	9	Nitossolo/Chernossolo	<i>Arachis burkartii</i>	A20.2	<i>B. japonicum</i>	20	2,9	1,5	97	0,4	5,3	13,7	3,6	2,8	49,6
Santana da Boa Vista	A	9	Nitossolo/Chernossolo	<i>Arachis burkartii</i>	A20.3	<i>B. japonicum</i>	20	2,9	1,5	97	0,4	5,3	13,7	3,6	2,8	49,6
Santana da Boa Vista	A	9	Nitossolo/Chernossolo	<i>Desmodium incanum</i>	A21.1	<i>B. elkanii</i>	20	2,9	1,5	97	0,4	5,3	13,7	3,6	2,8	49,6
Santana da Boa Vista	A	9	Nitossolo/Chernossolo	<i>Desmodium incanum</i>	A21.4	<i>B. yuanmingense</i>	20	2,9	1,5	97	0,4	5,3	13,7	3,6	2,8	49,6
Santana da Boa Vista	A	10	Neossolo quartzarênico	<i>Arachis burkartii</i>	A24.1	<i>B. elkanii</i>	6	0,7	1,5	26	0,9	4,8	3,9	0,5	0,2	20,8
Santana da Boa Vista	A	10	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium incanum</i>	A23.5	<i>B. elkanii</i>	6	0,7	1,5	26	0,9	4,8	3,9	0,5	0,2	20,8
Santana da Boa Vista	A	10	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium incanum</i>	A23.6	<i>B. elkanii</i>	6	0,7	1,5	26	0,9	4,8	3,9	0,5	0,2	20,8
Santana da Boa Vista	A	10	Neossolo quartzarênico	<i>Mimosa</i> sp.2	A22.1	<i>B. phymatum</i>	6	0,7	1,5	26	0,9	4,8	3,9	0,5	0,2	20,8
Santana da Boa Vista	A	10	Neossolo quartzarênico	<i>Mimosa</i> sp.2	A22.2	<i>B. phymatum</i>	6	0,7	1,5	26	0,9	4,8	3,9	0,5	0,2	20,8
Santana da Boa Vista	A	11	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium incanum</i>	A26.1	<i>B. elkanii</i>	10	0,3	31,4	48	0	6,5	5,8	3,6	0,5	73,4
Santana da Boa Vista	A	11	Neossolo quartzarênico	<i>Sesbania virgata</i>	A25.1	<i>R. tropici</i>	10	0,3	31,4	48	0	6,5	5,8	3,6	0,5	73,4
Santana da Boa Vista	A	11	Neossolo quartzarênico	<i>Sesbania virgata</i>	A25.3	<i>R. tropici</i>	10	0,3	31,4	48	0	6,5	5,8	3,6	0,5	73,4
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium affine</i>	A30.2	<i>B. jicamae</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium incanum</i>	A28.5	<i>B. elkanii</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Desmodium incanum</i>	A28.6	<i>B. elkanii</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Mimosa</i> sp.2	A27.1	<i>B. mimosarum</i> ⁵	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Mimosa</i> sp.2	A27.2	<i>B. mimosarum</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A33.1	<i>B. elkanii</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	12	Neossolo quartzarênico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A33.2	<i>B. elkanii</i>	8	1,6	88,6	74	0,1	5,7	6,5	3,3	0,5	62
Santana da Boa Vista	A	13	Neossolo quartzarênico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A37.1	<i>B. elkanii</i>	10	1,6	1,5	73	0,2	5,1	6,6	2,3	0,6	47,5
Santana da Boa Vista	A	13	Neossolo quartzarênico	<i>Trifolium polymorphum</i>	A37.3	<i>B. elkanii</i>	10	1,6	1,5	73	0,2	5,1	6,6	2,3	0,6	47,5
Santana da Boa Vista	A	14	Cambissolo	<i>Desmodium affine</i>	A40.1	<i>B. elkanii</i>	14	1,8	1,5	82	0,2	5,6	8,9	3	0,7	44,7
Santana da Boa Vista	A	14	Cambissolo	<i>Desmodium affine</i>	A40.2	<i>B. elkanii</i>	14	1,8	1,5	82	0,2	5,6	8,9	3	0,7	44,7

