

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

MATEUS DE SOUZA TERCETI

**Diversidade Bacteriana do Gene 16s rRNA em Carvão Pirogênico de Terra Preta
Antropogênica da Amazônia Central e Oriental**

Piracicaba- SP
Julho de 2009

MATEUS DE SOUZA TERCETI

**Diversidade Bacteriana do Gene 16s rRNA em Carvão Pirogênico de Terra Preta
Antropogênica da Amazônia Central e Oriental**

*Dissertação apresentada ao Centro Energia
Nuclear na Agricultura da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de mestre
em Ciências*

*Área de Concentração: Biologia na Agricultura
e no Ambiente*

*Orientadora: Dr^a. Danielle Gregorio Gomes
Caldas*

**Piracicaba- SP
Julho de 2009**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Terceti, Mateus de Souza

Diversidade bacteriana do gene 16S rRNA em carvão pirogênico de Terra Preta Antropogênica da Amazônia Central e Oriental / Mateus de Souza Terceti; orientador Danielle Gregorio Gomes Caldas. - - Piracicaba, 2009.

124 f.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Bactérias 2. Biologia molecular 3. DNA 4. Ecologia microbiana
5. Microbiologia do solo I. Título

CDU 579.26

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Antônio e Elizabeth

**Pelo incentivo, apoio e amor durante toda a vida
e por tudo isso ser possível.**

AGRADECIMENTOS

Às Dr^a Siu Mui Tsai e Dr^a Danielle Gregorio Gomes Caldas pela supervisão e orientação, em seu mais amplo significado, por todo conhecimento e experiência que adquiri com este trabalho, por toda paciência e compreensão.

Ao amigo Acácio Navarrete pelo grande apoio dado nas análises com software, pela amizade, paciência e conselhos.

Aos meus amigos de laboratório: Bianca, Fabiana, Lucas, Mariana e Rodrigo que sempre estiveram presentes no desenvolvimento desse projeto, seja ajudando durante os experimentos e discussões científicas seja nos momentos de descontração, sempre necessários.

Ao Elias, Fábio, Wagner e Ludmila, pela amizade, apoio técnico e colaboração sejam nos dias de bom humor quanto nos de mau humor.

Aos Funcionários do CENA, pela atenção dedicada.

Aos amigos Nino, Paulo forfree, Rafael Gudar, Gustavo, Diogo Henrique, Juliana Vieira, Daniela Souza, Maíra, Thiago Mezette, Vinícius Boaventura e Marta, meu muito obrigado pela convivência, pelo carinho e pelo apoio em todas as horas.

Ao amigo Flávio Diniz pelo grande apoio e força em todos os momentos para atingir esse e outros objetivos.

À bibliotecária Marília R.G. Henyei pelo auxílio na adequação das referências bibliográficas de acordo com as normas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos concedida.

À toda minha família (Antônio, Elizabeth, Vinícius e Nayara). Vocês são especiais.

A Deus, por permitir que tudo isso fosse possível.

A todos que não foram citados, mas que direta ou indiretamente colaboraram de alguma forma para a execução desta pesquisa.

Obrigado a todos!

“Autobiografia em Cinco Capítulos”

“1) Caminho pela rua.
Há um profundo buraco no passeio
E caio lá dentro
Estou perdido... não sei que fazer.
A culpa não é minha,
Preciso de uma eternidade para descobrir a
saída.

2) Caminho pela mesma rua.
E lá está um grande buraco no passeio.
Finjo que não o vejo.
Caio outra vez.
Custa-me a acreditar que esteja no mesmo
lugar,
Mas a culpa não é minha.
Ainda preciso de muito tempo para sair.

3) Caminhando pela mesma rua
Há um profundo buraco no passeio.
Vejo que lá está.
Mas caio... Já é um hábito
Tenho os olhos abertos,
Sei onde estou
Mas a culpa é minha
E saio imediatamente.

4) Caminho pela mesma rua
Há um grande buraco no passeio,
E passo ao lado.

5) Caminho por outra rua.”

Nélson Portia

RESUMO

TERCETI, M. S. **Diversidade bacteriana do gene 16S rRNA em carvão pirogênico de Terra Preta Antropogênica da Amazônia Central e Oriental**. 2009. 124f. Dissertação (mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

A Terra Preta Antropogênica (TPA) tem essa denominação porque é encontrada em sítios arqueológicos, onde viveram grupos pré-históricos e é considerada um dos solos mais férteis do mundo. Nela é encontrada grande quantidade de material deixado por grupos indígenas como fragmentos cerâmicos, artefatos líticos, e especialmente carvão pirogênico. Estudos realizados com o carvão pirogênico verificaram que ele aumenta a capacidade de trocas catiônicas nesses solos. Por meio de microscopia de fluorescência, foi observada a presença de microrganismos habitando esse carvão, no entanto, não se sabe quais seriam. Devido à falta de informações sobre a diversidade bacteriana nessas estruturas, este trabalho estudou a diversidade bacteriana em amostras de carvão pirogênico de solos TPA coletadas nos sítios Lagoa Balbina (Amazônia Central- Amazonas) e Mina I (Amazônia Oriental - Pará), através de técnicas moleculares independentes de cultivo. O estudo visou também comparar essa diversidade com a encontrada no solo de onde carvão foi isolado. As estruturas de carvão foram separadas fisicamente dos solos e seu DNA genômico total extraído e usado como molde em reação de PCR utilizando oligonucleotídeos do gene 16S rRNA para o Domínio Bacteria. O produto da PCR foi clonado em vetor e os clones foram sequenciados e comparados com o banco de dados de 16S rRNA do RDPX. Com a construção das bibliotecas de clones do gene 16S rRNA a partir das amostras de carvão pirogênico observou-se que existe maior número de bactérias desconhecidas no carvão pirogênico do que no solo onde ele foi isolado. Acidobacteria foi o filo predominante nas bibliotecas de carvão pirogênico das duas localidades de estudo, assim como na biblioteca do solo do sítio Mina I. Já na biblioteca do solo do sítio Lagoa Balbina houve predominância do filo Firmicutes. Por meio do método de rarefação foi possível constatar uma menor riqueza de UTOs nas comunidades bacterianas presentes nas estruturas de carvão pirogênico quando comparado à riqueza de UTOs das comunidades bacterianas cujo habitat é o solo. Mas quando se compara a riqueza de UTOs entre as estruturas de carvão isoladas das duas localidades, observa-se que a riqueza é maior no sítio Mina I. Os valores obtidos com os índices de diversidade revelaram menor diversidade de UTOs nas bibliotecas obtidas para o carvão pirogênico das duas regiões estudadas se comparado dos valores para as bibliotecas obtidas do solo da mesma região. Os valores obtidos com os métodos não paramétricos revelaram maior riqueza de UTOs para as bibliotecas do carvão do sítio Mina I e solo TPA do sítio Balbina. A análise da PCA revelou que as bibliotecas do sítio Balbina mostraram-se altamente similares. Em adição, a análise com S-Libshuff, verificou que todas as bibliotecas comparadas são significativamente diferentes quanto à composição das comunidades bacterianas. O carvão pirogênico não é uma estrutura inerte, pois é capaz de ser habitado por diferentes bactérias e a sua estrutura da comunidade bacteriana é diferente daquela de onde ele foi segregado.

Palavras-chave: Diversidade Bacteriana; Clones do gene 16S; Terra Preta Antropogênica; Carvão Pirogênico; Amazônia

ABSTRACT

TERCETI, M. S. **Bacterial diversity of the 16S rRNA gene in pyrogenic black carbon of Anthropogenic Dark Earth from the Central and Oriental Amazon** 2009. 125f. Dissertação (mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

Anthropogenic Dark Earth (ADE) has this denomination because it is found at archeological sites, where prehistoric groups lived, and it is considered one of the most fertile soils of the world. In this soil a great amount of material left by indigenous groups was found as ceramic fragments, lithic workmanships, and especially pyrogenic black carbon. Studies accomplished with the pyrogenic black carbon verified that it increases the capacity of cationic changes in soils. Through fluorescence microscopy, the presence of microorganisms was observed inhabiting that black carbon, however, this community is still unknown, due to the lack of information about the bacterial diversity in those structures. This work studied the bacterial diversity in samples of pyrogenic black carbon of ADE soils, collected at the sites Lagoa Balbina (Central Amazon) and Mina I (Oriental Amazon), through molecular techniques independent of cultivation. The study also sought to compare that diversity with the one of the soil where black carbon was isolated. The structures of black carbon were separate physically from the soils and total genomic DNA was extracted and used as template in a PCR reaction, using primers of the 16S rRNA gene for the *Bacteria* Domain. The PCR product was used for construction of clone libraries and the clones were sequenced and compared with the 16S rRNA of RDPX database. The 16S rRNA gene clone libraries from the samples of pyrogenic black carbon, it shown that is a larger number of unknown bacteria in the black carbon than in the soil where it was isolated. *Acidobacteria* was the predominant phylum in the pyrogenic black carbon libraries from the both studied places, as well as in the soil library from Mina I site. However in the library Lagoa Balbina site there was predominance of the phylum *Firmicutes*. Through the rarefaction method it was possible to verify a smaller richness of OTUs in the bacterial communities presents in the pyrogenic black carbon structures when compared to the OTUs richness of the bacterial soil communities. But, when the OTUs richness is compared among the isolated structures of pyrogenic black carbon of the two places, it is observed that the richness is higher in the Mina I site. The values from diversity indexes revealed smaller diversity of OTUs in the pyrogenic black carbon libraries when compared with the soil libraries for the two studied areas. The obtained values with the nonparametric methods revealed larger OTUs richness in the black carbon library of Mina I site and in the ADE soil library of the Balbina site. The PCA analysis showed that the libraries of the site Balbina site were highly similar. In addition, the analysis with S-Libshuff verified that all of the compared libraries were significantly different in bacterial communities composition. The pyrogenic black carbon is not an inert structure, once it is capable of being inhabited by different bacteria, and its bacterial community structure is different from that one where is was segregated.

Keywords: Bacterial diversity; 16S rRNA clone; Anthropogenic Dark Earth; Pyrogenic black carbon; Amazonia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização do município de Presidente Figueiredo-AM.....	30
Figura 2 - Localização da Floresta Nacional de Caxiuanã.....	30
Figura 3 - A vegetação é sempre exuberante onde existe Terra Preta.....	31
Figura 4 - Coleta realizada no Sítio Mina I TPA (a) e adjacência (b) Caxiuanã – Pará....	32
Figura 5 - Separação do carvão pirogênico da TPA.....	33
Figura 6 - Esquema da obtenção do Mix de DNA a partir das duas triplicatas de DNA ...	34
Figura 7 - Eletroforese das amostras de DNA genômico e produtos de PCR.....	42
Figura 8 - Eletroforese dos produtos de PCR 16S rRNA e purificação.....	43
Figura 9 - Eletroforese das amostras de DNA plasmideal extraídas	44
Figura 10 - Eletroforese dos produtos da PCR de inserto.	45
Figura 11 - Diversidade bacteriana em carvão pirogênico e solo TPA do sítio Lagoa Balbina, com base na afiliação filogenética do RDPX.....	49
Figura 12 - Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas BICAR e BITPA	51
Figura 13 - Análise de agrupamento filogenética feita a partir de sequências parciais do gene 16S rRNA de bactéria presentes em carvão e solo TPA do sítio Lagoa Balbina, com base no programa Mega 4.0.....	53
Figura 14 - Diversidade bacteriana em carvão pirogênico e solo TPA do sítio Mina I, com base na afiliação filogenética do RDPX.....	56
Figura 15 - Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas MICAR e MITPA.	57
Figura 16 - Análise de agrupamento filogenética feita a partir de sequências parciais do gene 16S rRNA de bactéria presentes em carvão e solo TPA do sítio Mina I, com base no programa Mega 4.0	59
Figura 17 - Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas MICAR e BICAR.	61
Figura 18 - Análise da PCA – Principal Component Analysis – feita com sequências do gene 16S rRNA relativas as bibliotecas BICAR, MICAR, BITPA e MITPA	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico e solos do sítio Lagoa Balbina comparadas com banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX e número de filotipos encontrados em cada biblioteca.....	48
Tabela 2 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxônomicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico (BICAR) e solo Terra Preta Antropogênica (BITPA) do sítio Lagoa Balbina.....	52
Tabela 3 - Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico do sítio Mina I comparadas com banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX e número de filotipos encontrados em cada biblioteca	55
Tabela 4 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxônomicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico (MICAR) e solo Terra Preta Antropogênica (MITPA) do sítio Mina I.....	58
Tabela 5 - Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico do sítio Lagoa Balbina (BICAR) e sítio Mina I (MICAR) e comparados com banco de sequências de 16S rRNA do RDPX e o número de filotipos encontrados em cada biblioteca.....	60
Tabela 6 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxônomicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico do sítio Mina I e Lagoa Balbina.....	62

LISTA DE SIGLAS

ACE	Abundance-based Coverage Estimator
ADJ	Adjacente
BICAR	Biblioteca de gene 16S rRNA do Carvão Pirogênico do Sítio Balbina
BITPA	Biblioteca de gene 16S rRNA do Solo TPA do Sítio Balbina
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
DGGE	Denaturing Gradient gel Electrophoresis
DOTUR	Distance Based OTU and Richness Determination
IPTG	Isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside
LB	Luria Broth
MICAR	Biblioteca de gene 16S rRNA do Carvão Pirogênico do Sítio Mina I
MITPA	Biblioteca de gene 16S rRNA do Solo TPA do Sítio Mina I
NCBI	National Center for Biotechnonology Information
PCA	Principal Component Analysis
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RDP	Ribosomal Database Project
rRNA	Ribosomal RNA
TPA	Terra Preta Antropogênica
T-RFLP	Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism
USP	Universidade de São Paulo
UTO	Unidade Taxônômica Operacional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 BIODIVERSIDADE MICROBIANA DO SOLO	14
2.2 TERRA PRETA ANTROPOGÊNICA.....	16
2.3 AGREGADOS DO SOLO.....	17
2.4 CARVÃO PIROGÊNICO	18
2.5 AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE BACTERIANA	20
2.6 DOMÍNIO BACTERIA	23
3 OBJETIVOS.....	28
4 METODOLOGIA	29
4.1 ÁREA DE ESTUDO	29
4.2 AMOSTRAGEM	31
4.3 SEPARAÇÃO DO CARVÃO PIROGÊNICO DE TPA	32
4.4 EXTRAÇÃO DNA GENÔMICO TOTAL DO CARVÃO PIROGÊNICO	33
4.5 AMPLIFICAÇÃO DO GENE 16S rRNA	34
4.6 PURIFICAÇÃO DO PRODUTO DA PCR	35
4.7 CLONAGEM DO PRODUTO DA PCR	35
4.8 PREPARO DE CÉLULAS COMPETENTES DE <i>E. coli</i>	36
4.9 TRANSFORMAÇÃO DE <i>E. coli</i>	36
4.10 SELEÇÃO E ESTOQUE DE CLONES	37
4.11 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL	37
4.12 PCR DE INSERTO.....	39
4.13 PCR DE SEQUENCIAMENTO PARCIAL E PRECIPITAÇÃO	39
4.14 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
5.1 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL DO CARVÃO PIROGÊNICO	42
5.2 SELEÇÃO DE CLONES APÓS CLONAGEM.....	43
5.3 EXTRAÇÃO DNA PLASMIDIAL	43

5.4 PCR INSERTO	44
5.5 CONSTRUÇÃO DA BIBLIOTECA 16S rRNA	45
5.6 SEQUENCIAMENTO PARCIAL DOS CLONES	45
5.7 ANÁLISE DAS COMUNIDADES BACTERIANAS	46
5.7.1 ESTUDO 1 – SÍTIO LAGOA BALBINA.....	46
5.7.2.1 ANÁLISE RDPX.....	46
5.7.2.2 ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS	50
5.7.2.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	52
5.7.3 ESTUDO 2 – SÍTIO MINA I	54
5.7.3.1 ANÁLISE RDPX.....	54
5.7.3.2 ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS	56
5.7.3.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	58
5.7.4 ESTUDO 3 – CARVÃO DO SÍTIO LAGOA BALBINA E SÍTIO MINA I	60
5.7.4.1 ANÁLISE RDPX.....	60
5.7.4.2 ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS	61
5.7.4.3 UTOS PECULIARES AO CARVÃO PIROGÊNICO.....	62
5.7.5 ANÁLISE DO COMPONENTE PRINCIPAL - PCA	63
6 CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS	66
ANEXO	76

1 INTRODUÇÃO

A Terra Preta Antropogênica (TPA) - também chamada de Terra Preta de Índio (TPI), Terra Preta Arqueológica ou simplesmente Terra Preta - tem essa denominação porque é encontrada em sítios arqueológicos, onde viveram grupos pré-históricos. Nestes sítios, são encontradas grandes quantidades de material deixado por esses grupos indígenas como fragmentos cerâmicos, carvão e artefatos líticos (de pedra). Normalmente, o material arqueológico é bem diversificado, o que leva a crer que grupos culturais distintos habitaram um mesmo local.

As áreas com Terra Preta Antropogênica são encontradas sobre os mais diversos tipos de solos e normalmente se localizam em terra firme, próximas às margens de rios, em locais bem drenados. A TPA pode ser identificada por sua cor escura, resultado da concentração de substâncias orgânicas depositadas no solo que apresentam altos teores de cálcio, carbono, magnésio, manganês, fósforo e zinco, elementos que tornam a terra fértil.

As áreas de Terra Preta são consideradas pequenas, medindo de 2 a 3 hectares, mas há exceções, como no caso da Estação Científica Ferreira Penna, no coração da Floresta Nacional de Caxiuanã (PA), onde se podem encontrar Terras Pretas numa extensão com mais de 100 ha. A elevada fertilidade e principalmente a sustentabilidade da fertilidade das TPAs é atribuída ao elevado nível de matéria orgânica e às propriedades físico-químicas da matéria orgânica nestes solos. Uma proporção significativa, até 35-45%, do carbono orgânico nas TPAs está na forma de carbono pirogênico (carvão pirogênico ou “black carbon”) (GLASER et al., 1998; 2000) comparado a 14% em solos circunvizinhos sem horizonte A antrópico. Nos últimos 30 anos, o campo de pesquisa com o carvão pirogênico tem crescido muito, se estendendo às ciências atmosféricas, à oceanografia, à ciência do solo e até mesmo à antropologia. Os resultados produzidos neste período têm sido animadores e mostram a sua relação com o ciclo do carbono na Terra, idéia colocada pela primeira vez no trabalho de Goldberg (1985). O carvão pirogênico é encontrado em vários tipos de solos e sua formação é resultado da combustão incompleta da vegetação ou da produção de energia (SCHMIDT; NOACK, 2000). Lehmann et al. (2006) evidenciaram através de microscopia de fluorescência, a presença de microrganismos vivos em fragmentos de carvão. No entanto, não se sabe quais microrganismos seriam estes.

Os avanços na área de biologia molecular permitem que hoje a estrutura de comunidades de bactérias do solo seja estudada sem a necessidade de isolamento e cultivo de microrganismos. Estes métodos podem ser aplicados em estudos de diversidade

microbiana em TPA e em carvão pirogênico, possibilitando a identificação independente de cultivo de um número abrangente de espécies bacterianas, incluindo aquelas fastidiosas ou não passíveis de cultivo, as quais dificilmente seriam identificadas pelos métodos convencionais.

O conhecimento sobre a diversidade microbiana do carvão pirogênico pode trazer a compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas no solo e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, além de benefícios econômicos e estratégicos, como a descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos. Um desafio para os microbiologistas é a compreensão da relação entre a composição, abundância e diversidade dos organismos do solo, com a sustentabilidade da fertilidade do solo e a produção agrícola, e os efeitos ambientais, como emissão de gases de efeito estufa e sequestro do carbono. A caracterização biológica de um solo do tipo TPA e do carvão pirogênico através da determinação da estrutura populacional das suas comunidades microbianas pode contribuir para a elucidação da origem e formação da TPA, e para a compreensão do impacto sofrido nas populações microbianas desses solos, das alterações ao longo dos anos e da sustentabilidade dos sistemas produtivos nesses ambientes. O conhecimento da atividade dos microrganismos do carvão pirogênico e qual a sua contribuição para a formação e manutenção destes solos, levará ao desenvolvimento de práticas sustentáveis de agricultura que conservem a biodiversidade, beneficiando especialmente os agricultores de pequeno porte ou de agricultura familiar, melhorando as condições de vida do homem amazônico. Dada à importância econômica, social e cultural dos solos de TPA, que representam um modelo para o manejo sustentável da agricultura, faz-se importante conhecer quais microrganismos habitam o carvão pirogênico. Além disso, o estudo da diversidade microbiológica é importante para aumentar nosso conhecimento sobre os recursos genéticos disponíveis, a sua distribuição sobre a terra, e o papel funcional dessa diversidade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a biodiversidade bacteriana encontrada em carvão pirogênico de TPA de duas áreas da floresta amazônica, uma localizada na Amazônia Central e outra na Amazônia Oriental. Esta avaliação foi feita a partir da construção de bibliotecas genômicas do gene 16S rRNA de Eubacteria. Dentro de cada área de estudo objetivou-se também comparar a biodiversidade bacteriana encontrada no carvão pirogênico com a encontrada em solo TPA, assim como, comparar a biodiversidade encontrada no carvão pirogênico das duas áreas de estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIODIVERSIDADE MICROBIANA DO SOLO

A biodiversidade e a atividade biológica estão relacionadas a funções e características essenciais para a manutenção da capacidade produtiva dos solos. Os microrganismos são responsáveis por diversas atividades essenciais para o funcionamento dos ecossistemas, como a fragmentação e decomposição da matéria orgânica, a disponibilização de nutrientes do solo, a agregação das partículas do solo, a fixação do nitrogênio, entre outras (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Evidências mostraram que muitas destas funções são redundantes, ou seja, podem ser realizadas por diferentes espécies de microrganismos. A presença da redundância de funções no solo torna ainda mais importante o conceito de diversidade microbiana.