Santana da Boa Vista	A	14	Cambissolo	<i>Desmodium affine</i>	A40.3	<i>B. elkanii</i>	14	1,8	1,5	82	0,2	5,6	8,9	3	0,7	44,7
Santana da Boa Vista	A	14	Cambissolo	<i>Desmodium incanum</i>	A39.5	<i>B. embrapense</i>	14	1,8	1,5	82	0,2	5,6	8,9	3	0,7	44,7
Encruzilhada do Sul	A	15	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A43.5	<i>B. elkanii</i>	21	1,8	1,5	191	0,5	5,2	11	3,3	1,7	50,2
Encruzilhada do Sul	A	15	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A43.6	<i>B. elkanii</i>	21	1,8	1,5	191	0,5	5,2	11	3,3	1,7	50,2
Encruzilhada do Sul	A	15	Neossolo litólico	<i>Mimosa</i> sp.3	A41.1	<i>B. mimosarum</i>	21	1,8	1,5	191	0,5	5,2	11	3,3	1,7	50,2
Encruzilhada do Sul	A	15	Neossolo litólico	<i>Mimosa</i> sp.3	A41.3	<i>B. mimosarum</i>	21	1,8	1,5	191	0,5	5,2	11	3,3	1,7	50,2
Encruzilhada do Sul	A	16	Neossolo litólico	<i>Chamaecrista nictitans</i>	A46.1	<i>R. leguminosarum</i>	27	0,5	23,8	96	0,5	5,6	11,5	3,6	3,2	61,9
Encruzilhada do Sul	A	16	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A45.4	<i>B. viridifuturi</i>	27	0,5	23,8	96	0,5	5,6	11,5	3,6	3,2	61,9
Encruzilhada do Sul	A	16	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	A45.5	<i>B. elkanii</i>	27	0,5	23,8	96	0,5	5,6	11,5	3,6	3,2	61,9
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Arachis burkartii</i>	B3.1	<i>B. daqingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Arachis burkartii</i>	B3.2	<i>B. daqingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Arachis burkartii</i>	B3.3	<i>B. daqingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium affine</i>	B9.1	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B2.1	<i>B. tropiciagri</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B2.2	<i>B. viridifuturi</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B2.3	<i>B. viridifuturi</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Eriosema</i> sp.1	B5.1	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Eriosema</i> sp.1	B5.2	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	B4.1	<i>A. caulinodans</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	B4.2	<i>A. caulinodans</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Rhynchosia diversifolia</i>	B6.1	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Rhynchosia diversifolia</i>	B6.2	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Sesbania punicea</i>	B7.2	<i>B. yuanmingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Sesbania punicea</i>	B7.3	<i>B. yuanmingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B1.1	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B1.2	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B1.3	<i>B. elkanii</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	B8.1	<i>B. yuanmingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	B8.2	<i>B. yuanmingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8
Livramento	B	1	Argissolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	B8.3	<i>B. yuanmingense</i>	10	2,3	9,7	93	0,5	4,4	6,9	1,3	1	36,8