Diversidade microbiana caracteriza-se pelo número de diferentes espécies de fungos, bactérias, arqueias e sua relativa abundância no solo (ALTIERI, 1999; NANNIPIERI et al., 2003). A diversidade funcional da microbiota do solo é determinada pela diversidade genética, e esta pode ser utilizada como indicador da qualidade dos solos (LAMBAIS et al., 2005), permitindo o entendimento da complexidade da ligação entre a diversidade microbiana e suas funções no solo e a compreensão das relações entre a diversidade genética e a estrutura das comunidades (NANNIPIERI et al., 2003).

A microbiota é representada por um conjunto de organismos que inclui bactérias, arqueias, fungos e protozoários. Tais organismos apresentam diferenças fundamentais em nível celular que permitem classificá-los em procariotos e eucariotos. O conceito de espécies para o estudo de diversidade de procariotos ainda não foi completamente estabelecido, aumentando a complexidade e dificuldade de se estudar tais organismos (ROSSELÓ-MORA; AMANN, 2001; GEVERS et al., 2005). A transferência horizontal que ocorre em bactérias permite aumentar significativamente a troca genética entre esses organismos, trazendo profundas mudanças evolutivas e dificultando a denominação pela ciência de características específicas necessárias para a classificação de espécies em procariotos (LAMMEL, 2007).

A diversidade de microrganismos e a complexidade das relações existentes entre diversidade microbiana no solo e seu papel funcional, permitem qualificar o ambiente solo como uma “fronteira final” que abriga um universo microbiano desconhecido (CURTIS;

SLOAN, 2005). Esta “fronteira final” torna-se ainda mais desconhecida quanto mais complexo e inalterado for o ambiente solo.

A microbiota do solo tem sido estudada em diferentes ambientes, como: deserto polar (HOROWITZ; CAMERON; HUBBARD, 1972), altitudes elevadas (LEY; LIPSON; SCHMIDT, 2001), floresta boreal (JAATINEN et al., 2004), mangues (CURY, 2006; MENDES, 2008), áreas poluídas e cultivadas (KANDELER et al., 2000), entre outros ambientes. Cada solo destes ambientes abriga um conjunto de características complexas que determinam as especificidades para o condicionamento de sua maior ou menor diversidade, determinando os chamados “hot spots”.

Os solos de florestas são, por natureza, ambientes preferenciais para a riqueza e abundância da microbiota, dada pela grande abundância de espécies vegetais e acúmulo de material orgânico (HERRERA et al., 1978).

Em TPA, a presença de material orgânico estável e a grande atividade biológica indicam que este tipo de solo pode ser um sítio de alta diversidade microbiana, constituindo uma fonte de germoplasma microbiano (TSAI et al., 2003). Inexiste informação detalhada e organizada sobre esta biodiversidade. As estruturas biológicas e suas funções são afetadas pelas alterações e perturbações ambientais, que induzem de um modo geral, a mudanças nas propriedades do solo (OVREAS et al., 1998; DI GIOVANNI et al., 1999).

Tsai et al. (2003) avaliaram a diversidade bacteriana em TPA com base no sequenciamento do gene 16S rRNA. Além de uma alta diversidade bacteriana, os autores encontraram alta ocorrência de clones homólogos a bactérias não cultivadas. Isto demonstra a necessidade de maior intensidade de estudos nesses ambientes, que podem ser “hot spot” de diversidade bacteriana. Contudo, atualmente não se tem conhecimento detalhado da biologia e, sobretudo da estrutura e diversidade das comunidades microbianas destes solos e muito menos do carvão pirogênico aí presente. A elaboração de uma prospecção da diversidade microbiana dos solos TPA e carvão pirogênico é de suma importância para o conhecimento da extensão da diversidade deste bioma tropical e para a sustentabilidade da agricultura.

2.2 TERRA PRETA ANTROPOGÊNICA

A Terra Preta Antropogênica (TPA) ou terra preta arqueológica/antrópica recebe esta denominação porque é encontrada em sítios arqueológicos onde viveram grupos pré-históricos. Estes solos ocorrem em manchas redondas isoladas (FALESI et al., 1972) de diferentes dimensões. As áreas de Terra Preta são consideradas pequenas, com cerca de 2 a 3 hectares (SMITH, 1980), mas são encontradas ocasionalmente em áreas maiores, como no caso da Estação Científica Ferreira Penna, Floresta Nacional de Caxiuanã (PA), onde podem ser encontradas Terras Pretas numa extensão com mais de 100 ha. Estima-se que 1 cm de Terra Preta leve pelo menos 10 anos para se formar. Elas apresentam teores de matéria orgânica estável, superiores aos seus solos adjacentes (SMITH, 1980; WOODS et al., 2001; GLASER et al., 2001).

Existem várias hipóteses quanto à formação das TPAs. Entretanto, a hipótese mais aceita diz que as TPAs teriam sido formadas não intencionalmente pelo homem pré-histórico (WOODS et al., 2001). Segundo Smith (1980) a existência de TPAs em grandes números na bacia Amazônica fornece forte evidência que as populações indígenas (Ameríndios) antes do contato com os europeus eram grandes e assentadas, particularmente ao longo dos rios. Alguns trabalhos estimaram o número de índios no final do século XV ser 6,8 milhões (DENEVAN, 1976) ou mais (SMITH, 1980). Nestes assentamentos acumularam-se resíduos de origem vegetal (folhas e talos de palmeiras diversas, cascas de mandioca, sementes, etc.) e de origem animal (ossos, sangue, gordura, fezes, carapaças de quelônios, conchas, etc.), além de uma grande quantidade de cinzas e resíduos de fogueiras.

Uma outra hipótese refere-se à formação da TPA como resultado da incorporação intencional de nutrientes no solo através de práticas de manejo como queimadas, que objetivavam a produção agrícola. Essa tese não é bem aceita pela comunidade científica, uma vez que a abundância de terras e o hábito errante das populações pré-históricas levam a crer que os indígenas não se preocupavam em enriquecer o solo para plantar, mas buscavam novos locais. (<http://www.museu-goeldi.br>).

Os solos de Terra Preta tipo sambaqui apresentam coloração escura com 30 a 60 cm de espessura, horizonte A bem desenvolvido, geralmente sob latossolos amarelos, contendo fragmentos, de artefatos cerâmicos e ainda artefatos líticos, por vezes fragmentados e acúmulos de conchas. Os solos TPA do tipo sambaqui também contêm muita matéria orgânica, carvão pirogênico, quartzo, caulinita e oxi-hidroxidos de Fe. São ricos em SiO_2 e AlO_3 , e ainda FeO_3 e TiO_2 . Em termos de Ca, Mg, Mn, Zn, estes são mais concentrados nas TPAs do que nos horizontes A dos latossolos amarelos. Na região de Caxiuanã, assim como

em várias outras regiões na Amazônia, encontram-se várias áreas pequenas com ocorrência de TPA tipo sambaquis e, apesar da grande quantidade de sítios arqueológicos já conhecidos, não se tem um mapeamento de todas as ocorrências de TPA tipo sambaqui e TPA na Amazônia (Disponível no site <http://www.museu-goeldi.br>).

Há muito que se discutir sobre Terra Preta Antropogênica. A questão central ainda não conseguiu ser respondida: Como ela se formou? Os pesquisadores sabem da importância dessa descoberta, pois reproduzir a TPA pode significar um grande salto para o desenvolvimento da agricultura na região. Portanto, o estudo da comunidade microbiana aí presente, assim como o carvão pirogênico, fornecerá dados complementares para o entendimento da sua composição e sua formação.

2.3 AGREGADOS DO SOLO

Os solos são constituídos de agregados de tamanhos diferentes, sendo os microagregados, aqueles que possuem um diâmetro menor que 250 μm , os quais ligados formam os macroagregados, com diâmetro maior que 250 μm , de modo que as ligações das partículas nos microagregados são mais fortes que aquelas entre eles (TISDALL, 1994). Os agregados são unidades complexas onde todos os componentes do solo estabelecem íntimas relações estruturais e funcionais. Solos bem estruturados com agregados estáveis são requeridos para a boa atividade microbiana, retenção de água e penetração das raízes, resultando em boa qualidade do solo.

O processo de agregação do solo é bastante complexo e envolve a ação de fatores abióticos e bióticos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Dentre os fatores bióticos destacam-se a ação de microrganismos que possuem a função cimentante, e a ação das raízes e hifas que possuem ação agregante.

O estudo da diversidade microbiana no solo vem sendo feito, na sua maioria, utilizando amostras integrais de solo. Contudo, é provável que muitos processos microbianos no solo ocorram em microambientes. Neste sentido, o trabalho realizado por Mummey et al. (2006) tentou localizar populações específicas em diferentes frações e compartimentos dentro do solo e evidenciou que microagregados são microambientes únicos que selecionam linhagens microbianas específicas. Além disso, outros estudos indicam que abordagens moleculares tendem a detectar preferencialmente organismos mais dominantes numa amostra de solo (O'DONNELL et al., 1995; DARREL et al., 1997; HOLBEN et al., 2004). Grundmann (2004) verificou que o estudo da diversidade microbiana

em microhabitats do solo aumenta o número de organismos detectados neste habitat, minimizando assim o problema de detecção preferencial de espécies dominantes.

Levando-se em consideração que o carvão pirogênico constitui-se num microambiente dentro do solo, torna-se mais uma vez importante seu estudo segregado do ambiente solo a fim de verificar linhagens microbianas específicas.

2.4 CARVÃO PIROGÊNICO

SMERNIK et al. (2000) utilizaram o termo carbono pirogênico para descrever o mais inerte componente da matéria orgânica (o componente grafítico), e o termo carvão é usado para descrever uma grande variedade de materiais orgânicos de coloração preta e altamente aromáticos formados durante a combustão, mas que não precisam ter a estrutura grafítica. Por sua vez, e Cope e Chaloner (1980) consideram que a combustão de materiais derivados de plantas leva à formação de duas amplas categorias, carvão e carbono pirogênico, o primeiro formado a temperaturas superiores a 600 °C, o segundo a temperaturas inferiores a 600 °C.

Novakov (1984) definiu o termo carbono pirogênico como “material produzido por combustão e que apresenta microestrutura grafítica”. Termos como carvão (“charcoal”), fuligem (“soot”) e carbono elementar são encontrados na literatura como sinônimos de carbono pirogênico, apesar de não existir uma terminologia geralmente aceita (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2004).

Entretanto, Simpson e Hatcher (2004) utilizaram o termo carbono pirogênico para descrever diferentes produtos da combustão incompleta, tais como: fuligem, carvão e grafite. Além disso, Schmidt e Noack (2000) afirmaram que não existe um consenso geral no que diz respeito a um ponto divisório entre as diferentes propriedades físicas e químicas do carbono pirogênico, ou seja, um limite entre os diversos subprodutos da combustão que têm sido considerados como carbono pirogênico.

As técnicas disponíveis para o estudo do carvão pirogênico em solos incluem vários métodos: ópticos (SKJEMSTAD et al., 1996; GOLCHIN et al., 1997); microscópicos (POIRIER et al., 2000; SKJEMSTAD et al., 2002); térmicos (GUSTALSSON; GSCHWEND, 1998; BENITES et al., 2005; CUNHA, 2005); químicos (WOLBACH; ANDERS, 1989; GLASER et al., 1998); espectroscópicos (KNICKER et al., 1996; NOVOTNY et al., 2007) e; utilização de marcadores moleculares (GLASER et al., 1998; ELIAS, 2001).

Morfologicamente, o carvão pirogênico é constituído por um empilhamento em camadas de unidades estruturais poliaromáticas e gráficas, que exibem grandes diferenças em extensão e nível de organização.

Estudando aspectos morfológicos do carvão pirogênico por microscopia eletrônica, Skjemstad et al. (1996) concluíram que as estruturas observadas nos materiais estudados em solos dos Estados Unidos eram bastante semelhantes àqueles estudados em solos da Austrália por Skjemstad et al. (1999).

A contribuição do carvão pirogênico à fertilidade do solo e à sustentabilidade dessa fertilidade é atribuída, principalmente, à sua composição e estrutura molecular. A gênese dessa matéria orgânica de alta estabilidade são atribuídas às transformações químicas e bioquímicas de resíduos carbonizados, resultantes de queima, natural ou induzida, da biomassa vegetal (BENITES et al., 2005; CUNHA., 2005; NOVOTNY et al., 2007).

Aparentemente, o carvão pirogênico é encontrado em todos os ambientes, e isso tem importantes implicações para o ciclo global do carbono (SIMPSON; HATCHER, 2004). A presença de carvão em solos tem sido reportada em diversos estudos realizados em diferentes partes do mundo. Em solos antrópicos, onde foram encontrados artefatos e covas, como os que ocorrem nos solos antrópicos da Amazônia e na Região da Bavária na Alemanha, datados do Período Neolítico com idade entre 2.700 a 5.500 anos, o carbono aromático detectado por várias técnicas espectroscópicas é derivado do carvão. Esse carvão é originário de queima da vegetação ou de outros materiais carbonizados como resíduos de queimas de outros locais no mesmo período (SCHMIDT et al., 2001).

Skjemstad et al. (1999) identificaram carvão em solos australianos e atribuíram a presença deste ao manejo do fogo pelos povos aborígenes por milhares de anos. Em solos da Alemanha, Schmidt et al. (1999) detectaram carvão finamente dividido como o principal constituinte da matéria orgânica de chernossolos.

Em solos brasileiros, quantidades significativas de carvão pirogênico são encontradas em solos com histórico de incêndios naturais ou provocados, como nos casos do Cerrado (ROSCOE et al., 2001) e ambientes rupestres altimontanos (BENITES et al., 2005). Igualmente, de grande interesse são as TPAs, que são solos de origem antropogênica existentes na Região Amazônica (GLASER et al., 2001; MADARI et al., 2004; CUNHA, 2005).

Quando estão na forma de fragmentos muito pequenos, os carvões apresentam alguma atividade no sentido de absorver compostos orgânicos solúveis, reter água e servem como abrigo para alguns microrganismos do solo. (BENITES et al., 2005).

Foi observado por Lima et al. (2002) que, antrossolos ricos em carvão pirogênico preservam a disponibilidade de cátions. Lehmann et al. (2006) verificaram que o carvão além de preservar, aumenta em quase duas vezes a capacidade de trocas catiônicas nestes solos em relação aos solos adjacentes. Acredita-se que esta capacidade seja devido à oxidação da superfície do carvão e o produto deste processo levaria ao aumento das trocas catiônicas. Esta oxidação poderia estar sendo realizada por mecanismos geoquímicos ou por microrganismos (LEHMANN et al., 2006). Levando em consideração que o carvão pirogênico é altamente resistente, como já mencionado acima, e que existe a possibilidade do envolvimento de microrganismos na degradação (oxidação) do carvão, considera-se de extrema importância o estudo da diversidade microbiana neste material, a fim de identificar ou não, novas espécies, que em perspectivas futuras poderiam, após a elucidação de suas vias bioquímicas, serem utilizadas na biodegradação, entre outras aplicações biotecnológicas, por exemplo.

O carvão pirogênico está presente em diversos ambientes e apresenta diversas propriedades de extremo interesse ambiental e agrônômico. Exemplos dessas propriedades são: (a) sua alta estabilidade, devido à presença de estruturas aromáticas condensadas, o que desempenha importante papel no sequestro de carbono; (b) sua elevada reatividade, decorrente da oxidação parcial de sua estrutura aromática, dando origem a grupos funcionais ácidos e recalcitrantes, principalmente carboxílicos, que contribuem significativamente para o aumento da capacidade de troca catiônica e (c) sua elevada porosidade e área superficial, o que serve de refúgio para microrganismos.

2.5 AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE BACTERIANA

A falta de conhecimento sobre a diversidade microbiana em amostras ambientais deve-se em grande parte aos métodos tradicionalmente utilizados para o isolamento e cultivo de microrganismos em laboratório (RANJARD et al., 2000), uma vez que apenas uma pequena fração dos organismos na natureza, ao redor de 0,1% ou no máximo 10% do total da população, é cultivável através do uso de técnicas microbiológicas de rotina (TORSVIK et al., 1990; AMANN et al., 1995). Além disso, muitos microrganismos que crescem em meios artificiais não são metabólicamente ou nutricionalmente dominantes no meio natural (MUYZER;

RAMSING, 1995), podendo ser selecionados por sua habilidade em desenvolver em meios aeróbicos e com altas concentrações de nutrientes.

Os avanços recentes no campo da biologia molecular (extração de DNA, amplificação por PCR, clonagem de DNA e sequenciamento de DNA) permitiram o desenvolvimento de técnicas que não requerem o isolamento e cultivo de microrganismos, principalmente no estudo das bactérias. Dessa forma, elimina-se o problema associado com as técnicas de cultivo. Com a técnica do DNA, o DNA total do solo é extraído e analisado segundo uma variedade de marcadores genéticos específicos, em combinação com a análise de PCR ("Polymerase Chain Reaction") específico, DGGE ("Denaturing Gradient Gel Electrophoresis") e de T-RFLP ("Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism"). Outra abordagem molecular para estudar comunidades bacterianas em ambientes naturais é a construção de bibliotecas de sequências gênicas 16S rRNA , com a subsequente clonagem e sequenciamento (RAPPE et al., 2000; SUZUKI et al., 2001; KELLY; CHISTOSERDOV, 2001; LORENZI, 2004). A aplicação destas técnicas tem possibilitado a compreensão do papel funcional da diversidade microbiana dos solos, sua composição e variabilidade nos ecossistemas florestais, em resposta aos distúrbios e atividade de manejo destes ecossistemas (LECKIE, 2005).

O gene comumente amplificado para esse propósito entre os procariotos é o que codifica a subunidade 16S do RNA ribossômico (rDNA 16S). O estudo das sequências do rDNA 16S tornou-se padrão na determinação de relações filogenéticas, avaliação da diversidade em amostras ambientais e detecção e quantificação de populações específicas (HEAD; SAUNCER; PICKUP, 1998). A escolha da sequência de nucleotídeos do rDNA 16S decorre do fato de agrupar um conjunto de características necessárias a um bom marcador molecular, a qual inclui a sua distribuição universal, estrutura e função conservada entre os táxons, ausência de transferência lateral, e tamanho grande o suficiente (cerca de 1.500 nucleotídeos) para estudos de filogenia (AMANN; LUDWIG, 2000). Sua estrutura primária possui uma alternância entre regiões mais ou menos conservadas, permitindo a investigação de amplo espectro de distâncias filogenéticas, desde o nível de domínio até espécie (LUDWIG; SCHLIFER, 1994). O grande número de sequências do rDNA 16S atualmente disponíveis em bancos de dados públicos, permite ainda um maior uso deste gene como marcador filogenético (MACRAE, 2000).

Em solos florestais, a técnica de DGGE tem se apresentado útil na identificação de diferentes padrões na estrutura de comunidades, refletindo em uma alta diversidade (HENCKEL et al., 2000; AGNELLI et al., 2004; LAVERMAN et al., 2005; NOGUEIRA et al., 2006; NAVARRETE , et al., 2009).

O T-RFLP ganhou popularidade nos últimos anos devido à alta reprodutibilidade e o acesso a um grande número de unidades taxonômicas operacionais (OSBORN et al., 2000; MENDES et al., 2008). Esta técnica já foi empregada para caracterizar as comunidades microbianas em diferentes ambientes, como solos de floresta, solos poluídos, sedimentos, estruturas de plantas, trato digestivo de minhocas, entre outros (THIES, 2007). Dados preliminares apresentados por Cannavan et al. (2008) mostraram por meio da técnica de T-RFLP uma maior diversidade de Eubacteria em solo TPA e carvão pirogênico do que em solo adjacente. Através de Análise de Componentes Principais (PCA) também foram verificados agrupamentos bem distintos das amostras de solo TPA, carvão e solo adjacente.

O'Neill et al. (2009) avaliaram a composição da comunidade microbiana de dois tipos de solos: solo TPA e solo adjacente da região Amazônica brasileira. Esta comunidade foi estudada por meio de isolamento e cultivo de microrganismos e também por sequenciamento do gene 16S rRNA desses microrganismos. Os pesquisadores observaram que existe maior número de populações bacterianas cultiváveis e riqueza de espécies nos solos TPAs do que nos seus solos adjacentes. Técnicas que utilizam cultivo bacteriano são tediosas e revelam uma pequena porção da população nos solos, no entanto, são ótimas para se estudar diversidade metabólica e fisiológica dessas bactérias.