Livramento	B	2	Argissolo Vermelho	<i>Adesmia incana</i>	B11.2	<i>B. elkanii</i>	10	1,8	11,4	65	0,3	4,6	4	0,8	0,6	39
Livramento	B	2	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B10.2	<i>B. elkanii</i>	10	1,8	11,4	65	0,3	4,6	4	0,8	0,6	39
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B11.3	<i>B. elkanii</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Arachis burkartii</i>	B15.1	<i>B. japonicum</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B12.1	<i>B. viridifuturi</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B12.2	<i>B. viridifuturi</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	B14.2	<i>R. sp.</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	3	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	B14.3	<i>R. sp.</i>	10	2,6	28,1	252	0,2	4,9	24,7	14,3	5,8	84,2
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B18.1	<i>B. elkanii</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B18.2	<i>B. elkanii</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B19.1	<i>B. japonicum</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Arachis burkartii</i>	B15.2	<i>B. japonicum</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B16.1	<i>B. viridifuturi</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B16.3	<i>B. viridifuturi</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B17.1	<i>R. trifolii</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	4	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B17.2	<i>R. trifolii</i>	26	1,9	3,9	129	0,3	4,8	28,1	15,8	5,7	78,1
Livramento	B	5	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B19.2	<i>B. japonicum</i>	21	2,3	3,9	192	0,1	5,4	31,7	17,3	8,3	82,7
Livramento	B	5	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B20.3	<i>B. viridifuturi</i>	21	2,3	3,9	192	0,1	5,4	31,7	17,3	8,3	82,7
Livramento	B	5	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B22.1	<i>B. liaoningense</i>	21	2,3	3,9	192	0,1	5,4	31,7	17,3	8,3	82,7
Livramento	B	5	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B21.2	<i>B. japonicum</i>	21	2,3	3,9	192	0,1	5,4	31,7	17,3	8,3	82,7
Livramento	B	5	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B21.3	<i>B. japonicum</i>	21	2,3	3,9	192	0,1	5,4	31,7	17,3	8,3	82,7
Livramento	B	6	Chernossolo Argilúvico	<i>Adesmia incana</i>	B24.2	<i>B. elkanii</i>	14	1,4	13,2	134	0	5,9	32	18,1	10,3	90,4
Livramento	B	6	Chernossolo Argilúvico	<i>Lupinus bracteolaris</i>	B25.1	<i>B. yuanmingense</i>	14	1,4	13,2	134	0	5,9	32	18,1	10,3	90,4
Livramento	B	6	Chernossolo Argilúvico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B23.2	<i>B. japonicum</i>	14	1,4	13,2	134	0	5,9	32	18,1	10,3	90,4
Livramento	B	6	Chernossolo Argilúvico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B23.3	<i>B. japonicum</i>	14	1,4	13,2	134	0	5,9	32	18,1	10,3	90,4
Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Arachis burkartii</i>	B28.1	<i>B. daqingense</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7
Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Arachis burkartii</i>	B28.2	<i>B. daqingense</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7
Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B27.1	<i>B. japonicum</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7
Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B27.2	<i>B. japonicum</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7
Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Lupinus bracteolaris</i>	B25.2	<i>B. yuanmingense</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7