A clonagem e o sequenciamento do gene rRNA 16S combinados com abordagens estatísticas satisfatórias, podem fornecer informações detalhadas da composição e diversidade das comunidade microbianas (VENTER, 2004; JANSSEN, 2006; CANNAVAN, 2007).

A estimativa de diversidade por definição de unidades taxonômicas operacionais (UTOs) em diferentes níveis de sequências identificadas de clones do gene rRNA 16S, apresenta uma utilização comum em ecologia microbiana (GEVER et al., 2005). Normalmente, se aceita o limite de 97% de similaridade para a separação de espécies, mas sugere-se o uso de diversos genes quando da necessidade de maior resolução taxonômica (GEVER et al., 2005).

A utilização de algoritmos específicos para o processamento das sequências geradas permite sua posterior utilização em diferentes tipos de análises, entre elas, o estabelecimento de afiliações taxonômicas através de comparações com sequências depositadas em bancos de dados públicos como o GenBank do NCBI ("National Center for Biotechnology Information") e o "Ribossomal Database Project" (RDP). No ano de 2005, Schloss e Handelsman, desenvolveram o DOTUR ("Distance Based OTU and Richness Determination"), que utiliza matriz de distância gerada pelo programa PHYLIP como arquivo de entrada, e permite a definição de UTOs em um conjunto de sequências de maneira

rápida e confiável. O DOTUR permite ainda, o cálculo de valores utilizados para a construção de curvas de rarefação, estimadores de riqueza e índices de diversidade.

Estimadores de riqueza não-paramétricos como Chao 1 (CHAO, 1987) e ACE (“Abundance-based Coverage Estimator”) (CHAO; LEE, 1992), e índices de diversidade como Shannon e Simpson, utilizam diferentes aproximações matemáticas para estimar a diversidade, dando medidas quantitativas da maior ou menor diversidade encontrada nas amostras e/ou áreas. Embora os índices e estimativas de diversidade e riqueza possam dar medidas da composição da riqueza de microrganismos encontrados em diferentes bibliotecas e/ou áreas, eles não asseguram a composição das diferentes áreas, e não permitem aferir sobre diferenças encontradas para o conjunto de sequências de diferentes bibliotecas. Para tal, utiliza-se o programa S-LIBSHUFF (SCHLOSS; HANDELSMAN, 2005), que permite realizar comparações entre sequências de bibliotecas de rDNA 16S determinando a significância estatística entre as mesmas a diferentes distâncias filogenéticas. O entendimento das limitações na análise da diversidade microbiana foi abordado por Bent e Forney (2008) num trabalho de revisão. Eles observaram que a avaliação da riqueza de comunidades complexas é fútil sem uma boa amostragem.

2.6 DOMÍNIO BACTERIA

Durante muitos anos, considerou-se que a maior diversidade da vida na Terra era devido aos eucariotos, particularmente devido às suas formas multicelulares (WHITTAKER, 1969), enquanto os procariotos eram considerados simples, primitivos e relativamente uniformes em suas características (HUGENHOLTZ; PACE, 1996). Este conceito começou a ser modificado há cerca de 20 anos, quando Carl Woese e seus colaboradores, baseados na análise de uma subunidade menor do RNA ribossomal, sugeriram que os organismos vivos fossem classificados em três grupos: Archea, Bacteria e Eukarya. Tais grupos foram denominados domínios e surgiram através de vias evolutivas distintas a partir de um ancestral comum.

O domínio Bacteria inicialmente proposto por Woese (1987) era formado por 11 filos compostos por indivíduos cultivados e caracterizados, sendo posteriormente, verificado através de técnicas independentes de cultivo, a presença de um número maior de filos, muitos desses com representantes não cultiváveis (De LONG; PACE, 2001). Hugenholtz, Goebel e Pace (1998) propuseram uma nova classificação baseada na inclusão de sequências do gene 16S rRNA de organismos retirados diretamente do ambiente. Esta nova classificação aumentou o número de filotipos bacterianos para 36. Rappé e Giovannoni

(2003), baseados no estudo de sequências do gene 16S rRNA amplificadas a partir do DNA total de amostras ambientais de diversos locais, sugerem 52 filotipos bacterianos, porém, apenas 24 são conhecidos pelo Manual de Bergey, sendo que os solos aparentam ser dominados por um pequeno número destes filos. A seguir segue a descrição de alguns filos do domínio Bacteria:

Acidobacteria é um novo filo dentro do domínio Bacteria e recebe esse nome por ser um grupo de bactérias acidófilas. Foram reconhecidas como filo pela primeira vez em 1997. A grande maioria é não cultivada e possui metabolismo e ecologia pouco entendidos. Desde que este filo foi descoberto, ele vem sendo encontrado por meio de análises do gene 16S rRNA em amostras ambientais, marinhas, terrestres, em animais, aerossóis e fontes termais (BARNES et al., 2007). Os estudos realizados com este filo mostram que ele possui microrganismos com atuação ecológica importante em vários ecossistemas, particularmente em solos (HUNGENHOLTZ et al., 1998; DUNBAR et al., 2002). Atualmente o filo possui 3 representantes cultiváveis: *Acidobacterium capsulatum*, *Holophaga foetida* e *Geotrix fermentans* (HIRASHI et al., 1995). O primeiro é um microrganismo anaeróbico que fermenta compostos aromáticos (LIESACK et al., 1994). Sequências do gene 16S rRNA desse grupo de bactérias foram encontradas em várias localidades do mundo como por exemplo na Ásia (MITSUI et al., 1997), na Austrália (LIESACK; STACKEBRANDT, 1992), e na Europa (HACKL et al., 2004). Este filo é geralmente encontrado abundantemente nos mais diversos tipos de solo.

O filo Actinobacteria é constituído por bactérias Gram-positivas conhecidas como actinomicetos ou actinobactérias e que possuem um alto teor de G+C no seu genoma. Estas bactérias têm organização filamentosa, muitas vezes ramificada. Dada a sua semelhança com fungos e por produzirem, como estes, cadeias de esporos semelhantes a conídios, os Actinomicetos são, com frequência, erroneamente classificados como tais. Ao contrário dos fungos, porém, são organismos procarióticos, em sua grande maioria aeróbios e Gram-positivos. Os Actinomicetos ocorrem amplamente em ambientes aquáticos e terrestres e possuem uma função importante na decomposição da matéria orgânica e na formação de húmus (GOODFELLOW; WILLIAMS, 1983), portanto, são fundamentais para o melhoramento do solo. Possuem também importantíssimo papel na produção de diversos antibióticos. Bactérias deste filo já foram encontradas em solo TPA e em solo adjacente (KIM et al., 2007; O'NEILL et al., 2009).

O filo Chloroflexi são bactérias verdes não sulfurosas. Elas obtêm energia mediante fotossíntese. A sua denominação deve-se ao fato de possuírem um pigmento verde, que se encontra geralmente associado a estruturas membranosas internas chamadas clorossomas.

As bactérias deste grupo são tipicamente filamentosas e movem-se mediante deslizamento sobre superfícies. São aeróbias facultativas, mas não produzem oxigênio durante a fotossíntese; realizam fotossíntese anoxigênica. A sua via de fixação de carbono também difere da de outras bactérias fotossintéticas. Representantes deste filo foram encontrados em solos TPA da Amazônia em proporções inferiores em relação aos outros filós (CANNAVAN, 2007).

Firmicutes é um outro filo deste domínio, cujas representante possuem uma parede celular Gram-positiva. Algumas delas (micoplasmas) carecem de paredes celulares, já que não sofrem colocação pela técnica de Gram. Além disso, carecem da segunda membrana encontrada na maioria das bactérias Gram-negativas. Outras, tais como *Megasphaera*, *Pectinatus*, *Selenomonas* e *Zymophilus* possuem uma pseudomembrana exterior porosa que as torna Gram-negativas. As Firmicutes têm a forma de coco ou de bacilo. Muitos membros deste grupo produzem endósporos, que os tornam resistentes à dissecação, podendo sobreviver em condições extremas, e utilizam como estratégia de sobrevivência um crescimento rápido quando há nutrientes em quantidades necessárias, como por exemplo membros dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* que frequentemente são encontrados no solo (O'NEILL et al., 2009). Somente prevalecem em condições com grande quantidade de nutrientes disponíveis, em áreas com baixa competição; geralmente são encontrados em ambientes instáveis que estejam passando por transições (ATLAS; BARTHA, 1997).

O filo Gemmatimonadetes teve seu primeiro membro descoberto no ano de 2003 em lamas ativadas de um sistema de tratamento de esgotos. A bactéria recebeu o nome *Gemmatimonas aurantiaca* e trata-se de um organismo aeróbio, Gram-negativo e parece reproduzir-se por gemulação (ZANG et al., 2003). Ocorre em diversos ambientes como lodos industriais, sedimentos marinhos e solos (NUNES, 2006).

Nitrospira é um filo de bactérias nitro-oxidantes que são importantes em ambientes marinhos. São bactérias aeróbicas Gram-negativas atuantes no ciclo de nitrogênio e além de ambientes aquáticos, têm sido encontradas em solos (DUNBAR et al., 2002). Acredita-se que a atividade deste filo em ambientes aquáticos seja semelhante às de amostras de solos. Membros deste filo foram detectados em amostras de solos de Terra Preta e seus respectivos solos adjacentes (CANNAVAN, 2007).

Planctomycetes é um filo de bactérias aquáticas encontradas em água doce, salobra e marinha. Têm forma ovóide e reproduzem-se por gemulação. O ciclo biológico implica a alternância entre células sésseis e flageladas. Os organismos pertencentes a este grupo carecem de mureína na sua parede celular. A mureína é um importante heteropolímero

presente na maioria das paredes celulares bacterianas que serve como componente protetor no esqueleto da parede celular. Ainda que não possuam núcleo, no sentido eucariota, o material nuclear está contido, por vezes, dentro de uma membrana dupla. Para além deste nucleóide, existem dois outros compartimentos separados por membranas: o riboplasma (pirelulossoma) que contém ribossomas com as proteínas associadas, e o parifoplasma que não contém ribossomas (GLOCKNER, 2003).

As proteobactérias são um dos principais grupos de bactérias. Incluem uma grande variedade de agentes patogênicos, tais como *Escherichia*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Helicobacter*. O seu nome deriva do Deus grego Proteu, o qual podia mudar de forma. Este grupo possui membros com uma grande diversidade de formas. Todas as proteobactérias são Gram-negativas, com uma parede celular formada principalmente de lipopolissacarídeos. Muitas movem-se utilizando flagelos, mas algumas fazem-no por deslizamento. Elas têm também uma grande variedade de tipos de metabolismo. A nutrição é normalmente heterotrófica, mas existem dois grupos que realizam fotossíntese, denominadas bactérias purpúreas. As bactérias púrpuras sulfurosas usam enxofre, o sulfeto de hidrogênio, como doador de elétrons. As bactérias púrpuras não-sulfurosas utilizam hidrogênio. A dominância de Proteobacteria ocorre geralmente em solos de cultivo (NUSSLEIN; TIEDJE, 1999) e ou contaminados com metais pesados (SANDAA et al., 2001), que geralmente apresentam pH mais elevado em relação ao solo de floresta. Recentemente este filo foi encontrado também em solo adjacente e TPA da Amazônia (O'NEILL et al., 2009).

As proteobactérias alfa incluem a maioria dos gêneros fototróficos, simbiontes de plantas (por exemplo, os rizóbios) e de animais (CULLIMORE, 2000). As proteobactérias beta incluem vários grupos de bactérias aeróbias ou facultativas que são versáteis nas suas capacidades de degradação, mas também contém gêneros quimiolitotróficos (por exemplo, o gênero *Nitrosomonas* que oxida o amoníaco) e alguns fototróficos (gêneros *Rhodocyclus* e *Rubrivivax*) (CULLIMORE, 2000). As proteobactérias beta desempenham um papel importante na fixação de azoto em vários tipos de plantas, oxidando a amônia para produzir nitrito, um produto químico importante para a função das plantas. Muitas delas encontram-se em amostras ambientais, tais como águas residuais ou no solo. Outra bactéria que se destaca neste grupo é a *Ralstonia*, um agente patogênico vegetal que ataca as solanáceas (tomate, batata, entre outras). As proteobactérias gama incluem vários grupos de bactérias importantes para a ciência e para a medicina, tais como as Enterobacteriaceae, Vibrionaceae e Pseudomonadaceae. Este grupo inclui vários agentes patogênicos importantes, como por exemplo, *Salmonella* (enterite e febre tifóide), *Yersinia* (peste), *Vibrio* (cólera), *Pseudomonas aeruginosa* (infecções pulmonares em pacientes hospitalizados ou

com fibrose cística) (CULLIMORE, 2000). As proteobactérias delta incluem um grupo de gêneros predominantemente aeróbios, mixobactérias, que formam corpos frutíferos, e um grupo de gêneros estritamente anaeróbios que contêm a maior parte das bactérias redutoras de sulfato (*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, etc.) e das bactérias redutoras de enxofre (por exemplo, *Desulfuromonas*), juntamente com outras bactérias anaeróbias com diferente fisiologia (por exemplo, redutoras de ferro férrico, como o gênero *Geobacter* e os gêneros sintróficos *Pelobacter* e *Syntrophus*) (CULLIMORE, 2000). As proteobactérias ípsilon são constituídas por poucos gêneros, principalmente *Wolinella*, *Helicobacter* e *Campylobacter*, que têm forma helicoidal (CULLIMORE, 2000).

Verrucomicrobia é um filo recente e contém poucas espécies descritas. As espécies identificadas têm sido isoladas de ambientes aquáticos e solos (HUGENHOLTZ et al., 1998). São bactérias Gram-negativas sensíveis a penicilina. Organismos deste filo já foram encontrados em amostras de solo Terra Preta e solos adjacentes (KIM et al., 2007) e também em solos de pastagem (BORNEMAN; TRIPLETT, 1997).

3 OBJETIVOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, CENA/USP, Piracicaba/SP. Os experimentos realizados nessa dissertação visaram:

Estudo 1 – Análise da diversidade bacteriana de fragmentos de carvão pirogênico de solo TPA, coletados na região da Hidroelétrica da Balbina, sítio Lagoa Balbina, a 165 km da cidade de Manaus (Amazônia Central), através do uso de clones 16S rRNA e comparação da diversidade bacteriana encontrada com a do solo TPA da mesma região;

Estudo 2 – Análise da diversidade bacteriana de fragmentos de carvão pirogênico de solo TPA, coletadas na reserva do Parque Nacional de Caxiuanã – sítio Mina I, Pará (Amazônia Oriental), através do uso de clones 16S rRNA e comparação da diversidade bacteriana encontrada com a do solo TPA da mesma região;

Estudo 3 – Análise comparativa da diversidade bacteriana de peças de carvão pirogênico das duas áreas de estudo (sítio Lagoa Balbina e sítio Mina I).

4. METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, CENA/USP, Piracicaba-SP.

4.1 ÁREA DE ESTUDO

Foram coletados solos TPAs em duas regiões: Lagoa Balbina (Amazônia Central- Amazonas) e Floresta Nacional de Caxiuanã (Amazônia Oriental - Pará). A primeira área de estudo (estudo 1) está localizada próxima à Comunidade Rumo Certo no município de Presidente Figueiredo (AM), às margens da lagoa da Hidroelétrica Balbina, na Amazônia Central, a 165 km de Manaus (Figura 1). As coordenadas geográficas da área de TPA são 1°30'26,4"S e 60°05'34"W. O clima é quente e úmido, com temperatura média entre 25°C e 35°C. A vegetação é formada pela Floresta Tropical, com grande predominância de terras acidentadas e o solo apresenta características arenosas nas áreas mais altas e argilosas nas áreas mais baixas. A área de TPA é classificada como Latossolo Amarelo Antrópico

A segunda área de estudo (estudo 2) está localizada na Floresta Nacional de Caxiuanã, a 400 km de Belém (PA), a qual se encontra no município de Melgaço/PA, na Amazônia Oriental, entre a ilha de Marajó e o rio Xingu (Figura 2). As coordenadas geográficas da área de TPA são 1°40'45,5"S e 51°20'71"W. O clima é quente e úmido, com temperatura média entre 25°C e 35°C. Nesta área foram catalogados mais de 27 sítios TPAs que atestam a ocupação humana da região por povos pré-colombianos (KERN; COSTA 1997; SILVEIRA et al., 2002). Esse sítio TPA é do tipo sambaqui e é conhecido como Sítio Mina I (sítio sambaqui – acúmulo de conchas, antes denominada Mina de Sarnambi, devido às conchas serem retiradas para a fabricação de cal). Ele está incluído entre os sítios catalogados na Floresta Nacional de Caxiuanã. Apesar de atualmente não haver ocupação desta área, ela possui plantações de seringueiras, laranja, açaí, buriti, etc.



Figura 1- Localização do município de Presidente Figueiredo-AM

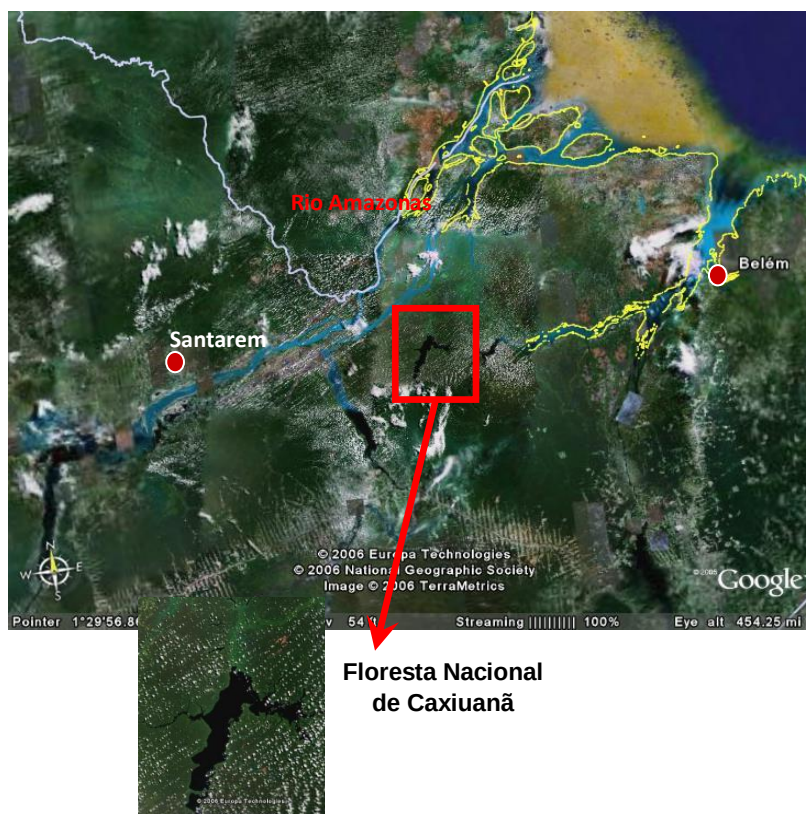


Figura 2 - Localização da Floresta Nacional de Caxiuanã. Fonte: Google

4.2 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletadas no dia 31/08/2006 pela seguinte equipe: Raphael Medau (CENA), Fabiana Cannavan (CENA), Brendan O'Neill (Cornel) e Gilma D'Aquino (Museu Goeldi). Após a coleta, as amostras foram acondicionadas, armazenadas sob baixa temperatura (4°C) e enviadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – CENA/USP.

Foram feitas duas coletas de solos TPA no sítio Lagoa Balbina, com amostras de 10 e 20 cm de profundidade (Figura 3). Na área de Floresta Nacional de Caxiuanã – sítio Mina I, também foram realizadas duas coletas de solos, com amostras de 10 e 20 cm de profundidade.

As coletas foram realizadas com tubos de PVC (5 cm de comprimento por 50 mm de diâmetro) previamente esterilizados, em uma trincheira de 1 x 1 m e, de aproximadamente 60 cm de profundidade (Figura 4), com cinco repetições em cada profundidade, totalizando 40 amostras. Embora a coleta tenha sido feita em 5 repetições, neste trabalho foram utilizadas apenas 3 repetições.



Figura 3. A vegetação é sempre exuberante onde existe Terra Preta. À direita, Jean Peixoto (UFAM-AM) prepara a trincheira para a coleta de amostras de solo TPA ao longo do perfil, após a limpeza do terreno. Sítio localizado na Lagoa Balbina – Sítio Terra Preta, Hidroelétrica de Balbina, AM

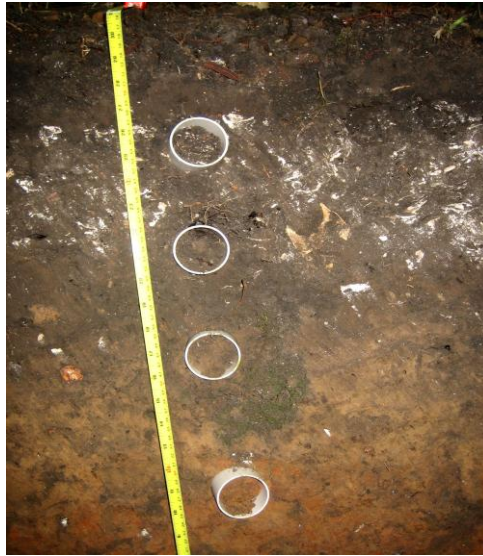


Figura 4 - Coleta de TPA realizada no Sítio Mina I. Este sítio está localizado no Parque Nacional de Caxiuanã - Pará

4.3 SEPARAÇÃO DO CARVÃO PIROGÊNICO DE TPA

Com auxílio de uma pinça de ponta fina autoclavada, 0,25 g de carvão pirogênico foi segregado de cada amostra de TPA (Figura 5). Como estamos trabalhando com duas profundidades diferentes (10 cm e 20 cm), e em cada profundidade há uma triplicata de amostras de solo, foram obtidas, seis amostras de carvão pirogênico segregado para o sítio Mina I e seis amostras para o sítio da Lagoa Balbina. Durante a separação deste carvão foi tomado o cuidado na armazenagem do mesmo antes da extração do DNA genômico total, de forma a não afetar drasticamente a microbiota presente no carvão. Esta armazenagem foi feita com auxílio do aparelho Biochiller que resfriou a amostra de carvão a 0°C. Imediatamente após a obtenção de 0,25 g de carvão para cada amostra, foi realizada a extração do DNA genômico total.



Figura 5 - Separação do carvão pirogênico da TPA

4.4 EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL DO CARVÃO PIROGÊNICO

O DNA total das 12 amostras de carvão pirogênico obtidos do sítio Mina I e Lagoa Balbina foi extraído com o Power Soil DNA Isolation Kit (MOBio), de acordo com as instruções do fabricante, brevemente descrito abaixo.

Em microtubo de 2 mL contendo micro-esferas de vidro, foram adicionados 0,25 g de amostras de carvão pirogênico, agitando-se gentilmente para homogeneização. Foram adicionados 60 μ L de solução C1 e o tubo foi agitado por 10 minutos. Após, as amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm por 30 segundos e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. 250 μ L de solução C2 foram adicionados, o tubo foi agitado por 5 segundos e incubado a 4°C por 5 minutos. As amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm por 1 minuto e o sobrenadante transferido para tubo novo. Foram adicionados 200 μ L de solução C3, o tubo foi agitado e incubado a 4°C por 5 minutos. Novamente, as amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm por 1 minuto e o sobrenadante transferido para tubo novo. 1200 μ L de solução C4 foram adicionados e o tubo foi agitado por 5 segundos. Todo o material foi transferido para uma coluna (com filtro) contendo um tubo coletor e centrifugado a 14.000 rpm por 1 minuto. Essa etapa foi repetida por três vezes. Em seguida, 500 μ L de solução C5 foram adicionados e o tubo foi centrifugado a 14.000 rpm por 30 segundos. O sobrenadante foi descartado e o tubo foi centrifugado novamente a 14.000 rpm por 1 minuto. O tubo coletor foi descartado e a coluna transferida para novo tubo. Para eluição do DNA foram

adicionados 100 μ L de solução C6, centrifugado a 14.000 rpm por 30 segundos e a coluna foi descartada.

Dois Mixes de DNA foram obtidos, um para cada região de estudo, a partir das duas triplicatas de coleta referente aos solos de profundidade e 10 cm e 20 cm (Figura 6).

Para a quantificação do DNA extraído, uma alíquota de 5 μ L de DNA adicionada de 3 μ L de tampão de carregamento (0,025% de azul de bromofenol e 50% de glicose) foi analisada através de eletroforese em gel de agarose 1%, contendo brometo de etídio (0,5 μ g/mL de gel). Como padrão de tamanho de DNA foi utilizado o marcador molecular λ Hind/III. O gel foi documentado através do programa “Multi Analyst” do Flúor-STM Multimager (BioRad, Hercules, California, E.U.A.).

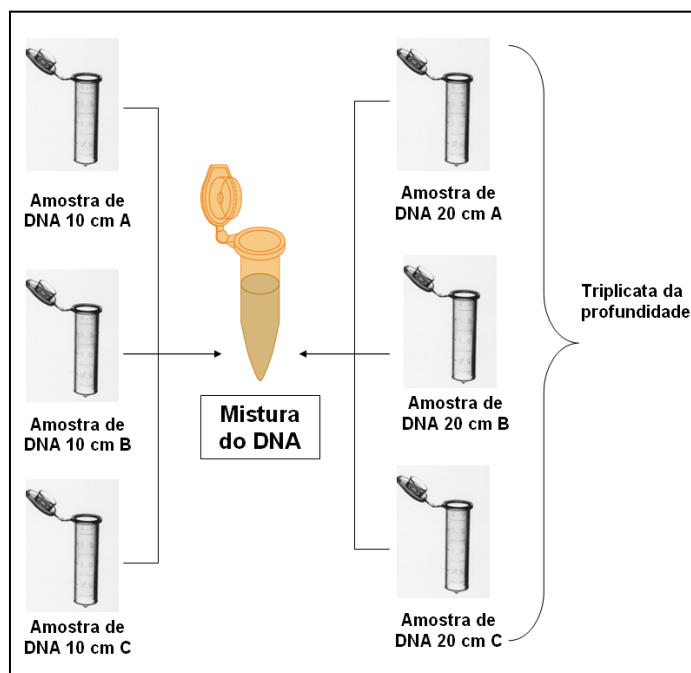


Figura 6 - Esquema da obtenção do Mix de DNA para amostras de carvão de cada área de estudo.

4.5 AMPLIFICAÇÃO DO GENE 16S rRNA

A amplificação do gene 16S rRNA foi realizada para as 12 amostras de DNA obtidas a fim de verificar a qualidade do DNA extraído. Para a realização da clonagem gênica outra amplificação foi feita com as duas amostras do Mix de DNA.

A reação de amplificação do gene 16S rRNA das amostras de solo foi realizada em solução contendo 2,5 μ L de tampão para PCR 10X; 0,2 mM de cada dNTP; 3 mM de $MgCl_2$;

1,5 U de Platinum Taq DNA Polimerase (Invitrogen); 10 ng de DNA; 5 pmol de primer fd1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (WEISBURG et al., 1991); água Milli-Q esterilizada para um volume final de 25 µL. O DNA utilizado na reação constituiu-se de uma mistura das três repetições, nas duas profundidades. A reação foi feita em termociclador (GeneAMP PCR System 9700 - Applied Biosystems) nas seguintes condições: 94°C por 4 minutos, 25 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 55°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 2 minutos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Ao final do programa a amostra permaneceu no termociclador a 4°C. Os 25 µL do produto amplificado foram aplicados em gel de agarose 1%, utilizando como padrão de tamanho de DNA o marcador molecular low mass. O gel foi documentado através do programa "Multi Analyst" do Flúor-STM Multimager (BioRad, Hercules, California, E.U.A.).

4.6 PURIFICAÇÃO DO PRODUTO DA PCR

Após a obtenção do produto da PCR, obtido do Mix de DNA, foi feita a purificação utilizando Kit GFX PCR DNA and Gel Band Purification (Amersham Biosciences), conforme as instruções do fabricante. Esta purificação foi feita cortando-se as bandas contendo o produto da PCR, com auxílio de bisturi. Em seguida, o cubo de gel contendo a banda foi transferido para microtubo previamente pesado. Para cada 1 mg de cubo de gel foi adicionado 1µL de tampão de captura e incubado a 60°C por 15 minutos. A mistura foi transferida para uma coluna GFX (com filtro) contendo um tubo coletor, e centrifugada por 30 segundos a 14.000 rpm. O material que passou pela coluna foi descartado. À coluna, foram adicionados 500 µL de tampão de lavagem e centrifugados por 30 segundos a 14.000 rpm por duas vezes. A coluna foi transferida para um novo microtubo e para eluição do DNA foram adicionados 50 µL de TE (Tris-HCL 1M, EDTA 0,5 M). A amostra foi incubada por 1 minuto a temperatura ambiente e centrifugada por 1 minuto a 14.000 rpm. Cinco microlitros (5 µL) do material purificado foram quantificados em gel de agarose 1%, contendo marcador de peso molecular pGEM (Applied Bioystems). O gel foi documentado através do programa "Multi Analyst" do Flúor-STM Multimager (BioRad, Hercules, California, E.U.A.). O produto purificado foi armazenado a -20°C até a sua utilização.

4.7 CLONAGEM DO PRODUTO DA PCR

O produto amplificado e purificado da PCR do gene 16S rRNA, obtido do Mix de DNA genômico, foi clonado em vetor pGEM-T Easy, de acordo com as instruções do Kit pGEM-T Easy Vector (Promega). A reação de ligação do produto de PCR purificado ao vetor pGEM –

T consistiu de: 1 µL de T4 DNA ligase (3U/µL); 5 µL de tampão T4 ligase 1X, aproximadamente 100 ng de produto de PCR purificado e 54 ng de vetor pGEM-T.

Para saber a quantidade necessária em ng do produto de PCR a ser utilizado na clonagem foi realizada a seguinte equação:

$$\frac{\text{ng de vetor} \times \text{tamanho do inserto (kb)}}{\text{tamanho do vetor (kb)}} \quad \times \text{taxa molar inserto:vetor}$$

A taxa molar inserto:vetor utilizada foi de 3:1. A reação foi incubada a 4°C “overnight” para obtenção de uma maior eficiência de ligação.

4.8 PREPARO DE CÉLULAS COMPETENTES DE *E.coli*

Células competentes de *E.coli* DH5α foram preparadas quimicamente utilizando o método de cloreto de cálcio (SAMBROOK et al., 1989). Células de uma colônia isolada de *E.coli*, crescidas anteriormente em placa de Petri contendo meio Luria Broth – LB (1% de triptona; 0,5% de extrato de levedura; 0,25% de NaCl; 4% de agar), foram inoculadas em 10 mL de meio LB líquido, o qual foi incubado a 37°C por 16 horas, sob agitação constante de 200 rpm (New Brunswick Scientific – C24 Incubator Shaker, Edison NJ, USA). Cem microlitros da cultura crescida foram adicionados a 25 mL de meio LB líquido para reinoculação, mantendo-se o frasco incubado a 37°C por aproximadamente 4 horas, sob agitação constante de 200 rpm, até atingir uma absorbância de 0,5 a 600 nm. As células foram transferidas para tubo de 50 mL e incubadas no gelo por 10 minutos. O tubo foi centrifugado a 3.500 rpm, por 15 minutos a 15°C. O sobrenadante foi descartado e foi adicionado 1/2 volume de uma solução gelada e esterilizada de CaCl₂/glicerol (50 mM de CaCl₂ e 10% de glicerol). As células foram incubadas no gelo por 15 minutos e centrifugadas a 3.500 rpm, por 15 minutos a 15°C. As células foram gentilmente ressuspensas em 1/5 do volume da solução gelada de CaCl₂/glicerol. Alíquotas de 100 µL foram transferidas para microtubos e armazenadas a -80°C.

4.9 TRANSFORMAÇÃO DE *E.coli*

A eficiência de transformação das células foi medida usando protocolo de transformação através de choque térmico (SAMBROOK et al., 1989) com plasmídeo

comercial de concentração conhecida. A eficiência foi estimada em 10^8 transformantes por μg de DNA.

O vetor contendo o inserto foi inserido em células competentes de *E.coli* DH5 α através de choque térmico (SAMBROOK et al., 1989). O processo de transformação foi feito da seguinte forma: 2 μL do produto de ligação e 50 μL de células competentes foram adicionados em microtubo, misturado gentilmente e incubado no gelo por 30 minutos. Em seguida o microtubo foi incubado a 42°C em banho-maria por 50 segundos e posteriormente incubado, novamente, no gelo por 2 minutos. Foram adicionados 450 μL de meio SOC (SAMBROOK et al., 1989) a temperatura ambiente e incubado por 2 horas a 37°C sob agitação de 200 rpm.

As células competentes transformadas foram cultivadas em placas de Petri contendo meio LB sólido, acrescido de ampicilina, X-Gal e IPTG (todos em concentração final de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). As células foram incubadas em estufa a 37°C por 16 horas e, após este período, as placas foram armazenadas a 4°C para facilitar a visualização e a seleção das colônias azuis/brancas.

4.10 SELEÇÃO E ESTOQUE DOS CLONES

Cada placa foi dividida em quadrantes de forma permitir uma melhor e ideal representatividade durante a seleção das colônias.

Apenas as colônias brancas, as quais devem conter vetor/inserto, foram selecionadas para a continuação do trabalho. As colônias foram coletadas com auxílio de palitos estéreis e transferidas para microplaca “Deep – Well” com 96 poços, contendo 1 mL de meio Circle Grow (Bio 101), acrescido com ampicilina (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A placa foi selada com filme adesivo e cada poço foi perfurado com agulha estéril para a aeração da bactéria. Os clones foram incubados sob agitação orbital (shaker) a 320 rpm, 37°C, por 22 horas.

Após o crescimento das células, 100 μL foram transferidos para placa estéril contendo 100 μL de glicerol 50%. A placa foi selada e as células estocadas a -80°C.

4.11 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL

Após a estocagem dos clones, foi feita a extração do DNA plasmidial das culturas (BIRNBOIM; DOLY, 1979), segundo protocolo modificado. A placa foi centrifugada a 4.000 rpm, por 6 minutos, a 20°C. O meio de cultura foi descartado e verificou-se a presença de

precipitado. A placa foi mantida invertida sobre papel absorvente por 5 minutos. Em cada cavidade foram adicionados 240 μL de solução GTE (Glicose 50 mM; Tris-HCl 25 mM, pH 8,0; EDTA 10 mM, pH 8,0) e agitou-se vigorosamente por 2 minutos. O material foi centrifugado 4.000 rpm, por 6 minutos, a 20°C, o sobrenadante descartado e a placa foi novamente invertida sobre o papel absorvente por 5 minutos. As células foram ressuspensas em 80 μL de solução GTE e agitou-se por 2 minutos. Em uma microplaca de fundo U (tipo Elisa) foram adicionados 2,5 μL de RNase em cada cavidade (10 mg.mL⁻¹) e 60 μL de cada suspensão de células. Foram adicionados 60 μL de NaOH/SDS (NaOH 0,2 N; SDS 1%) e as placas foram invertidas por 10 vezes, incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente e centrifugadas a 4.000 rpm, por 30 segundos, a 20°C. Em seguida, foram adicionados 60 μL de acetato de potássio 3 M, pH 4,8 gelado (29,44 g de KOAc foram dissolvidos em 60 mL de água e adicionados 11,5 mL de ácido acético glacial; o volume foi completado para 100 mL com água ultrapura Milli-Q autoclavada) e novamente foi feita mistura por inversão. A placa contendo os plasmídeos foi incubada por 10 minutos a temperatura ambiente, centrifugada a 4.000 rpm, por 30 segundos, a 20°C e incubada em estufa a 90°C por exatos 30 minutos. Após esse período as amostras foram colocadas em gelo por 10 minutos e centrifugadas a 4.000 rpm, por 4 minutos, a 20°C. Todo o volume das amostras foi transferido para microplaca com filtro (PVDF - 0.2 μm – Millipore) e centrifugado a 4.000 rpm, por 4 minutos, a 20°C. Ao material filtrado foram adicionados 110 μL de isopropanol absoluto, os quais foram misturados por inversão e centrifugados a 4.000 rpm, por 45 minutos, a 20°C. Depois da centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 200 μL de etanol 70% gelado e, posteriormente, foi centrifugado a 4.000 rpm, por 5 minutos, a 20°C. O sobrenadante foi descartado e a placa foi centrifugada invertida sobre o papel absorvente a 900 rpm, por 3 minutos, a 20°C. As amostras foram deixadas por 1 hora à temperatura ambiente para secagem e, em seguida, ressuspensas em 40 μL de água ultrapura Milli-Q autoclavada. A placa foi incubada por 16 horas a temperatura ambiente para solubilização do material, e armazenada a -20 °C.

Para verificação e quantificação da extração do DNA plasmideal, uma alíquota de 2 μL de DNA adicionada de 3 μL de tampão de carregamento, foi aplicada em gel de agarose 1%. O marcador de peso molecular pGEM (Applied Biosystems) foi aplicado para comparação de intensidade do material. O gel foi documentado através do programa “Multi Analyst” do Flúor-STM Multimager (BioRad, Hercules, California, E.U.A.). O produto purificado foi armazenado a -20°C até posterior utilização.

4.12 PCR DE INSERTO

Para confirmação da presença de inserto no vetor foram realizadas reações de PCR. A reação foi feita da seguinte maneira: 2,5 µL de tampão para PCR 10X; 0,2 mM de cada dNTP; 3 mM de MgCl₂; 1,5 U de Platinum Taq DNA Polimerase (Invitrogen); 10 ng de DNA; 5 pmol de primer fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (WEISBURG et al., 1991); água Milli-Q esterilizada para um volume final de 25 µL. A reação foi feita em termociclador (GeneAMP PCR System 9700 – Applied Biosystems) nas seguintes condições: 94°C por 4 minutos, 25 ciclos com desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 55°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 2 minutos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Ao final do programa a reação permaneceu no termociclador a 4°C. A reação de PCR foi verificada em gel de agarose 1%, utilizando como padrão de tamanho de DNA o marcador molecular 1 kb Plus DNA Ladder™ (Invitrogen Life Technologies, São Paulo, Brasil). O gel foi documentado através do programa “Multi Analyst” do Flúor-S™ Multimager (BioRad, Hercules, California, E.U.A.).

4.13 PCR DE SEQUENCIAMENTO PARCIAL E PRECIPITAÇÃO

A reação foi feita em microplaca de 96 amostras da seguinte maneira: 200 ng de DNA plasmidial; 2 µL de DYEnamic (DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit, Amersham, Biosciences GE); 1 µL de primer a 5 pmol fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'); 3 µL de buffer de diluição 2,5X (400 mM Tris-HCl pH 9.0; 10 mM MgCl₂) e água Milli-Q esterilizada para um volume final de 10 µL. A reação foi feita em termociclador nas seguintes condições: 30 ciclos com desnaturação a 95°C por 20 segundos, anelamento a 55°C por 15 segundos, extensão a 60°C por 60 segundos. Ao final do programa as amostras permaneceram no termociclador a 4°C.

Após a reação, as amostras foram precipitadas para o sequenciamento conforme instrução do fabricante. Para isto, 2 µL de uma solução acetato de sódio/EDTA e 60 µL de etanol absoluto foram adicionados. O material foi misturado em vortex e centrifugado a 4.000 rpm, por 45 minutos a temperatura ambiente. O sobrenadante foi removido e a placa foi centrifugada invertida, sob papel absorvente, a 900 rpm, por 30 segundos a temperatura ambiente. Em seguida, 150 µL de etanol 70% foram adicionados e centrifugados a 4000 rpm, por 15 minutos a temperatura ambiente. O sobrenadante foi removido e a placa foi centrifugada invertida, sob papel absorvente, a 900 rpm, por 30 segundos a temperatura ambiente. As amostras foram secas no termociclador a 40°C, por 10 minutos.

As amostras foram ressuspensas em 10 μ L de Hi-Di Formamide (Applied Biosystems) e agitadas em vortex por 10 minutos, temperatura ambiente. O sequenciamento dos clones foi realizado no sequenciador capilar automático modelo ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer – Applied Biosystems/HITACHI.

4.14 ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS

A verificação das sequências foi realizada com base nos eletroferogramas gerados pelo software Sequencing Analysis 3.0. Essas sequências foram editadas pelos programas Phred/Phrap/Consed em sistema operacional Linux (EWING; GREEN, 1998; EWING et al., 1998; GORDON et al., 1998), para remoção de sequências que apresentaram baixa qualidade. O nível de exigência mínima foi de 400 bases com qualidade Phrap acima de 20 (1 erro a cada 100 bases lidas), para posteriores análises. As sequências parciais da região 16S rRNA obtidas foram comparadas com as depositadas no “Ribosomal Database Project” X (RDPX) através do programa “Classifier” (COLE et al., 2009). Este programa está disponível gratuitamente no site (<http://rdp.cme.msu.edu/>) e vem sendo bastante utilizado pelos pesquisadores da área. O RDP possui um sistema de classificação taxonômica (RDP Hierarchy) que segue a proposta do Manual de Bergeys (GARRITY et al., 2004), no qual os principais níveis taxonômicos são: Domínio, Filo, Classe, Ordem, Família, Gênero e Espécie. Não somente as duas bibliotecas do carvão pirogênico obtidas foram analisadas pelo RDPX como também as duas bibliotecas (BITPA e MITPA) referentes ao solo TPA construídas por Canavann (2007). Estas duas bibliotecas já tinham sido anteriormente analisadas pelo “Ribosomal Database Project” II (RDP II), mas este programa foi atualizado e sua matemática refeita, formando assim o RDPX, que fornece resultados mais consistentes.

O número de Unidade Taxonômicas Operacionais (UTOs) foi determinado utilizando-se o programa DOTUR (“Distance Based OTU and Richness Determination”) (SCHOLSS et al., 2005), considerando-se uma distância evolutiva de 0,03 através do algoritmo de “Furthest Neighbor”. Para tanto, todas as bibliotecas (BICAR, BITPA, MICAR e MITPA) foram alinhadas utilizando o programa Clustal X 2.0 (LARKIN et al., 2007). O alinhamento foi utilizado para se calcular uma matriz de distância evolutiva através do DNADIST, programa do pacote PHYLIP 3,63, usando o algoritmo de Jukes e Cantor.