Livramento	B	7	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B26.1	<i>B. elkanii</i>	13	5,1	4,7	204	0,2	5,5	5,9	2,2	1,6	73,7
Livramento	B	8	Argissolo Vermelho	<i>Adesmia incana</i>	B31.2	<i>B. japonicum</i>	5	1,9	2,3	97	0,1	4,8	6,1	2,3	1,1	59,8
Livramento	B	8	Argissolo Vermelho	<i>Adesmia incana</i>	B31.3	<i>B. japonicum</i>	5	1,9	2,3	97	0,1	4,8	6,1	2,3	1,1	59,8
Livramento	B	9	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B32.2	<i>B. yuanmingense</i>	5	1,9	2,3	97	0,1	4,8	6,1	2,3	1,1	59,8
Livramento	B	9	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B34.2	<i>B. elkanii</i>	16	2,6	3,1	129	1	4,5	18,3	2,9	1,2	24,7
Livramento	B	9	Argissolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	B34.3	<i>B. elkanii</i>	16	2,6	3,1	129	1	4,5	18,3	2,9	1,2	24,7
Livramento	B	9	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B33.3	<i>B. elkanii</i>	16	2,6	3,1	129	1	4,5	18,3	2,9	1,2	24,7
Livramento	B	9	Argissolo Vermelho	<i>Trifolium polymorphum</i>	B33.1	<i>R. trifolii</i>	16	2,6	3,1	129	1	4,5	18,3	2,9	1,2	24,7
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B39.1	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Adesmia incana</i>	B39.3	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Adesmia securifolia</i>	B36.1	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B38.2	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Desmodium incanum</i>	B38.3	<i>B. japonicum</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Latirus</i> sp. 1	B41.1	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Latirus</i> sp. 1	B41.2	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Latirus</i> sp. 1	B41.3	<i>B. elkanii</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	B42.1	<i>R. sp.</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Sesbania virgata</i>	B42.2	<i>R. sp.</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Trifolium repens</i>	B35.2	<i>B. japonicum</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Vicea graminea</i>	B40.2	<i>R. leguminosarum</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Vicea graminea</i>	B40.3	<i>R. leguminosarum</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Livramento	B	10	Neossolo litólico	<i>Vicea graminea</i>	B40.4	<i>R. leguminosarum</i>	19	2,7	45,2	139	0	5,8	22,6	12,2	4,5	75,8
Dom Pedrito	B	11	Chernossolo Argilúvico	<i>Desmodium incanum</i>	B45.2	<i>B. japonicum</i>	18	2,2	36,2	324	0,5	5,1	34,8	27	5,4	95,6
Dom Pedrito	B	11	Chernossolo Argilúvico	<i>Vigna peduncularis</i>	B48.3	<i>B. brasiliense</i>	18	2,2	36,2	324	0,5	5,1	34,8	27	5,4	95,6
Bagé	B	12	Luvissolo	<i>Desmodium incanum</i>	B50.1	<i>B. japonicum</i>	13	1,9	77,3	81	0	5,4	3,5	10	6,7	83
Bagé	B	12	Luvissolo	<i>Desmodium incanum</i>	B50.2	<i>B. japonicum</i>	13	1,9	77,3	81	0	5,4	3,5	10	6,7	83
Bagé	B	12	Luvissolo	<i>Desmodium incanum</i>	B50.3	<i>B. japonicum</i>	13	1,9	77,3	81	0	5,4	3,5	10	6,7	83
Bagé	B	14	Vertissolo	<i>Adesmia</i> sp.1	B59.1	<i>A. caulinodans</i>	36	2,8	8	73	0	6,6	29,2	19,2	7,5	93,3
Bagé	B	14	Vertissolo	<i>Trifolium polymorphum</i>	B55.1	<i>B. japonicum</i>	36	2,8	8	73	0	6,6	29,2	19,2	7,5	93,3
Bagé	B	15	Vertissolo	<i>Adesmia</i> sp.1	B59.2	<i>A. caulinodans</i>	9	1,7	159,6	40	0	6,1	28	17,4	8,6	93,8

Bagé	B	15	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B60.3	<i>B. japonicum</i>	9	1,7	159,6	40	0	6,1	28	17,4	8,6	93,8
Bagé	B	15	Neossolo litólico	<i>Trifolium polymorphum</i>	B62.1	<i>B. japonicum</i>	9	1,7	159,6	40	0	6,1	28	17,4	8,6	93,8
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C5.1	<i>MezoR. sp.</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C5.2	<i>MezoR. sp.</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C5.3	<i>MezoR. sp.</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	C6.1	<i>B. elkanii</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	C6.2	<i>B. elkanii</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Lupinus sp.1</i>	C4.1	<i>B. yuanmingense</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Lupinus sp.1</i>	C4.2	<i>B. yuanmingense</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	2	Neossolo Litólico	<i>Lupinus sp.1</i>	C4.3	<i>B. yuanmingense</i>	42	4,9	2,3	78	4,1	4,4	22,4	1,8	0,9	13,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia latifolia</i>	C9.1	<i>R. sp.</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia latifolia</i>	C9.2	<i>R. sp.</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia latifolia</i>	C9.3	<i>R. sp.</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C8.1	<i>B. elkanii</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C8.2	<i>B. elkanii</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C8.3	<i>B. elkanii</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Lupinus sp.1</i>	C10.1	<i>B. elkanii</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Monte Alegre dos Campos	C	3	Neossolo Litólico	<i>Lupinus sp.1</i>	C10.3	<i>B. elkanii</i>	56	4,9	1,5	46	4,3	4,1	24,5	1,6	1	11,2
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C12.1	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C12.3	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Adesmia tristis</i>	C12.4	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium affine</i>	C13.1	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium affine</i>	C13.2	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium affine</i>	C13.3	<i>B. elkanii</i>	17	3	38,6	260	0,4	5	17,6	8	2,4	65,1
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Mimosa sp.1</i>	C16.2	<i>B. phymatum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Mimosa sp.1</i>	C16.3	<i>B. phymatum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea sp.1</i>	C14.1	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea sp.1</i>	C14.2	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea sp.1</i>	C14.3	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea sp.2</i>	C15.1	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2

Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea</i> sp.2	C15.2	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Bom Jesus	C	6	Neossolo Litólico	<i>Vicea</i> sp.2	C15.3	<i>R. leguminosarum</i>	12	6,4	58,7	131	0,2	4,8	17,9	9,4	2,3	69,2
Jaquirana	C	7	Cambissolo Húmico	<i>Mimosa</i> sp.3	C18.1	<i>B. mimosarum</i>	47	0,7	9,7	24	7,5	4,6	35,4	0,6	0,3	2,8
Jaquirana	C	7	Cambissolo Húmico	<i>Mimosa</i> sp.3	C18.2	<i>B. mimosarum</i>	47	0,7	9,7	24	7,5	4,6	35,4	0,6	0,3	2,8
Jaquirana	C	7	Cambissolo Húmico	<i>Mimosa</i> sp.3	C18.3	<i>B. mimosarum</i>	47	0,7	9,7	24	7,5	4,6	35,4	0,6	0,3	2,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Adesmia punctata</i>	C22.1	<i>B. elkanii</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Adesmia punctata</i>	C22.2	<i>B. elkanii</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa ramosissima</i>	C20.1	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa ramosissima</i>	C20.2	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa ramosissima</i>	C20.3	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.4	C21.1	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.4	C21.2	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	8	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.4	C21.3	<i>B. phymatum</i>	18	4,9	10,5	53	5,4	3,9	20,4	0,7	0,1	4,8
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Collaea stenophylla</i>	C26.1	<i>R. sp.</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Collaea stenophylla</i>	C26.3	<i>R. sp.</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Galactia marginalis</i>	C25.1	<i>R. sp.</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Galactia marginalis</i>	C25.2	<i>R. sp.</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Galactia marginalis</i>	C25.3	<i>R. sp.</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Lupinus reitzii</i>	C24.1	<i>B. iriomotense</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Lupinus reitzii</i>	C24.2	<i>B. iriomotense</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Lupinus reitzii</i>	C24.3	<i>B. iriomotense</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Trifolium riograndensis</i>	C23.1	<i>B. japonicum</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Cambará	C	9	Cambissolo	<i>Trifolium riograndensis</i>	C23.3	<i>B. japonicum</i>	19	4,6	1,5	63	3,5	4,4	22,7	2,3	0,8	14,7
Tainhas	C	10	Neossolo Litólico	<i>Crotalaria lanceolata</i>	C28.2	<i>R. sp.</i>	33	3,1	0,7	70	5,5	4,3	20	0,3	0,1	3,2
Tainhas	C	10	Neossolo Litólico	<i>Lupinus bracteolaris</i>	C27.1	<i>B. iriomotense</i>	33	3,1	0,7	70	5,5	4,3	20	0,3	0,1	3,2
Tainhas	C	10	Neossolo Litólico	<i>Lupinus bracteolaris</i>	C27.2	<i>B. iriomotense</i>	33	3,1	0,7	70	5,5	4,3	20	0,3	0,1	3,2
Aratinga	C	11	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	C31.1	<i>B. elkanii</i>	22	1,9	37,4	244	0	5,8	26	15,1	5,5	88,1
Aratinga	C	11	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	C31.2	<i>B. elkanii</i>	22	1,9	37,4	244	0	5,8	26	15,1	5,5	88,1
Aratinga	C	11	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	C29.1	<i>B. liaoningense</i>	22	1,9	37,4	244	0	5,8	26	15,1	5,5	88,1
Aratinga	C	11	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	C29.3	<i>B. liaoningense</i>	22	1,9	37,4	244	0	5,8	26	15,1	5,5	88,1

Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	C33.1	<i>B. elkanii</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	C33.2	<i>B. elkanii</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	C33.3	<i>B. elkanii</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Indigofera asperifolia</i>	C34.1	<i>R. sp.</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Indigofera asperifolia</i>	C34.2	<i>R. sp.</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Indigofera asperifolia</i>	C34.3	<i>R. sp.</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Rhynchosya sp.2</i>	C32.1	<i>B. japonicum</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Aratinga	C	12	Neossolo Litólico	<i>Rhynchosya sp.3</i>	C32.3	<i>B. japonicum</i>	25	1,3	13,2	236	0	5,9	22,5	13,2	5,2	90,3
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Adesmia sp.1</i>	D8.1	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Adesmia sp.1</i>	D8.2	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Adesmia sp.1</i>	D8.3	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D3.1	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D3.2	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D3.3	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Desmanthus irgatus</i>	D2.1	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Desmanthus irgatus</i>	D2.2	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Desmanthus irgatus</i>	D2.3	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Desmodium incanum</i>	D12.1	<i>B. yuanmingense</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Desmodium incanum</i>	D12.2	<i>B. yuanmingense</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Eriosema tacuareamboense</i>	D4.1	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Eriosema tacuareamboense</i>	D4.2	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Poiretia tetraphylla</i>	D7.2	<i>B. phymatum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Poiretia tetraphylla</i>	D7.3	<i>R. sp.</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D1.1	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D1.2	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D1.3	<i>R. leguminosarum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D5.1	<i>B. japonicum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D5.2	<i>B. japonicum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	D9.1	<i>B. japonicum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Stylosanthes montevidensis</i>	D10.2	<i>B. japonicum</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5

Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Vigna peduncularis</i>	D6.1	<i>B. brasilense</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Soledade	D	1	Cambissolo	<i>Vigna peduncularis</i>	D6.2	<i>B. brasilense</i>	48	4,4	3,1	97	1,5	5,3	18,4	3,2	2,7	33,5
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	D16.1	<i>B. japonicum</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	D16.3	<i>B. japonicum</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Lupinus reitzii</i>	D15.1	<i>B. iriomotense</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Lupinus reitzii</i>	D15.2	<i>B. iriomotense</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.3	D64.2	<i>B. liaoningense</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Cruz Alta	D	2	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.3	D64.3	<i>B. liaoningense</i>	35	2,2	3,9	42	1	4,7	12	2,1	1,1	27,7
Ijuí	D	3	Latossolo Vermelho	<i>Ateleia glazioviana</i>	D17.1	<i>R. sp.</i>	34	5,5	37,4	80	0	8,7	18,8	8,7	3,7	67,2
Ijuí	D	3	Latossolo Vermelho	<i>Ateleia glazioviana</i>	D17.2	<i>R. sp.</i>	34	5,5	37,4	80	0	8,7	18,8	8,7	3,7	67,2
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D19.1	<i>R. lupini</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D19.2	<i>R. lupini</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	D20.3	<i>B. elkanii</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	D21.2	<i>B. japonicum</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	D21.3	<i>B. japonicum</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D18.1	<i>R. leguminosarum</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
São Miguel das Missões	D	4	Neossolo Litólico	<i>Rhynchosia corylifolia</i>	D18.2	<i>R. leguminosarum</i>	17	2,6	222	137	0	5,3	34,8	20,3	10,6	90
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Adesmia</i> sp.2	D29.2	<i>R. leguminosarum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Adesmia</i> sp.2	D29.3	<i>R. leguminosarum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Aeschynomene falcata</i>	D27.1	<i>R. sp.</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Aeschynomene falcata</i>	D27.2	<i>R. sp.</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Aeschynomene</i> sp.1	D28.1	<i>R. sp.</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Aeschynomene</i> sp.1	D28.2	<i>R. sp.</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D25.1	<i>R. leguminosarum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D25.2	<i>R. leguminosarum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium adscendens</i>	D26.1	<i>B. elkanii</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	D23.2	<i>B. japonicum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Desmodium incanum</i>	D23.3	<i>B. japonicum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Indigofera suffruticosa</i>	D22.1	<i>R. indigofera</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2
Santo Antônio das Missões	D	5	Neossolo Litólico	<i>Macroptilium heterophyllum</i>	D24.2	<i>B. japonicum</i>	28	2,6	33,8	170	0	5,2	18,3	9	4,5	76,2

Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Arachis</i> sp.1	D30.1	<i>B. elkanii</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Arachis</i> sp.2	D30.2	<i>B. elkanii</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Arachis</i> sp.2	D30.3	<i>B. elkanii</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Senna</i> sp.1	D31.2	<i>B. japonicum</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Senna</i> sp.1	D31.3	<i>B. japonicum</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Senna</i> sp.2	D33.2	<i>B. japonicum</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
Itaroquém	D	6	Neossolo Litólico	<i>Senna</i> sp.2	D33.3	<i>B. japonicum</i>	37	1,8	4,7	33	0	5,3	16,8	7	4,8	70,9
São Borja	D	7	Nitossolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D34.1	<i>R. sp.</i>	28	2	11,4	96	0,1	5,3	13,4	6,3	3,4	74,2
São Borja	D	7	Nitossolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D34.2	<i>R. sp.</i>	28	2	11,4	96	0,1	5,3	13,4	6,3	3,4	74,2
São Borja	D	7	Nitossolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D34.3	<i>R. sp.</i>	28	2	11,4	96	0,1	5,3	13,4	6,3	3,4	74,2
São Borja	D	7	Nitossolo	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D35.1	<i>R. leguminosarum</i>	28	2	11,4	96	0,1	5,3	13,4	6,3	3,4	74,2
São Borja	D	7	Nitossolo	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D35.2	<i>R. leguminosarum</i>	28	2	11,4	96	0,1	5,3	13,4	6,3	3,4	74,2
Uruguaina	D	9	Gleissolo	<i>Aeschynomene rudis</i>	D39.1	<i>R. sp.</i>	27	0,8	1,5	16	0,4	5,9	4,6	4,6	1,5	69,8
Uruguaina	D	9	Gleissolo	<i>Aeschynomene rudis</i>	D39.3	<i>R. sp.</i>	27	0,8	1,5	16	0,4	5,9	4,6	4,6	1,5	69,8
Uruguaina	D	9	Gleissolo	<i>Desmodium adscendens</i>	D40.2	<i>B. elkanii</i>	27	0,8	1,5	16	0,4	5,9	4,6	4,6	1,5	69,8
Uruguaina	D	9	Gleissolo	<i>Desmodium adscendens</i>	D40.3	<i>B. elkanii</i>	27	0,8	1,5	16	0,4	5,9	4,6	4,6	1,5	69,8
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D41.1	<i>R. sp.</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D41.2	<i>R. sp.</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D41.3	<i>R. sp.</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Macroptilium heterophyllum</i>	D42.1	<i>B. japonicum</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Macroptilium heterophyllum</i>	D42.2	<i>B. japonicum</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.3	D44.1	<i>B. mimosarum</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.3	D44.2	<i>B. mimosarum</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Uruguaina	D	10	Neossolo Litólico	<i>Mimosa</i> sp.3	D44.3	<i>B. mimosarum</i>	32	3,5	7,1	123	0	5,9	33,9	24,2	7,2	94,9
Alegrete	D	11	Neossolo Litólico	<i>Aeschynomene sensitiva</i>	D45.2	<i>R. sp.</i>	20	5,1	3,1	106	0	5,3	24,6	12,5	7,3	82,2
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene</i> sp.2	D46.1	<i>R. sp.</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene</i> sp.2	D46.2	<i>R. sp.</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Desmodium incanum</i>	D48.3	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes montevidensis</i>	D49.1	<i>B. stylosanthis</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes</i>	D49.3	<i>B. stylosanthis</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8