A análise dos dados ecológicos foi realizada utilizando o programa DOTUR, onde as estimativas de riqueza (*ACE*, *Chao 1*, *Jackknife* e *rarefação*) e a medida de diversidade de UTOs (índice de Shannon e Simpson) foram calculadas. Para isto, foi necessário fazer um

novo alinhamento no programa Clustal X 2.0 (LARKIN et al., 2007), de forma que as bibliotecas BICAR e BITPA; MICAR e MITPA; BICAR e MICAR fossem analisadas separadamente no programa DOTUR, isto é, duas a duas. Com esse alinhamento também foi feito um agrupamento filogenético por meio do programa MEGA4 para os estudos 1 e 2 (TAMURA et al., 2007).

Para a verificação de quão diferentes são as bibliotecas, foi usado o programa S-Libshuff versão 1.22. Este está disponível em (<http://libshuff.mib.uga.edu/>) (SINGLETON et al., 2001). A análise de PCA - "Principal Component Analysis" - também foi feita para a observação de como as sequências se agrupam.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL DE CARVÃO PIROGÊNICO

O resultado da extração do DNA genômico total do carvão pirogênico está ilustrado na Figura 7 (a). Obteve-se DNA sem degradação, livre de RNA, e todas as amostras apresentaram uma concentração aproximada de 50 ng/ μ L. Foi possível a amplificação do gene 16S rRNA para todas amostras de DNA extraídas (Figura 7b). Na Figura 7 (a) não está ilustrado o DNA extraído de carvão pirogênico a 20 cm do sítio da Lagoa Balbina, mas, este apresentou qualidade e concentração semelhantes às demais amostras. Dificuldade foi observada durante a separação do carvão pirogênico de solo TPA devido ao pequeno tamanho dos fragmentos de carvão e a necessidade de obtenção de 0,25 g para extração, o que tornou esta etapa da pesquisa mais onerosa. Uma atenção especial foi dada durante a separação do carvão, de modo que os fragmentos recém separados foram imediatamente armazenadas em aparelho refrigerador Biochiller e assim, obter maior conservação da microbiota ali existente.

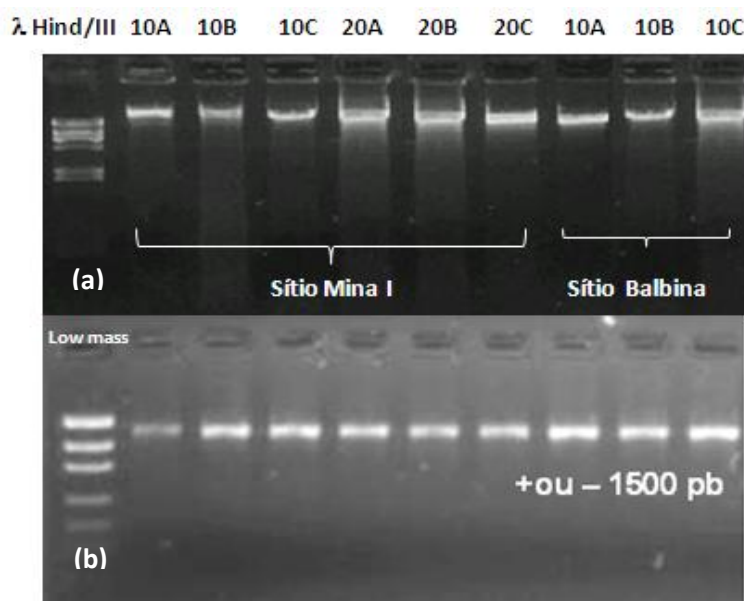


Figura 7- (a) Eletroforese em gel de agarose das amostras de DNA genômico referentes ao sítio Mina I e Balbina. (b) Eletroforese dos produtos de PCR do gene 16S rRNA. 10 = profundidade de 10 cm; e 20 = profundidade de 20 cm; A, B e C = repetições

A Figura 8 mostra o resultado da PCR a partir dos Mixes de DNA dos carvões pirogênicos obtidos do sítio Mina I e do sítio Lagoa Balbina, assim como, o resultado da purificação desse produto de PCR. Não foi verificada nenhuma dificuldade durante esta etapa.

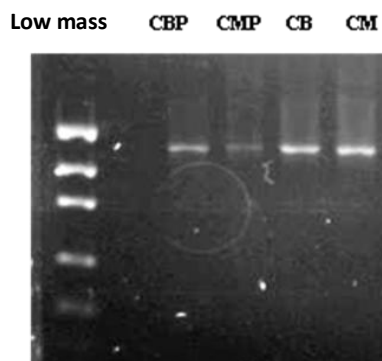


Figura 8 - Eletroforese dos produtos de PCR 16S rRNA obtidos do mix de DNA do carvão pirogênico e sua purificação. CBP = produto de PCR purificado Lagoa Balbina; CMP = produto de PCR purificado Mina I; CB = produto de PCR sem purificação Lagoa Balbina; CM = produto de PCR sem purificação Mina I

5.2 SELEÇÃO DE CLONES APÓS CLONAGEM

Apenas as colônias brancas, as quais devem conter vetor/inserto, foram selecionadas. As colônias foram coletadas com auxílio de palitos estéreis e transferidas para microplaca “Deep - Well” com 96 poços. Foram selecionadas 384 colônias brancas para o sítio Mina I e 384 colônias para o sítio Lagoa Balbina. Não foi obtido sucesso na primeira tentativa de clonagem e seleção de colônias, visto que as placas de Petri apresentaram umidade elevada causando agregação das colônias. Além disso, uma leve contaminação observada. Portanto, a repetição desta etapa foi necessária para obtenção de resultados mais confiáveis. Cada placa foi dividida em quadrantes de forma a permitir uma melhor e ideal representatividade durante a seleção aleatória das colônias.

5.3 EXTRAÇÃO DNA PLASMIDIAL

A extração do DNA plasmidial foi feita através de uma série de etapas que envolveram o crescimento das amostras, a lise bacteriana e o tratamento com substâncias que separam o DNA plasmidial dos outros constituintes celulares, sendo estes tratamentos intercalados por centrifugações que permitiam o isolamento progressivo do DNA, com relação aos outros tipos de moléculas.

A extração do DNA plasmidial foi feita para as 768 colônias. Entretanto, apenas 539 apresentaram concentrações ideais que permitissem a execução das etapas posteriores do trabalho. Estas apresentaram concentração entre 20 e 40 ng/ μ L.

O resultado da extração de DNA plasmidial de 24 colônias está exposto na Figura 9. Todas as 24 amostras apresentaram boa qualidade e em concentrações adequadas para análise. As amostras 1, 5-16, 19-24 apresentaram concentração de aproximadamente 40 ng/ μ L e as amostras 2, 3, 4, 17 e 18 apresentaram concentração de 20 ng/ μ L.

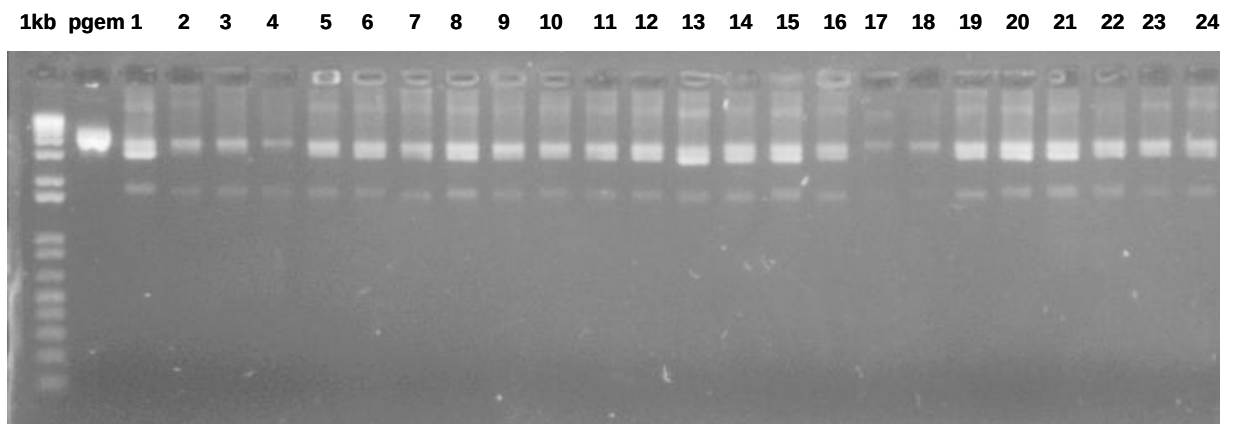


Figura 9 - Eletroforese das amostras de DNA plasmidial extraído, referentes a 24 colônias

5.4 PCR DE INSERTO

A PCR de inserto foi feita a fim de verificar a eficiência da clonagem. Como já foi dito anteriormente, 539 colônias apresentaram concentrações de DNA plasmidial ideais para continuação dos experimentos. Destas, 300 colônias foram selecionadas ao acaso para realização da PCR de inserto. Uma pequena amostra do resultado desta PCR está na eletroforese mostrada na Figura 10 na qual pode ser observada a eficiência da mesma e da clonagem, já que se obteve amplificação (ao redor de 1500 pb) para a maioria das amostras. Após esta etapa as sequências do gene 16S rRNA das 539 amostras foram sequenciadas parcialmente e analisadas.

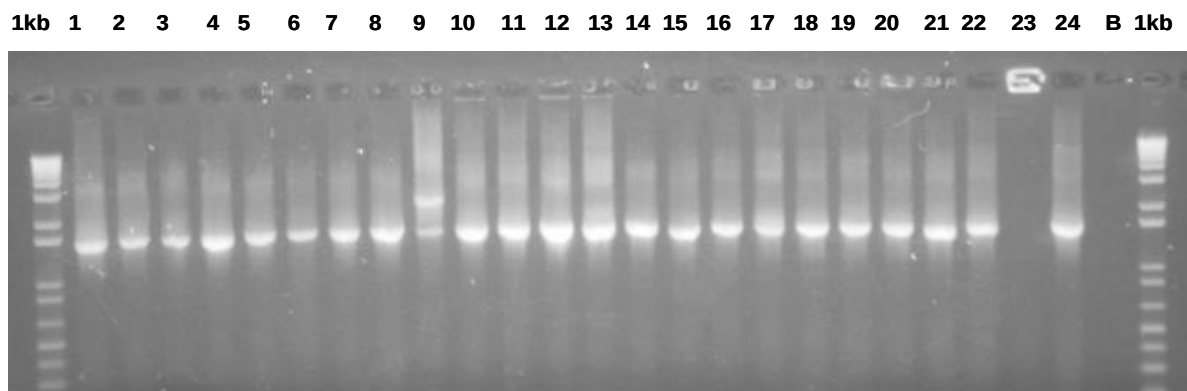


Figura 10- Eletroforese dos produtos da PCR de inserto. B = branco da reação

5.5 CONSTRUÇÃO DA BIBLIOTECA 16S rRNA

No total foram construídas duas bibliotecas a partir dos produtos de PCR, utilizando vetor pGEM-T, sendo uma biblioteca de carvão pirogênico oriundo de solo TPA da região de Caxiuanã - Mina I (MICAR) e outra de carvão pirogênico de solo TPA da região da Lagoa Balbina (BICAR). As bibliotecas MICAR e BICAR foram compostas por 242 e 224 clones respectivamente. A nomenclatura foi dada através da identificação do local das amostras BI (Lagoa Balbina) e MI (Mina I), do tipo da amostra CAR (carvão pirogênico) e da placa (números e letras). A nomenclatura dos 96 clones em cada placa foi feita indicando as linhas de A a H e as colunas de 1 a 12. Por exemplo, a amostra BICAR1E corresponde ao local BI, ao carvão, a placa 1, linha E e coluna 01. As duas bibliotecas do carvão pirogênico foram comparadas com as duas bibliotecas anteriormente obtidas em nosso laboratório para o solo TPA, cuja nomenclatura das bibliotecas seguiu o mesmo critério acima, distinguindo-se apenas pelo tipo da amostra, no caso, TPA.

5.6 SEQUENCIAMENTO PARCIAL DOS CLONES

Desde a descoberta da “Polymerase Chain Reaction” (PCR) e do sequenciamento do DNA, as diferenças na sequência do gene que codifica para o RNAr 16S, componente da subunidade menor do ribossomo de procariontes, têm sido utilizadas para a identificação, classificação filogenética e inferências evolutivas de espécies, gêneros e famílias desses organismos (WOESE, 1987; AMANN et al., 1995).

A reação de sequenciamento foi feita em grande escala, 96 amostras por placa. Um total de 539 clones foi sequenciado parcialmente, dos quais 466 foram considerados clones válidos devido ao sucesso do sequenciamento.

Os clones foram sequenciados utilizando o oligonucleotídeo fD1. O sequenciamento parcial é justificado uma vez que o objetivo foi avaliar a diversidade bacteriana presente nas amostras e não realizar um estudo evolutivo detalhado.

Posteriormente aos processos de análises da qualidade das sequências pelos programas Phred/Phrap/Consed em sistema operacional Linux, foram obtidos 242 e 224 clones para as bibliotecas do carvão do sítio Mina I e Lagoa Balbina, respectivamente.

5.7 ANÁLISE DE DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES BACTERIANAS

5.7.1 CÁLCULO DO NÚMERO DE UTOS TOTAIS

O número de Unidades Taxômicas Operacionais (UTOs) foi determinado utilizando-se o programa DOTUR ("Distance Based OTU and Richness Determination") (SCHLOSS et al., 2005), considerando-se uma distância evolutiva de 0,03 através do algoritmo de "Furthest neighbor". O número de UTOs encontrados nas bibliotecas BICAR, MICAR, BITPA e MITPA foi de 330 UTOS. Para tanto, todas as sequências das quatro bibliotecas foram alinhadas utilizando o programa Clustal X 2 (LARKIN et al., 2007). O alinhamento foi utilizado para se calcular uma matriz de distância evolutiva através do DNADIST, programa do pacote PHYLIP 3,63, usando o algoritmo de Jukes e Cantor. As UTOs, assim como os seus respectivos, clones estão mostradas em anexo.

5.7.2 ESTUDO 1- SÍTIO LAGOA BALBINA

Nesta área de estudo o carvão pirogênico analisado foi isolado de solo TPA onde a vegetação é formada de floresta tropical e o clima é quente e úmido com temperatura média entre 25°C e 35°C. A análise química desse solo foi realizada por Canavann (2007), que verificou que o pH deste é de 4,65. O valor de $M.O_3 = 52,5 \text{ g/dm}^3$, $P = 16 \text{ g/dm}^3$, $K = 0,6 \text{ g/dm}^3$, $Ca = 46 \text{ g/dm}^3$, $Mg = 6,5 \text{ g/dm}^3$, $Al = 3 \text{ g/dm}^3$, $H+Al = 93 \text{ g/dm}^3$, Soma de Bases (S-B) = $53,1 \text{ g/dm}^3$ e Capacidade de Troca Catiônica (CTC) = $146,1 \text{ g/dm}^3$ (CANNAVAN, 2007). Com o solo nessas condições, os seguintes resultados foram obtidos:

5.7.2.1 ANÁLISE RDPX

A comparação das 224 sequências de 16S rRNA obtidas neste trabalho para o carvão pirogênico isolado de TPA do sítio Lagoa Balbina, foi feita através do banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX, pelo programa "Classifier". A confiabilidade

desse programa apresenta os mais altos níveis taxonômicos (COLE et al., 2009). Os resultados das comparações obtidas em nível de filo são mais confiáveis do que aqueles obtidos em qualquer outro nível (Classe, Ordem, família, etc.). Os resultados completos da comparação das sequências com o programa “Classifier” são apresentados em Anexo. Como as sequências da biblioteca BITPA obtidas por Cannavan (2007) foram utilizadas para comparação com as obtidas neste estudo, estas também foram lançadas no programa “Classifier” do RDPX. Estas sequências tinham sido classificadas, na época por meio do programa existente no RDP II, hoje considerado obsoleto.

De acordo com a análise do programa “Classifier” do RDPX, todas as sequências analisadas do sítio Balbina pertencem ao Domínio Bacteria com 100% de confiança. Os Filotipos bacterianos encontrados nas bibliotecas BICAR e BITPA estão apresentados na Tabela 1.

Aqueles clones que apresentaram uma porcentagem de identificação do filo igual ou menor que 75% foram englobados em um grupo denominado “Não Classificados”. Portanto, as sequências que obtiveram uma pontuação de confiabilidade baixa podem representar sequências de genes 16S rRNA inéditas e podem indicar a presença de novos organismos nessas amostras de carvão que ainda não estão depositadas no banco de dados do RDPX.

De acordo com a análise do programa “Classifier” do RDPX os microrganismos desconhecidos predominaram na biblioteca BICAR, representando 26,5% das sequências (Figura 11 A).

Em uma nova análise das bibliotecas de solos TPA por meio do programa RDPX, verificou-se um resultado diferente ao encontrado em análises anteriores em nosso laboratório usando o RDPII. Enquanto o programa do RDPII mostrou que o número de microrganismos desconhecidos para a biblioteca BITPA corresponde a 41,6%, (CANNAPAN., 2007) o programa RDPX mostrou que esses valores correspondem a 9,5% (Figura 11B).

Portanto, é interessante ressaltar que as bibliotecas referentes ao carvão pirogênico apresentam um maior número de microrganismos não classificados em relação ao solo TPA, consistindo assim, uma rica fonte de estudos na descoberta de novos microrganismos.

Tabela 1 – Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico e solos do sítio Lagoa Balbina comparadas com banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX e número de filotipos encontrados em cada biblioteca

FILO	BICAR	BITPA
Acidobacteria	71	63
Actinobacteria	4	0
Chloroflexi	1	0
Firmicutes	23	66
Gemmatimonadetes	15	5
Nitrospira	10	1
OP10	0	1
Planctomycetes	0	0
Proteobacteria	31	19
Verrucomicrobia	10	12
WS3	0	0
Não Classificadas	59	17
Total	224	184

BICAR - carvão pirogênico de solo TPA do sítio Lagoa Balbina; **BITPA** – solo TPA do sítio Lagoa Balbina

O grande número de sequências desta natureza (Não classificados) encontrado neste estudo ressalta a necessidade dos estudos de diversidade e detecção destes microrganismos e reforça a idéia de que o mundo microbiano ainda é pouco conhecido. A confirmação de que as sequências desconhecidas encontradas no nosso trabalho sejam realmente inéditas só virá após o sequenciamento total do gene 16S rRNA, no entanto, esse estudo tem muito a somar à comunidade científica já que, embora tenha sido feito um sequenciamento parcial dos clones, o resultado mostra evidências de que existe algo a ser explorado mais a fundo.

O domínio Bacteria, é composto de 23 filos determinados com base nas sequências do 16S rRNA. Alguns destes filos consistem em uma única ou algumas poucas espécies enquanto outros filos como: Proteobacteria, Firmicutes e Actinobacteria incluem milhares de espécies as quais correspondem a 90-95% de todas as espécies de bactérias conhecidas (NUNES, 2006).

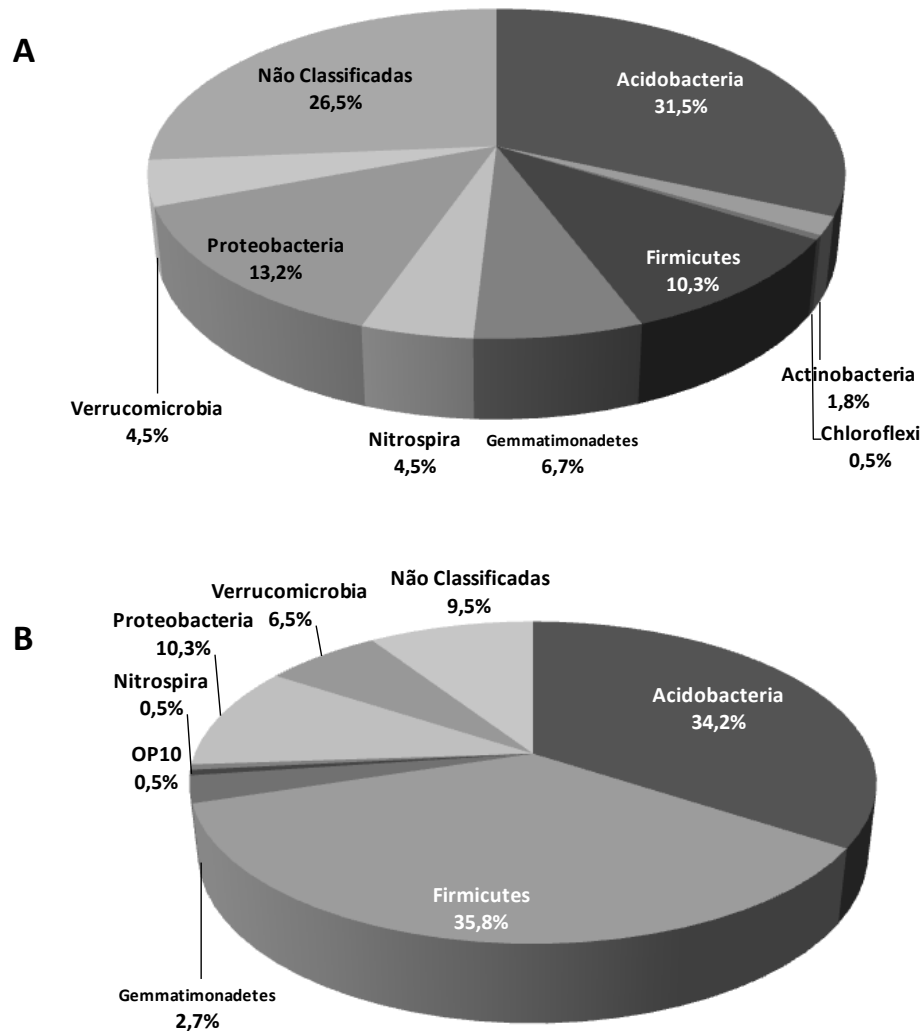


Figura 11 – Diversidade bacteriana em carvão pirogênico BICAR (A) e em solo TPA BITPA (B) do sítio Lagoa Balbina, com base na afiliação filogenética do RDPX

O filo predominante na biblioteca BICAR, Acidobacteria, correspondente 31,5% das sequências analisadas (Figura 11A). Já na biblioteca BITPA, o filo predominante foi Firmicutes, correspondendo a 36,3% das sequências (Figura 11B).