<i>montevidensis</i>																
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes</i> sp.1	D50.1	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes</i> sp.1	D50.2	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes</i> sp.1	D50.3	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.1	D52.1	<i>B. liaoningense</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.1	D52.3	<i>B. liaoningense</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	D53.1	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	12	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	D53.3	<i>B. japonicum</i>	7	1,3	1,5	36	0,5	4,9	3	0,5	0,2	26,8
Manoel Viana	D	13	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene falcata</i>	D54.2	<i>R. sp.</i>	17	1,4	1,5	72	0,4	4,8	4,3	0,8	0,6	36,6
Manoel Viana	D	13	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes montevidensis</i>	D55.1	<i>B. stylosanthis</i>	17	1,4	1,5	72	0,4	4,8	4,3	0,8	0,6	36,6
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene falcata</i>	D56.1	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene falcata</i>	D56.2	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene falcata</i>	D56.3	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene</i> sp.1	D57.1	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Aeschynomene</i> sp.1	D57.2	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D59.3	<i>R. lupini</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D58.1	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	D58.2	<i>R. sp.</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	14	Latossolo Vermelho	<i>Desmodium cuneatum</i>	D59.2	<i>B. liaoningense</i>	8	1	3,1	27	0,4	4,5	2,3	0,2	0,1	16,2
São Francisco de Assis	D	15	Latossolo Vermelho	<i>Chamaecrista nictitans</i>	D59.4	<i>R. lupini</i>	10	0,7	4,7	15	0	5,8	4,4	1,6	1,2	68,4
São Francisco de Assis	D	15	Latossolo Vermelho	<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	D60.3	<i>B. japonicum</i>	10	0,7	4,7	15	0	5,8	4,4	1,6	1,2	68,4
São Francisco de Assis	D	15	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.1	D61.1	<i>B. japonicum</i>	10	0,7	4,7	15	0	5,8	4,4	1,6	1,2	68,4
São Francisco de Assis	D	15	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.1	D61.2	<i>B. japonicum</i>	10	0,7	4,7	15	0	5,8	4,4	1,6	1,2	68,4
São Francisco de Assis	D	15	Latossolo Vermelho	<i>Zornia</i> sp.2	D62.2	<i>B. japonicum</i>	10	0,7	4,7	15	0	5,8	4,4	1,6	1,2	68,4
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D63.1	<i>R. sp.</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Aeschynomene falcata</i>	D63.2	<i>R. sp.</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Crotalaria hilariana</i>	D64.1	<i>R. sp.</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Crotalaria hilariana</i>	D64.2	<i>R. sp.</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Crotalaria hilariana</i>	D64.3	<i>R. sp.</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Desmodium uncinatum</i>	D65.2	<i>B. viridifuturi</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8

São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Desmodium uncinatum</i>	D65.3	<i>B. viridifuturi</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Lupinus sp.1</i>	D66.1	<i>B. elkanii</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Macroptilium gibbosifolium</i>	D67.1	<i>R. melilot</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Macroptilium gibbosifolium</i>	D67.2	<i>R. melilot</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8
São Gabriel	D	16	Argissolo	<i>Stylosanthes leiocarpa</i>	D68.3	<i>B. japonicum</i>	6	1,5	91,1	16	0,3	4,2	3,8	0,9	0,1	27,8

*Sequências dos genes recA, dnaK ou atpD comparadas ao banco de dados GeneBank (identidade maior que 85%).

¹*B.* = *rhizobium*

²*A.* = *Azorhizobium*

³*B. phymatum* = *Burkholderia phymatum*

⁴*R.* = *Rizobium*

⁵*B. mimosarum* = *Burkholderia mimosarum*