Na biblioteca BICAR os filos em destaque foram Proteobacteria 13,2%, Firmicutes 10,3%, Nitrospira 4,5%, Verrucomicrobia 4,5%, Actinobacteria 1,8% e Chloroflexi 0,5% (Figura 11A). Já na BITPA destacam-se Acidobacteria 34,2%, Proteobacteria 10,3%, Verrucomicrobia 6,5%, Gemmatimonadetes 2,7%, Nitrospira 0,5% e OP10 0,5% (Figura 11B).

Representantes do filo Gemmatimonadetes não foram encontrados nos estudos realizados por Kim et al. (2007), em solos de Terra Preta e solos de floresta Amazônica. No entanto, o estudo realizado por Cannavan (2007) observou a presença deste filo tanto em solo TPA como em solo adjacente. O presente trabalho também observou a presença deste filotipona biblioteca BICAR (15 filotipos), enquanto que na BITPA observou-se 5 filotipos.

A maioria dos estudos de diversidade microbiana no solo vem sendo feita utilizando amostras integrais de solo. Contudo, é provável que muitos processos microbianos no solo ocorram em microambientes. O trabalho realizado por Mummey et al. (2006) tentou localizar populações específicas em diferentes frações e compartimentos dentro do solo e evidenciou que microagregados são microambientes únicos que selecionam linhagens microbianas específicas. Além disso, outros estudos indicam que abordagens moleculares tendem a detectar preferencialmente organismos mais dominantes numa amostra de solo (O'DONNELL et al., 1995; DARREL et al., 1997; HOLBEN et al., 2004).

5.7.2.2 ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS

A estimativa do valor máximo de UTOs em um nível filogenético pode ser feita utilizando-se estatísticas capazes de extrapolar a relação de UTOs em função do número de sequências a partir da curva de rarefação ou de métodos não paramétricos. Neste trabalho a riqueza de filotipos (UTOs) foi verificada por meio do método de rarefação ao nível de 97% de similaridade e pelos métodos não paramétricos de estimativa ACE, Chao 1 e Jackknife.

Por meio do método de rarefação foi possível constatar uma menor riqueza de UTOs nas comunidades bacterianas presentes nas estruturas de carvão pirogênico quando comparado à riqueza de UTOs das comunidades bacterianas cujo habitat é o solo onde se encontram estes fragmentos de carvão (Figura 12). O aspecto ascendente das curvas não possibilita estabelecer a eminência do platô nas bibliotecas BICAR e BITPA, demonstrando assim, que o número de clones capazes de amostrar o máximo de UTOs presentes neste ambientes não pôde ser estabelecido com base neste gráfico. Roesch e colaboradores (2007) conseguiram atingir o platô após 40 mil clones sequenciados, porém, este trabalho foi realizado com pirosequenciamento, que possibilita sequenciar mais de 20 milhões de bases em 4,5 horas. No entanto, tais curvas revelaram uma diferença sutil entre os UTOs das bibliotecas BICAR e BITPA (Figura 12). Pode ser observado que as curvas se diferem claramente a partir de 50 clones avaliados (Figura 12).

Os valores obtidos com os índices de diversidade de Shannon e Simpson revelaram maior diversidade de UTOs na biblioteca BITPA se comparado ao valor para a biblioteca

BICAR, embora seus valores estejam muito próximos. Da mesma forma, os valores obtidos com os métodos não paramétricos ACE, Chao 1 e Jackknife para a estimativa de riqueza revelaram maior riqueza de UTOs para a biblioteca BITPA e menor para a BICAR (Tabela 2).

Embora os índices e estimativas de diversidade e riqueza possam dar medidas da composição da riqueza de microrganismos encontrados em diferentes bibliotecas e/ou áreas, eles não asseguram a composição das diferentes áreas, e não permitem aferir sobre diferenças encontradas para o conjunto de sequências de diferentes bibliotecas.

Para a verificação quanto às diferenças entre as bibliotecas, foi usado o programa S-Libshuff versão 1.22. Este está disponível em <http://libshuff.mib.uga.edu/> (SINGLETON et al., 2001). Através deste programa, as bibliotecas BICAR e BITPA foram comparadas entre si. Se os valores de P fornecidos pelo S-Libshuff, entre duas bibliotecas comparadas, for menor ou igual a 0,025 as duas bibliotecas são consideradas significativamente diferentes. No nosso trabalho verificou-se que estas bibliotecas são significativamente diferentes quanto à composição das comunidades com coeficiente de 95% entre $P = 0,05$.

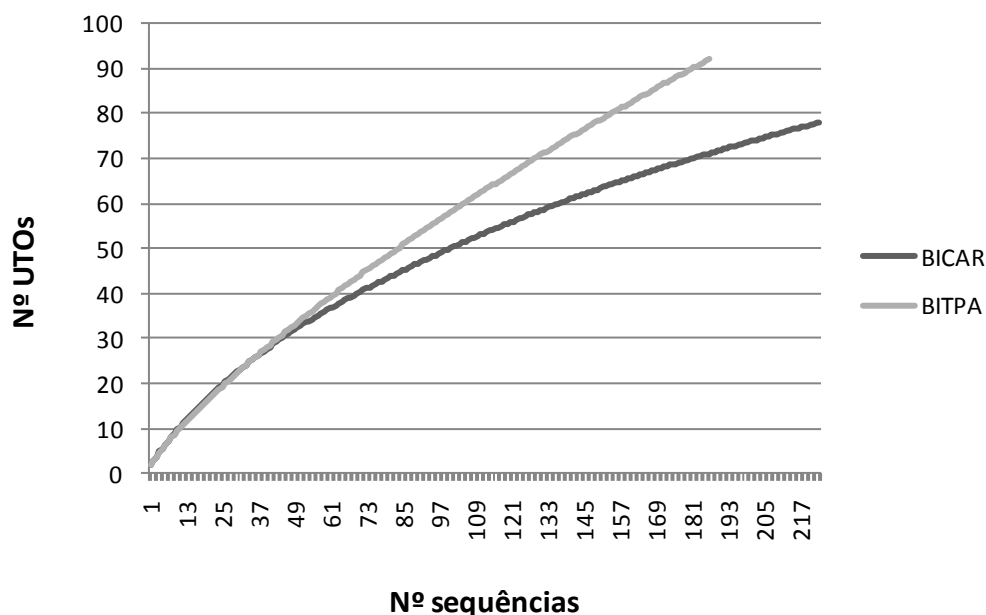


Figura 12 – Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas BICAR e BITPA

Tabela 2 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxômicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico (BICAR) e solo Terra Preta Antropogênica (BITPA) do sítio Lagoa Balbina

Bibliotecas	NS	NU	Estimativas de riquezas de UTOS			Índices de diversidade	
			<i>ACE</i>	<i>Chao1</i>	<i>Jackknife</i>	<i>Shannon</i>	<i>Simpson</i>
BICAR	224	77	136,63	124,31	135,52	3,8795	0,0387
BITPA	184	97	279,79	218,17	228,74	3,9149	0,0273

NS – número de sequências; NU – número de UTOs.

5.7.2.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA

O agrupamento filogenético apresentado na Figura 13, obtido através do programa Mega 4.0 (TAMURA et al., 2007), teve um intuito maior de facilitar a visualização do número de UTOs comuns e peculiares entre as bibliotecas BICAR e BITPA e não o de fazer uma análise filogenética detalhada. Para tanto, foi necessário realizar alinhamento das sequências 16S rRNA das bibliotecas BICAR e BITPA.

Na Figura 13, os números em vermelho representam o número de sequências 16S rRNA obtidas do carvão pirogênico e os em azul o número de sequências 16S rRNA obtidas do solo TPA. Através dessa análise foi possível observar que 24 UTOS são comuns entre as bibliotecas do carvão e solo TPA (Figura 13 - pontas com números vermelhos e azuis).

Um total de 53 UTOS foi observado somente no solo TPA e 40 UTOs apenas no carvão pirogênico, evidenciando assim que pode existir microbiota diferenciada habitando o carvão em relação ao solo. Esse resultado corrobora com os estudos realizados por Mummey et al. (2006), que localizou populações específicas em diferentes frações e compartimentos dentro do solo e evidenciou que microambientes únicos selecionam linhagens microbianas específicas. A maioria dos estudos de diversidade microbiana no solo vem sendo feita utilizando amostras integrais de solo. Entretanto, o nosso estudo não seguiu esse fluxo, mostrando-se pioneiro dentro da análise da diversidade bacteriana do carvão pirogênico de Terra Preta Antropogênica através da análise de clones 16S rRNA.

Foi observada uma discrepância no número de UTOs encontrados no agrupamento filogenético e no método de rarefação, visto que no agrupamento filogenético foi empregado um conjunto de sequências (imput) diferenciado daquele utilizado na análise de rarefação. No entanto, tal diferença não comprometeu a análise e interpretação dos dados sob o ponto de vista ecológico, permitindo explorar os dados por meio de objetivos distintos e por diferentes softwares de análise.

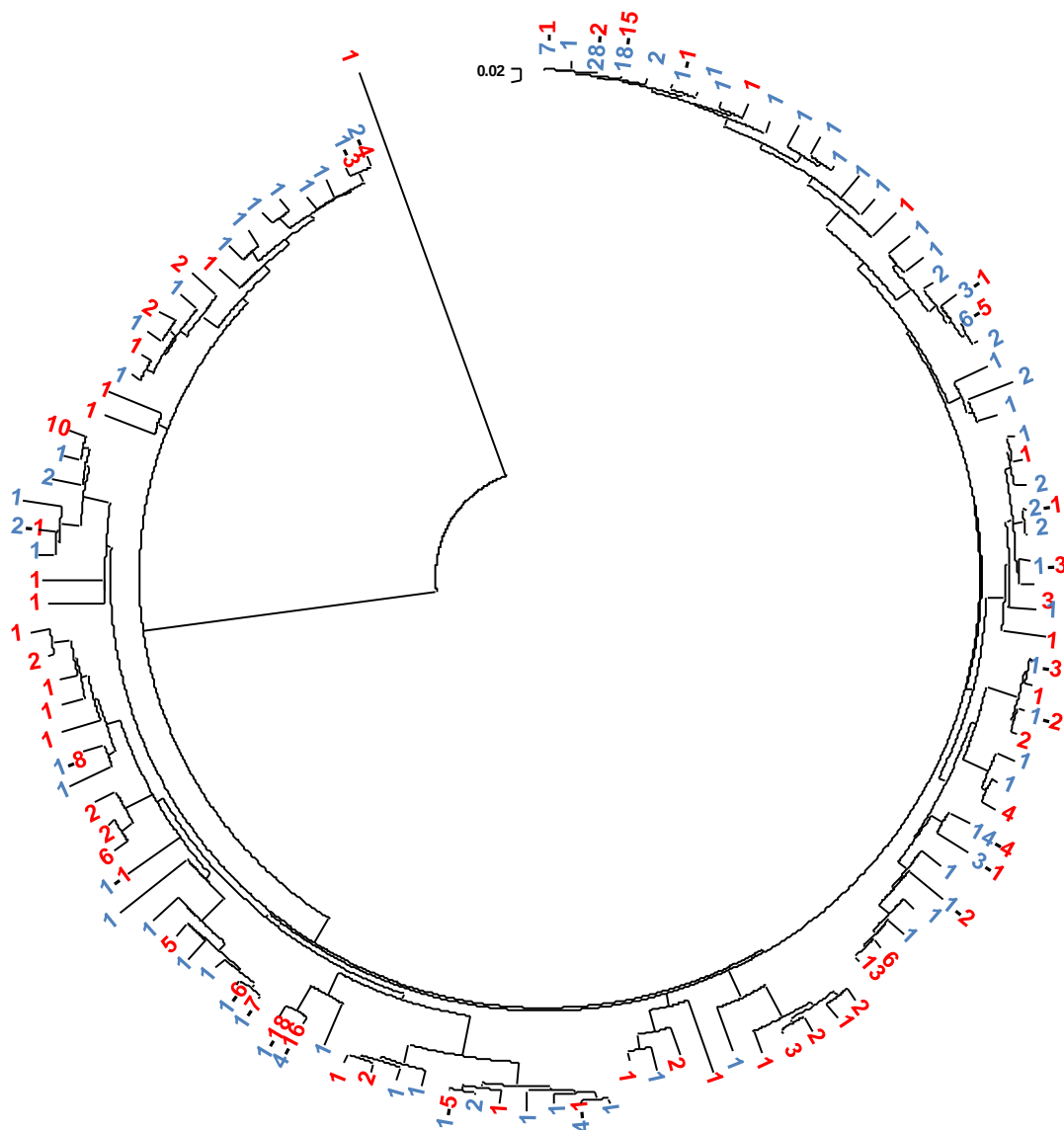


Figura 13 - Análise de agrupamento filogenético feita a partir de sequências parciais do gene 16S rRNA de bactérias presentes em carvão (números em vermelho) e solo TPA (números em azul) do sítio Lagoa Balbina, com base no programa Mega 4.0. Os números representam a quantidade de sequências encontradas

5.7.3 ESTUDO 2- SÍTIO MINA I

No sítio Mina I o carvão pirogênico em estudo foi segregado de solo TPA tipo sambaqui, o qual continha alta concentração de conchas. Esse solo possui plantações de seringueiras, laranja, açaí, buriti, etc., apesar de não possuir moradia. O clima é quente e úmido com temperatura média entre 25°C e 35°C. A análise química desse solo mostrou um pH de 7,25 e $M.O_3 = 44,5 \text{ g/dm}^3$, $P = 165 \text{ g/dm}^3$, $K = 0,25 \text{ g/dm}^3$, $Ca = 345 \text{ g/dm}^3$, $Mg = 1 \text{ g/dm}^3$, $Al < 1 \text{ g/dm}^3$, $H+Al = 8,5 \text{ g/dm}^3$, $S-B = 346,35 \text{ g/dm}^3$ e $CTC = 354,5 \text{ g/dm}^3$ (CANNAVAN, 2007). Com o solo nas condições apresentadas acima, os seguintes resultados foram obtidos:

5.7.3.1. ANÁLISE RDPX

Assim como no sítio Lagoa Balbina, a comparação das 242 sequências 16S rRNA obtidas para carvão pirogênico de solo TPA do sítio Mina I também foi feita através do banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX pelo programa “Classifier” que apresenta os mais altos níveis taxonômicos (COLE et al., 2009). Como já mencionado, os resultados das comparações obtidas em nível de filo são mais confiáveis do que aqueles obtidos em qualquer outro nível. O resultado completo da comparação das sequências do sítio Mina I com o programa “Classifier” são apresentados em Anexo. Como as sequências da biblioteca MITPA obtidas por Cannavan (2007) foram utilizadas para comparação com as obtidas neste estudo, estas também foram lançadas no programa “Classifier” do RDPX.

Através de análise com o programa “Classifier” do RDPX, foi verificado que todas as sequências analisadas obtidas do sítio Mina I pertencem ao Domínio Bacteria com 100% de confiança. Os Filotipos bacterianos encontrados nas bibliotecas MICAR e MITPA estão apresentados na Tabela 3.

De acordo com a análise do programa “Classifier” do RDPX, os microrganismos desconhecidos da biblioteca MICAR representam 26,9% das sequências (Figura 14A). Em uma nova análise das bibliotecas de solo TPA por meio do programa RDPX foi verificado um resultado diferente ao encontrado em análises anteriores em nosso laboratório usando o RDP II. Enquanto o programa do RDP II mostrou que o número de microrganismos desconhecidos para a biblioteca MITPA era de 84,8%, (CANNAVAN, 2007) o programa RDPX mostrou que esse valor corresponde a 8,3% (Figura 14B). É interessante ressaltar mais uma vez que, de acordo com a análise de RDPX a biblioteca referente ao carvão pirogênico do sítio Mina I apresenta um maior número de microrganismos não classificados em relação ao solo TPA.

Tabela 3 - Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico do sítio Mina I comparadas com banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX e número de filotipos encontrados em cada biblioteca.

FILO	MICAR	MITPA
Acidobacteria	72	214
Actinobacteria	5	0
Chloroflexi	2	1
Firmicutes	20	4
Gemmatimonadetes	0	0
Nitrospira	5	3
OP10	1	0
Planctomycetes	17	3
Proteobacteria	48	20
Verrucomicrobia	7	1
WS3	0	1
Não Classificadas	65	22
Total	242	269

MICAR – carvão pirogênico de solo TPA do sítio Mina I; **MITPA** - solo TPA do sítio Mina I

Dentro do Domínio Bacteria, o filo mais predominante na biblioteca MICAR foi Acidobacteria, representando aproximadamente 29,7% do total das sequências analisadas (Figura 14A). O filo predominante na biblioteca MITPA também foi Acidobacteria correspondendo a 79,5% das sequências analisadas (Figura 14B).

Na biblioteca MICAR os demais filios em destaque foram Proteobacteria representando 19,9%, Firmicutes 8,3%, Planctomycetes 7,0%, Verrucomicrobia 2,9%, Actinobacteria 2%, Nitrospira 2%, Chloroflexi 0,8% e OP10 0,5% (Figura 14A). Já na biblioteca MITPA destacaram-se os filios Proteobacteria 7,5%, Firmicutes 1,5%, Nitrospira 1%, Planctomycetes 1%, WS3 0,4% e Chloroflexi 0,4% (Figura 14B).

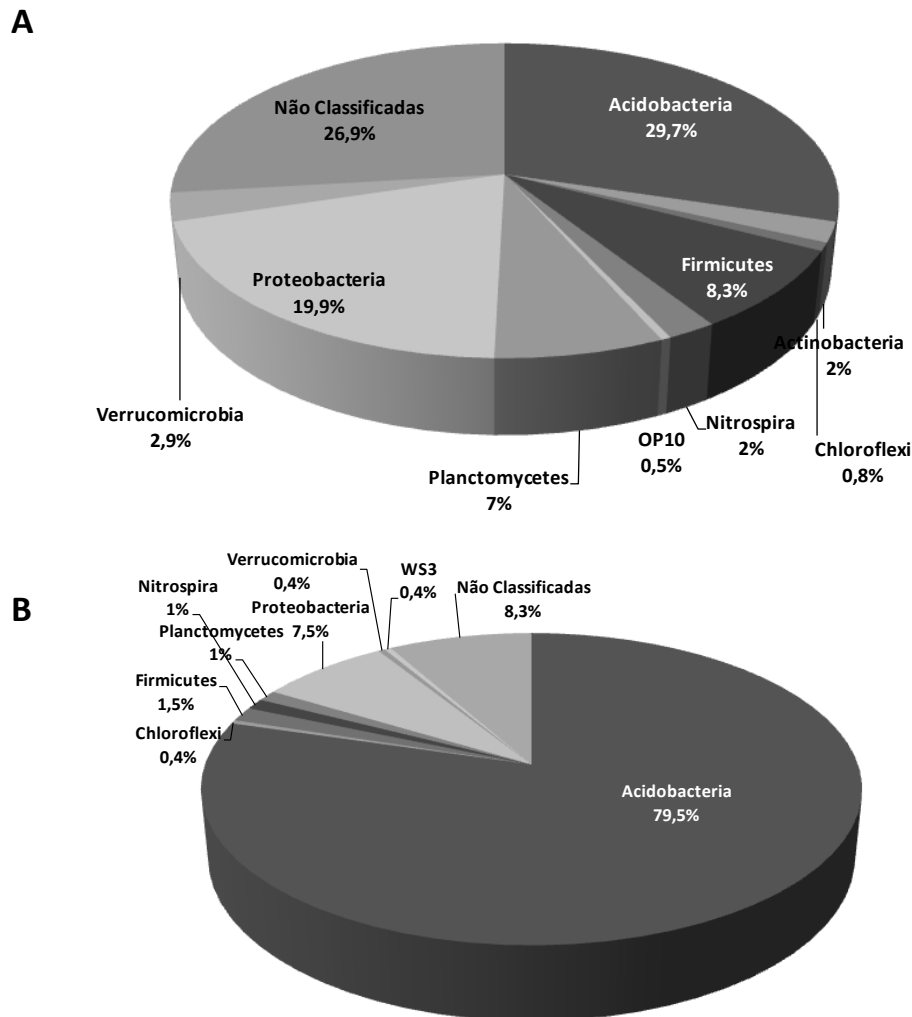


Figura 14 – Diversidade bacteriana encontrada em carvão pirogênico MICAR (A) e em solo TPA MITPA (B) do sítio Mina I, com base na afiliação filogenética do RDPX.

5.7.3.2. ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS

Assim como na análise das bibliotecas do sítio Lagoa Balbina, a riqueza de filotipos (UTOs) para as bibliotecas do sítio Mina I foi verificada por meio do método de rarefação ao nível de 97% de similaridade e pelos métodos não paramétricos de estimativa ACE, Chao 1 e Jackknife.

Por meio do método de rarefação foi possível constatar uma sutil diferença entre a riqueza de UTOs nas comunidades bacterianas presentes nas bibliotecas MICAR e MITPA,

verificando uma menor riqueza de UTOs na biblioteca MICAR (Figura 15). Aqui também não foi possível estabelecer a eminência do platô em nenhuma das curvas.

Os valores obtidos com o índice de diversidade de Shannon e Simpson revelaram maior diversidade de UTOs na biblioteca MITPA quando comparados com os valores para a biblioteca MICAR, com diferenças muito pequenas como já observado para o sítio Balbina (Tabela 4). Estes índices de diversidade obtidos para as bibliotecas do sítio Lagoa Balbina e sítio Mina I demonstraram que o solo de ambas as regiões apresentam uma maior diversidade de UTOs que o carvão pirogênico, embora muito pequena.

Os valores obtidos com os métodos não paramétricos ACE, Chao 1 e Jackknife para a estimativa de riqueza revelaram uma maior riqueza de UTOs para a biblioteca MICAR e menor para a MITPA (Tabela 4), diferentemente do observado para o sítio Balbina.

Através do programa S-Libshuff versão 1.22., disponível em <http://libshuff.mib.uga.edu/> (SINGLETON et al., 2001), as bibliotecas MICAR e MITPA foram comparadas entre si e foi observado que elas são significativamente diferentes quanto à composição das comunidades com coeficiente de 95% entre $P = 0,05$.

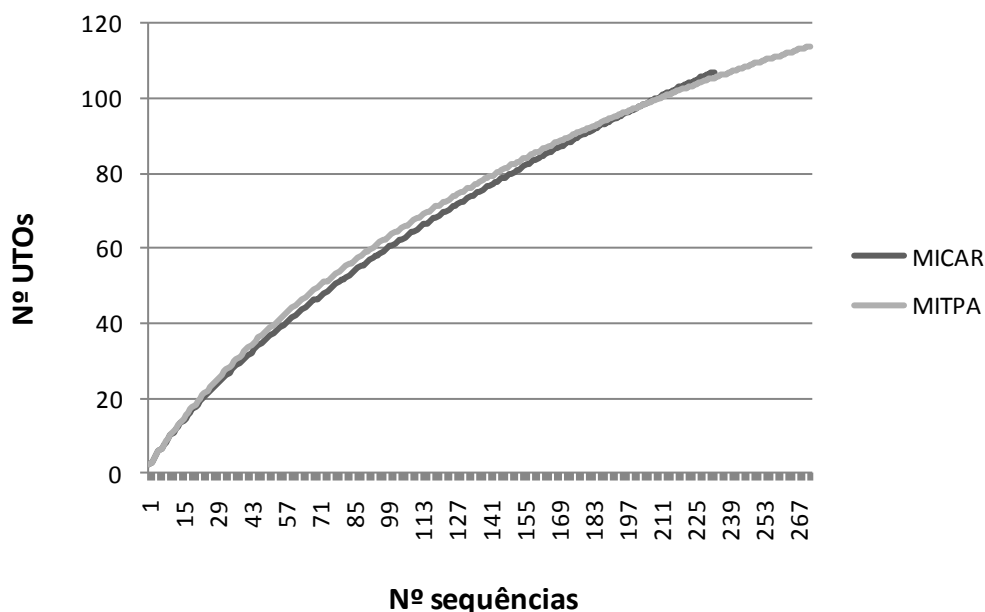


Figura 15 – Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas MICAR e MITPA

Tabela 4 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxônomicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico (MICAR) e solo Terra Preta Antropogênica (MITPA) do sítio Mina I

Bibliotecas	NS	NU	Estimativas de riquezas de UTOS			Índices de diversidade	
			<i>ACE</i>	<i>Chao1</i>	<i>Jackknife</i>	<i>Shannon</i>	<i>Simpson</i>
MICAR	242	113	243,27	226,89	272,75	4,2100	0,0147
MITPA	269	118	161,70	180,26	171,35	4,3845	0,0212

NS – número de sequências; NU – número de UTOs.

5.7.3.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA

O agrupamento filogenético apresentado na figura 16 foi obtido através do programa Mega 4.0 (TAMURA et al., 2007) que, como dito anteriormente, teve um intuito maior de facilitar a visualização do número de UTOs comuns e peculiares entre as bibliotecas MICAR e MITPA e não o de fazer uma análise filogenética detalhada. Para tanto, foi necessário realizar um alinhamento das sequências 16S rRNA dessas duas bibliotecas. Na Figura 16, os números em vermelho representam o número de sequências 16S rRNA obtidas do carvão pirogênico e os em azul o número de sequências 16S rRNA obtidas do solo TPA. Através dessa análise foi possível observar que 28 UTOS são comuns entre as bibliotecas do carvão e solo TPA (pontas com números vermelhos e azuis, Figura 16). Já o número de UTOS peculiares nas bibliotecas MICAR e MITPA é 75 e 76 respectivamente. Esse fato, somado ao de que 26,9% das sequências 16S rRNA do carvão pirogênico são desconhecidas, reforça a idéia de que o carvão pirogênico é um microambiente que de alguma forma seleciona alguns filotipos, representando grande fonte de estudos, seja de interesse biotecnológico ou na agricultura, por exemplo.

Foi observada uma discrepância entre o número de UTOs obtido no agrupamento filogenético e àquele observado no método de rarefação. Isto se deve ao fato que foi empregado um conjunto de sequências (imput) diferenciado nas duas análises. No entanto, tal diferença não comprometeu a análise e interpretação dos dados sob ponto de vista ecológico, permitindo explorar os dados por meio de objetivos distintos e por diferentes softwares de análise.

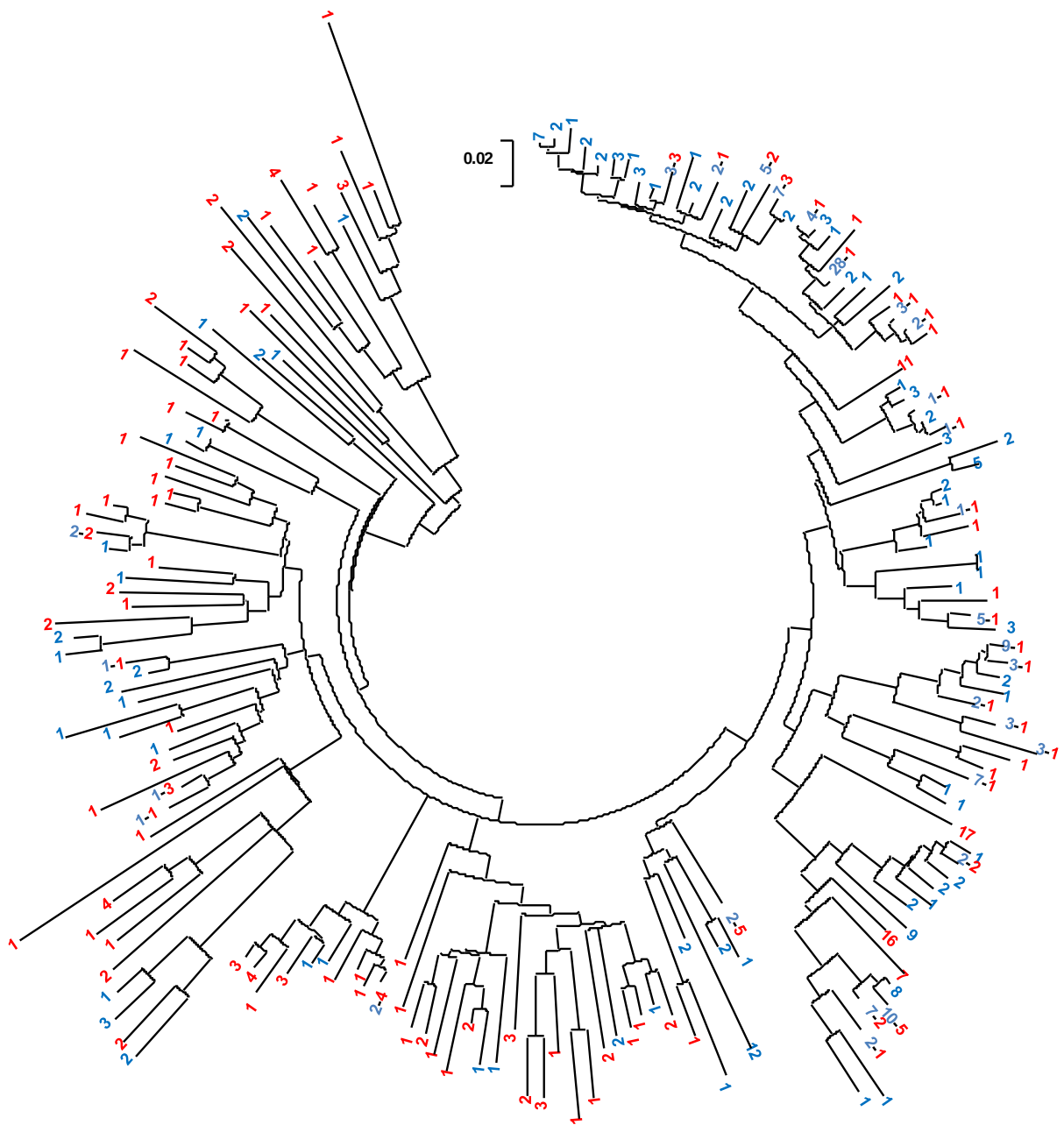


Figura 16- Análise de agrupamento filogenético feita a partir de sequências parciais do gene 16S rRNA de bactéria presentes em carvão (números em vermelho) e solo TPA (números em azul) do sítio Mina I, com base no programa Mega 4.0. Os números representam a quantidade de sequências encontradas

5.7.4. ESTUDO 3 - CARVÃO DO SÍTIO LAGOA BALBINA E SÍTIO MINA I

5.7.4.1. ANÁLISE RDPX

O programa “Classifier” do RDP mostrou que a proporção de filotipos desconhecidos para as bibliotecas BICAR e MICAR são aproximadamente iguais, correspondendo a 26,5% (59/224) e 26,9% (65/242), respectivamente (Figura 11A; Figura 14A). Foi observada uma predominância de acidobactérias tanto em carvões isolados de solo TPA de sítio Mina I, 29,7% (72/242), como do sítio Lagoa Balbina, 31,5% (71/224) (Figura 11A; Figura 14A).

O número de representantes encontrado dos filos Actinobacteria, Chloflexi, Firmicutes, Proteobacteria, Verrucomicrobia nas bibliotecas BICAR e MICAR foram aproximadamente iguais (Tabela 5). No entanto, observou-se a presença de 15 representantes do filo Gemmatimonadetes na biblioteca BICAR e ausência deste na MICAR (Tabela 5). Um representante do filo OP10 e 17 representantes do filo Planctomycetes foram observados na biblioteca MICAR e não encontrados na biblioteca BICAR (Tabela 5).

Tabela 5 - Filotipos bacterianos encontrados em carvão pirogênico do sítio Lagoa Balbina (BICAR) e sítio Mina I (MICAR) comparadas com banco de dados de sequências de 16S rRNA do RDPX e número de filotipos encontrados em cada biblioteca

FILO	BICAR	MICAR
Acidobacteria	71	72
Actinobacteria	4	5
Chloroflexi	1	2
Firmicutes	23	20
Gemmatimonadetes	15	0
Nitrospira	10	5
OP10	0	1
Planctomycetes	0	17
Proteobacteria	31	48
Verrucomicrobia	10	7
WS3	0	0
Não Classificadas	59	65
Total	224	242

5.7.4.2. ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS

Por meio do método de rarefação, ao nível de 97% de similaridade, foi possível constatar uma menor riqueza de UTOs nas comunidades bacterianas presentes nas estruturas de carvão pirogênico situados no sítio Balbina quando comparado à riqueza de UTOs das comunidades bacterianas encontradas em peças de carvão do sítio Mina I (Figura 17). Também pôde ser observado que as curvas se diferem claramente a partir de 37 clones avaliados (Figura 17).

Os valores obtidos com os índices de diversidade de Shannon e Simpson revelaram maior diversidade de UTOs nas comunidades bacterianas presentes em carvão pirogênico do sítio Mina I em relação à diversidade de UTOs do carvão pirogênico do sítio Lagoa Balbina (Tabela 6). Os valores obtidos com os métodos não paramétricos para a estimativa de riqueza revelaram maior riqueza de UTOs para a biblioteca MICAR e menor para a BICAR (Tabela 6).

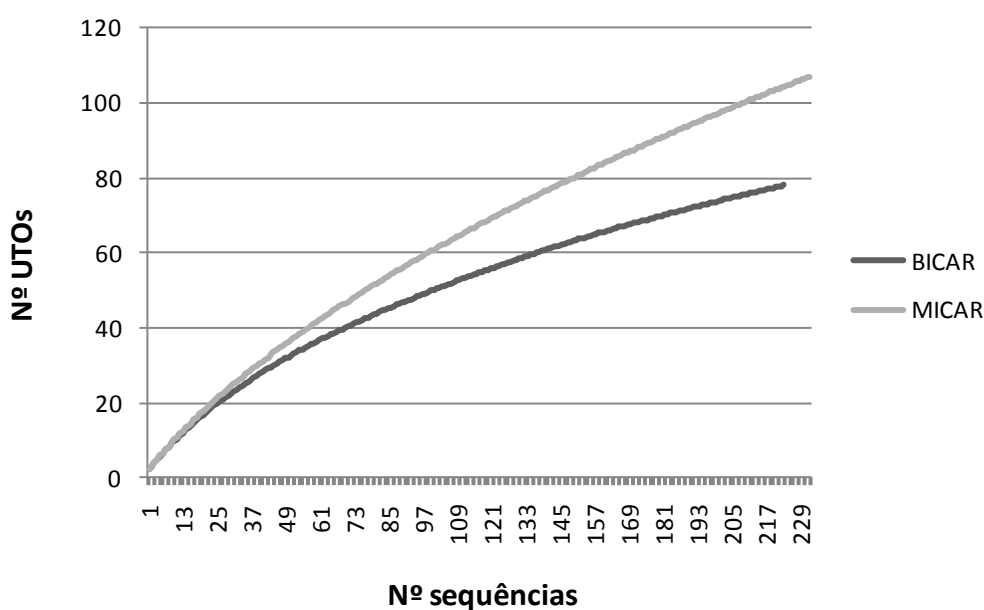


Figura 17 - Curva de rarefação gerada de sequências 16S rRNA das bibliotecas BICAR e MICAR

Tabela 6 - Estimativas de riqueza de UTOs (Unidades Taxônomicas Operacionais) e índices de diversidade calculados a partir das bibliotecas de 16S rRNA de bactérias do carvão pirogênico dos sítios Mina I (MICAR) e Lagoa Balbina (BICAR)

Bibliotecas	NS	NU	Estimativas de riquezas de UTOS			Índices de diversidade	
			ACE	Chao1	Jackknife	Shannon	Simpson
MICAR	242	113	243,27	226,89	272,75	4,2100	0,0212
BICAR	224	77	136,63	124,31	135,52	3,8795	0,0273

NS – número de sequências; NU – número de UTOs.

As bibliotecas BICAR e MICAR foram consideradas significativamente diferentes quanto à composição das comunidades com coeficiente de 95% entre $P = 0,05$, análise esta feita com o programa S-Libshuff versão 1.22.

5.7.4.3. UTOs PECULIARES AO CARVÃO PIROGÊNICO

No estudo 3, optou-se não pela elaboração de um agrupamento filogenético para se analisar as peculiaridades das bibliotecas BICAR e MICAR, mas sim, por uma análise que utilizou como base a tabela anexada neste trabalho. Esta análise permitiu uma abordagem não somente quantitativa como também qualitativa dos dados. O número total de UTOS encontrado nas bibliotecas BICAR, MICAR, BITPA e MITPA foi de 330 (ANEXO). Para tanto, todas as sequências das quatro bibliotecas foram alinhadas utilizando o programa Clustal X 2 (LARKIN et al., 2007). Considerando esse alinhamento total das sequências 16S rRNA das quatro bibliotecas foi possível verificar o número de UTOs peculiares encontrado no carvão pirogênico tanto do sítio Mina I como para o sítio lagoa Balbina.

Para o sítio Lagoa Balbina, observou-se que das 330 UTOs encontradas no nosso trabalho, 52 são encontradas apenas no carvão pirogênico isolado de solo TPA do sítio Lagoa Balbina sendo que destas, 14 UTOs pertencem a sequências não conhecidas, 14 UTOS ao filo Acidobacteria, 13 UTOs ao filo Proteobacteria, 4 UTOs ao Verrucomicrobia, 3 UTOs ao filo Actinobacteria, e 1 UTO para os filos Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Nitrospira (ANEXO).

Já no sítio Mina I, observou-se que das 330 UTOs encontradas no trabalho, 71 são encontradas apenas no carvão pirogênico isolado de solo TPA do sítio Mina I sendo que

destas, 20 UTOs pertencem a sequências não conhecidas (não classificadas), 16 UTOs ao filo Proteobacteria, 10 UTOs ao filo Planctomycetes, 7 UTOs ao filo Acidobacteria, 5 UTOs ao Verrucomicrobia, 5 UTOs ao filo Actinobacteria, 4 UTOs ao filo Firmicutes, 2 UTOs ao Nitrospira, 1 UTO ao filo OP10 e Chloroflexi (ANEXO).

Apenas duas UTOs foram peculiares as estruturas de carvão das duas áreas de estudo, uma corresponde ao filo Proteobacteria (UTO 194 da tabela anexada) e outra UTO não classificada (UTO 121 da tabela anexada).

Apesar de um grande número de UTOs ter sido identificado como peculiares ao carvão pirogênico, há que se salientar que as amostras dos solos TPAs dos sítios Lagoa Balbina e Mina I contêm fragmentos de carvão pirogênico que não foram retirados para a extração do DNA e, portanto, as UTOs vistas como peculiares ao solo, podem ser do carvão pirogênico, levando a uma sub-estimativa de UTOs peculiares ao carvão.

As diferenças encontradas na microbiota dos carvões desses dois sítios de estudo podem estar relacionadas a vários fatores, como por exemplo, o tipo de vegetação presente nesses solos. O sítio Balbina apresenta floresta tropical sobre o solo, enquanto o sítio Mina I possui plantações de seringueiras, laranja, açaí, butiti, etc. Além disso, o sítio Balbina é considerado pouco mais perturbado que o sítio Mina I. As diferenças também podem estar relacionadas à composição química do solo e ao tipo de solo (embora os dois solos em estudo sejam TPA, no sítio Mina I o solo TPA é do tipo sambaqui).

5.7.5. ANÁLISE DO COMPONENTE PRINCIPAL – PCA

A análise de PCA (Principal Component Analysis) também foi feita com as sequências do gene 16S rRNA relativas as bibliotecas BICAR, MICAR, BITPA e MITPA (Figura 18). Esta análise verificou como as sequências do gene 16S rRNA se agrupam. O eixo 1 explica a maior parte da distribuição dos dados (0,652), de modo a ordenar opostamente as bibliotecas construídas a partir das amostras de solo e de carvão das localidades Lagoa Balbina e Mina I. O eixo 2 responde por 0,340 da explicabilidade plotado na ordenação, posicionando distintamente as bibliotecas MITPA e MICAR. As bibliotecas BITPA e BICAR foram plotadas proximamente no espaço da ordenação, mostrando-se altamente similares. Em adição, a análise com o programa S-Libshuff demonstrou que estas são significativamente diferentes quanto à composição das comunidades com coeficiente de 95% entre $P = 0,05$.

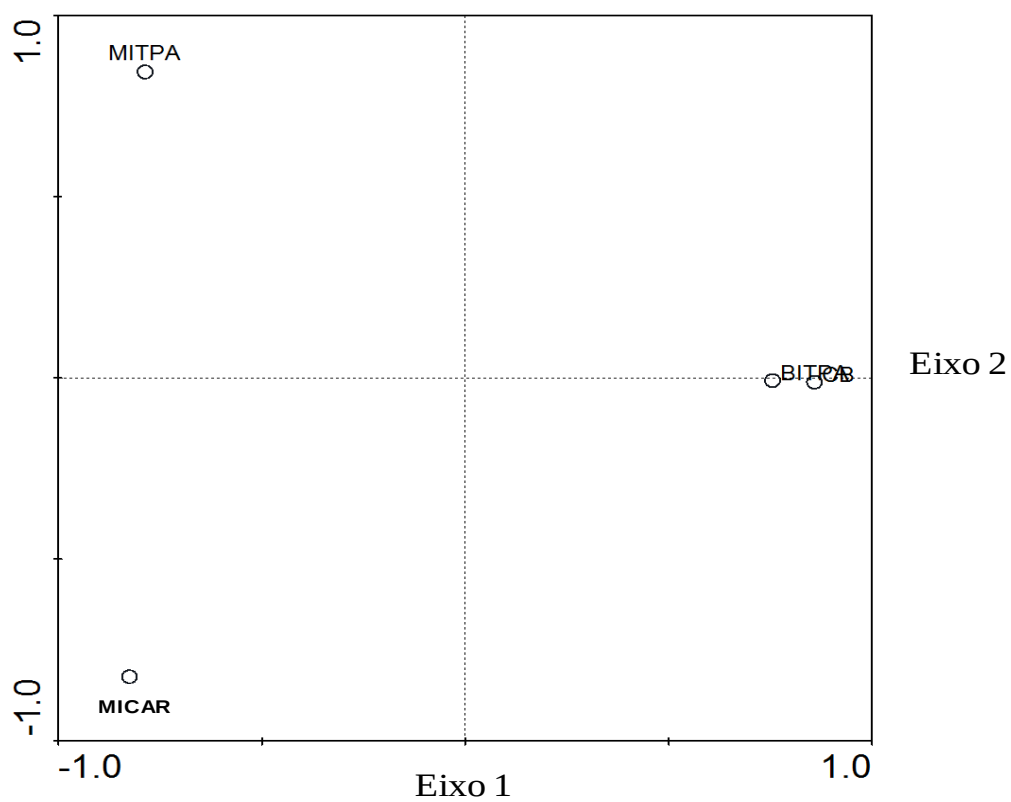


Figura 18 - Análise da PCA (Principal Component Analysis) feita com sequências do gene 16S rRNA relativas as bibliotecas BICAR, MICAR, BITPA e MITPA

6 CONCLUSÕES

A realização deste trabalho possibilitou a verificação de que o carvão pirogênico de solo TPA não é inerte, já que é capaz de ser habitado por bactérias de diferentes filos. Além disso, ele apresenta uma estrutura da comunidade bacteriana diferenciada quando comparado ao solo de onde foi segregado.

Com a construção de bibliotecas de clones do gene 16S rRNA a partir das amostras de carvão pirogênico de duas regiões da Amazônia, e com a análise através do programa RDPX, foi possível caracterizar as comunidades bacterianas presentes na micro-habitat carvão pirogênico, assim como observar que existe um maior número de microrganismos desconhecidos no carvão pirogênico do que no solo de onde ele foi isolado.

Os resultados obtidos com o método de rarefação e com os índices de diversidade e de riqueza revelaram as diferenças existentes entre as comunidades bacterianas presentes no carvão pirogênico e no solo TPA das regiões Lagoa Balbina e Mina I. De maneira geral, o carvão pirogênico apresentou uma menor diversidade de UTOs que o solo TPA, embora com diferenças muito pequenas. Já na estimativa de riqueza de UTOs, o carvão pirogênico do sítio Mina I mostrou um padrão inverso ao do sítio balbina, apresentando uma riqueza de UTOs superior a do solo TPA. Quando se comparou a riqueza de UTOs entre as estruturas de carvão isoladas das duas localidades, observou-se que a riqueza é maior no sítio Mina I.

A análise da PCA revelou a ordenação oposta das bibliotecas construídas a partir das amostras das localidades Lagoa Balbina e Mina I. Em adição, a análise com o S-Libshuff, verificou que todas as bibliotecas comparadas são significativamente diferentes quanto à composição das comunidades bacteriana.

Nossos resultados visaram contribuir com o conhecimento sobre a diversidade microbiana em carvão pirogênico isolado de Terra Preta, para a compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas no solo e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, além de benefícios econômicos e estratégicos, como a descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos.

REFERÊNCIAS

- AGNELLI, A.; ASCHER, J.; CORTI, G.; CECHERINI, M.T.; NANNIPIERI, P.; PIETRAMELLARA, G. Distribution of microbial communities in a forest soil profile investigated by microbial biomass, soil respiration and DGGE of total and extracellular DNA. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 859-868, 2004.
- ALTIERI, M.A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 19-31, 1999.
- AMANN, R.L.; LUDWIG, W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 24, p. 555-565, 2000.
- AMANN, R.L.; LUDWIG, W.; SCHNEIDER, K.H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **FEMS Microbiological Reviews**, Amsterdam, v. 59, p. 143-169, 1995.
- ATLAS, R.M.; BARTHA, R. Microbial evolution and biodiversity: the origins of life. In: _____. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 4. ed. Menlo Park: Book News, 1997. p. 37-39.
- BARNES, S.M.; CAIN, E.C.; SOMMERVILLE, L.; KUSKE, C.R. Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, n. 9, p. 3113-3116, 2007.
- BENITES, V.M.; MADARI, B.E.; MACHADO, P.L.O. A. Matéria orgânica do solo. In: WADT, P.G.S. (Ed.). **Manejo do solo e recomendação de adubação para o estado do Acre**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2005. p. 93-120.
- BENT, S.J.; FORNEY, L.J. The tragedy of the uncommon: understanding limitations in the analysis of microbial diversity. **The ISME Journal**, Wallingford, v. 2, p. 689-695, 2008.
- BIRNBOIM, H.C.; DOLY, J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. **Nucleic Acids Research**, London, v. 7, p. 1513-1522, 1979.
- BORNEMAN, J.; TRIPLETT, E.W. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 63, n. 7, p. 2647-2653, 1997.
- CANNAVAN, F.S.; PAULO, E.N.; TERCETI, M.S.; TSAI, S.M. Análise por T-RFLP das estruturas das comunidades bacterianas em solos e fragmentos de carvão pirogênico de Terra Preta Antropogênica da Amazônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54^a, 2008, Salvador. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBG, 2008. p. 184.
- CANNAVAN, F.S. **Diversidade das comunidades bacterianas em solos de Terra Preta Antropogênica da Amazônia Central e Oriental**. 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- CHAO, A. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. **Biometrics**, Washington, v. 43, p. 783-791, 1987.

CHAO, A.; LEE, S.M. Estimating the number of classes via sample coverage. **Journal of the American Statistical Association**, Boston, v. 87, p. 210-217, 1992.

COLE, J. R.; WANG, Q.; CARDENAS, E.; J. FISH, B. CHAI, R. J. FARRIS, A. S. KULAM-SYED-MOHIDEEN, D. M. MCGARRELL, T. MARSH, G. M. GARRITY, AND TIEDJE, J. M. The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. **Nucl. Acids Res.** v.37, 2009.

COPE, M.J.; CHALONER, W.G. Fossil charcoal as evidence of past atmospheric composition. **Nature**, London, v. 283, p. 647-649, 1980.

CULLIMORE, D.R. **Practical atlas for bacterial identification**. New York: Lewis Publishers, 2000. 209 p.

CUNHA, T.J.F. **Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia: Terra Preta de Índio**. 2005. 118p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

CURTIS, T.P.; SLOAN, W.T. Exploring microbial diversity – a vast below. **Science**, Washington, v. 309, p. 1331-1333, 2005.

CURY, J.C. **Diversidade de Bacteria e Archaea em solos de mangue e marisma**. 2006. 147 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DARREL, D.P.; SHU-MEI, L.I.; SPADONI, C.M.; DRAKE, G.R.; BALKWILL, D.L.; FREDRICKSON, J.K.; BROCKMAN, F.J. A molecular comparison of culturable aerobic heterotrophic bacteria and 16S rDNA clones derived from a deep substance sediment. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 23, p. 131-144, 1997.

De LONG, E.F.; PACE, N.A. Environmental diversity of bacteria and archaea. **Systematic Biology**, Washington, v. 50, p. 470-478, 2001.

DENEVAN, W. The aboriginal population of Amazonia. In: DENEVAN, W. (Ed.). **The native population of the Americas in 1492**. Madison: University of Wisconsin Press, 1976. p. 205-234.

DI GIOVANNI, G.D.; WATRUD, L.S.; SEIDLER, R.J.; WIDMER, F. Comparison of parental and transgenic alfalfa rhizosphere bacterial communities using Biolog GN metabolic fingerprinting and enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-PCR (ERICPCR). **Microbial Ecology**, New York, v. 37, p. 129-139, 1999.

DUNBAR, J.; BARNS, S.M.; TICNOR, L.O.; KUSKE, C.R. Empirical and theoretical bacterial diversity in four Arizona soils. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 68, n. 7, p. 3035-3045, 2002.

ELIAS, V.O. Evaluating Levoglucan as an indicator of biomass burning in Carajas, Amazonia: a comparison to the charcoal record. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 65, n. 2, p. 267-272, 2001.

EWING, B.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. *Error probabilities*. **Genome Research**, Woodbury, v. 8, p. 186-194, 1998.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL M.C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. *Accuracy assessment*. **Genome Research**, Woodbury, v. 8, p. 175-185, 1998.

FALESI, I.C. O estado atual dos conhecimentos sobre os solos da Amazônia brasileira. In: INSTITUTO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO NORTE. **Zoneamento agrícola da Amazônia**: 1ª. Aproximação. Belém: IPEAN, 1972. p. 33-64. (Boletim Técnico, 54).

GARRITY, G.M.; BELL, J.A.; LIBURUN, T.G. Taxonomic outline of prokaryotes. In: **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Release 5.0. 2. ed. New York: Springer, 2004.

GEVERS, P.; COHAN, F.M.; LAWRENCE, J.G.; SPRATT, B.G.; COENT, T.; FEIL, E.J.; STACKEBRANDT, E.; Van PEER, Y.; VANDAMME, P.; THOMPSON, F.L.; SWINGS, J. Reevaluating prokaryotic species. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 3, p. 1733-1739, 2005.

GLASER, B.; HAUMAIER, L.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 29, p. 811-819, 1998.

GLASER, B.; BALASHOV, E.; HAUMAIER, L.; GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of the Brazilian Amazon region. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 31, p. 669-678, 2000.

GLASER, B.; GUGGENBERGER, G.; HAUMAIER, L.; ZECH, W. Persistence of soil organic matter in archaeological soils (Terra Preta) of the Brazilian Amazon region. In: REES, R.M.;

GLOCKNER, F.O.; KUBE, M.; BAUER, M.; TEELING, H.; LOMBARDOT, T.; LUDWIG, W.; GADE, D.; BECK, A.; BORZYM, K.; HEITMANN, K.; RABUS, R.; SCHLESNER, H.; AMANN, R.; REINHARDT, R. Complete genome sequence of the marine planctomycete *Pirellula* sp. strain 1. Proceedings of the National Academy of Science of the USA, **Washington**, v. 100, n. 14, p. 8298–8303, 2003.

GOLCHIN, A.; CLARKE, P.; BALDOCK, J.A.; HIGASHI, T.; SKJEMSTAD, J.O.; OADES, J.M. The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter of a volcanic ash soil as shown by ¹³C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. **Geoderma**, Amsterdam, v. 76, p. 155-174, 1997.

GOLDBERG, E.D. **Black carbon in the environment**. New York: John Wiley and Sons, 1985.

GORDON, D.; ABAJIAN, C.; GREEN, P. Consed: a geographical tool for sequence finishing. **Genome Research**, Woodbury, v. 8, p. 195-202, 1998.

GONZÁLES-PÉREZ, J.A.; GONZÁLES-VILA, F.J.; ALMENDROS, G.; KNICKER, H. The effect of fire on soil organic matter – a review. **Environment International**, New York, v. 30, p. 855-870, 2004.

GOODFELLOW AND, M. ; WILLIAMS, S.T. Ecology of actinomycetes. **Annual Review of Microbiology**. v. 37, p. 189-216, 1983.

GRUNDMANN, G.L. Spatial scales of soil bacterial diversity—the size of a clone. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 48, p. 119–127, 2004.

GUSTALSSON, O.; GSCHWEND, P.M. The flux of black carbon to surface sediments on the New England continental shelf. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 62, p. 465-472, 1998.

HACKL, E.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S.; BODROSSY, L.; SESSITSCH, A. Comparison of diversities and compositions of bacterial populations inhabiting natural forest soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 9, p. 5057-5065, 2004.

HEAD, I.M.; SAUDERS, J.R.; PICKUP, J. Microbial evolution, diversity and ecology: a decade of ribosomal rRNA analysis of uncultivated organisms. **Microbial Ecology**. New York, v. 35, p. 1-21, 1998.

HENCKEL, T.; JÄCKEL, U.; SCHNELL, S.; CONRAD, R. Molecular analyses of novel methanotrophic communities in forest soil that oxidize atmospheric methane. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 1801-1808, 2000.

HERRERA, R.; JORDAN, C.F.; KLINGE, H.; MEDINA, E. Amazon ecosystems. Their structure and functioning with particular emphasis on nutrients. **Interciência**, Caracas, v. 3; n. 4, p. 223-232, 1978.

HIRASHI, A.; KISHIMOTO, N.; KOSAKO, Y.; WAKAO, N.; TANO, T. Phylogenetic position of the menaquinone-containing acidophilic chemoorganotroph *Acidobacterium capsulatum*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 132, p. 91-94, 1995.

HOROWITZ, N.H.; CAMERON, R.E.; HUBBARD, J.S. Microbiology of the dry valleys of Antarctica. **Science**, Washington, v. 176, p. 242-245, 1972.

HUGENHOLTZ, P.; PACE, N.R. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 14, p. 190-197, 1996.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B.M.; PACE, N.R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 180, p. 4765-4774, 1998.

HOLBEN, W.E.; FERIS, K.P.; KETTUNEN, A.; APAJALAHTI, J.H.A. GC. Fractionation enhances microbial community diversity assessment and detection of minority populations of bacteria by denaturing gradient gel electrophoresis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, p. 2263-2270, 2004.

JAATINEN, K.; KNIEF, C.; DUNFIELD, P.F.; YRJÄLÄ, K.; FRITZE, H. Methanotrophic bacterial in boreal forest soil after fire. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 50, p. 195-202, 2004.

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

KANDELER, E.; TSCHERKO, D.; BRUCE, K.D.; STEMMER, M.; HOBBS, P.J.; BARDEGETT, R.D.; AMELUNG, W. Structure and functional of the soil microbial community in microhabitats of a heave polluted soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 32, p. 390-400, 2000.

KERN, D.C.; COSTA, M.L. Os solos antrópicos. In: LISBOA, P.L.B. (Org.). **Caxiuanã**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1997. p. 105-119.

KELLY, K.M.; CHISTOSERDOV, A.Y. Phylogenetic analysis of the succession of bacterial communities in the Great South Bay (Long Island). **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 35, p. 85–95, 2001.

KIM, J.S.; SPAROVEK, G.; LONGO, R.M.; DE MELO, W.J.; CROWLEY, D. Bacteria diversity of Terra Preta and pristine forest soil from the western Amazon. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 684-690, 2007.

KNICKER, H.; ALMENDROS, G.; GONZÁLES-VILLA, F.J.; MARTIN, F.; LUDERMANN, H.D. ¹³C AND ¹⁵N NMR spectroscopic examination of the transformation of organic nitrogen in plant biomass during thermal treatment. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, p. 1053-1060, 1996.

LAMBAIS, M.R.; CURY, J.C.; MALUCHE-BARETTA, C.R.D.; BÜLL, R.C. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P.; CARDOSO, E.J. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: SBCS, 2005. v. 4, p. 43-84.

LAMMEL, D.R. **Diversidade de rizóbios em florestas de *Araucária angustifolia* no estado de São Paulo**. 2007. 117 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LARKIN, M.A.; BLACKSHIELDS, G.; BROWN, N.P.; CHENNA, R.; MCGETTIGAN, P.A.; MCWILLIAM, H.; VALENTIN, F.; WALLACE, I.M.; WILM, A.; LOPEZ, R. et al (2007) **ClustalW and ClustalX version 2.0. Bioinformatics** 23:2947–2948.

LAVERMAN, A.M.; BRASTER, M.; RÖLING, W.F.M.; Van VERSEVELD, H.W. Bacterial community structure and metabolic profile in forest soil exhibiting spatially variable net nitrate production. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, p. 1581-1588, 2005.

LECKIE, S.E. Methods of microbial community profiling and their application to forest soils. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 220, p. 88-106, 2005.

LEHMANN, B.L.J.; SOLOMON, D.; KINYANGI, J.; GROSSMAN, J.; O’NEILL, B.; SKJEMSTAD, J.O.; THIES, J.; LUIZÃO, F.J.; PETERSEN, J.; NEVES, E.G. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, p. 1719-1730, 2006.

LEY, R.E.; LIPSON, D.A.; SCHMIDT, S.K. Microbial levels in barren and vegetated high altitudes talus soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, p. 111-117, 2001.

LIESACK, W.; STACKEBRANDT, E. Occurrence of novel groups of the domain Bacteria as revealed by analysis of genetic material isolated from Australian terrestrial environment. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 174, n. 15, p. 5072-78, 1992.

LIESACK, W.; BAK, F.; KREFT, J.U.; STACKEBRANDT, E. *Holophaga foetida* gen. nov., sp. nov., a new homoacetogenic bacterium degrading methoxylated aromatic compounds. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 162, n. 1-2, p. 85-90, 1994.

LIMA, H.N.; SHAEFER, C.E.R.; MELLO, J.W.V.; GILKES, R.J.; KER, J.C. Pedogenesis and pre-Colombian land use of "Terra Preta Anthrosolos" ("Indian black earth") of Westerns Amazonia. **Geoderma**, Netherlands, v. 110, p. 1-17, 2002.

LORENZI, A.S. **Abordagens moleculares para detectar cianobactérias e seus genótipos produtores de microcistinas presentes nas represas Billings e Guarapiranga, São Paulo Brazil**. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K.H. Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 15, p. 155-173, 1994.

MACRAE, A. The use of 16S rDNA methods in soil microbial ecology. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, p. 77-82, 2000.

MADARI, B.E.; SOMBROEK, W.G.; WOODS, W.I. Research on Anthropogenic Dark Earth soils. Could it be a solution for sustainable agricultural development in the Amazon? In: GLASER, B.; WOODS, W.I. (Ed.). **Amazonian dark Earths: explorations in space and time**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2004. p. 169-182.

MENDES, L.W.; TSAI, S.M. Estrutura de comunidades de Archaea em solos de Manguezal da Ilha do Cardoso no estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54., 2008, Salvador. **Anais...** Ribeirão Preto: SBG, 2008.

MITSUI, H.; GORLACH, K.; LEE, H.J.; HATTORI, R.; HATTORI, T. Incubation time and media requirements of culturable bacteria from different phylogenetic groups. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 103-110, 1997.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MUMMEY, D.; HOLBEN, W.; SIX, J.; STAHL, P. Spatial stratification of soil bacterial populations in aggregates of diverse soils. **Microbial Ecology**, New York, v. 51, p. 404-411, 2006.

MUYZER, G.; RAMSING, N.B. Molecular methods to study the organization of microbial communities. **Water Science & Technology**, London, v. 32, p. 1-9, 1995.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, p. 655-670, 2003.

NAVARRETE, A.A.; MOREIRA, F.M.S.; TSAI, S.M. Reposta de comunidades de bactérias a diferentes usos da terra em uma paisagem mosaico na Amazônia Ocidental. In: SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA, 4., 2009, Rio Claro. Rio Claro: UNESP, 2009. 1 CD-ROM.

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; BRAUN, G.; DIAS, M.F.B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAN, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 115, p. 237-247, 2006.

NOVAKOV, T. The role of soot and primary oxidants in atmospheric science. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 36, p. 1-10, 1984.

NOVOTNY, E.H.; AZEVEDO, E.R.; BONAGAMBA, T.J.; CUNHA, T.J.; MADARI, B.E.; BENITES, V.M.; HAYES, M.H.B. Studies of the compositions of humic acids from Amazonian Dark Earth soils. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 41, n. 2, p. 400-405, 2007.

NUNES, G.L. **Diversidade e estrutura de comunidades de Bacteria e Archaea em solo de mangue contaminado com hidrocarbonetos do petróleo**. 2006. 84 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

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

O'DONNELL, A.G.; GODFELLOW, M.; HAWKSWORTH, D.L. Theoretical and practical aspects of the quantification of biodiversity among microorganisms. In: HAWKSWORTH, D.L. (Ed.). **Biodiversity, measurement and estimation**. London: The Royal Society, 1995. p. 65-73.

O'NEILL, B.; GROSSMAN, J.; TSAI, S.M.; GOMES, J.E.; LEHMANN, J.; PETERSON, J.; NEVES, E.; THIES, J.E. Bacterial community composition in Brazilian anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification. **Microbial Ecology**, New York, v. 58, n. 1, p. 23-35, 2009.

OSBORN, A.M.; MOORE, E.R.B.; TIMMIS, K.N. An evaluation on terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics. **Environmental Microbiology**, New York, v. 2, p. 39-50, 2000.

OVREAS, L.; JENSEN, S.; DAAE, F.L.; TORSVIK, V. Microbial community changes in perturbed agricultural soil investigated by molecular and physiological approaches. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 36, p. 2739-2742, 1998.

POIRIER, N.; DERENNE, S.; ROUZAUD, J.N.; LAGEAU, C.; MARIOTTI, A.; BALESDENT, J.; MAQUET, J. Chemical structure and source of the macromolecular, resistant, organic fraction isolated from a forest soil (Lacadee, Southwest France). **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 31, p. 813-827, 2000.

RANJARD, L.; POLY, F.; NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using cultureindependent molecular techniques: application to soil environment. **Research in Microbiology**, Paris, v. 151, p. 167-177, 2000.

RAPPÉ, M.S.; GIOVANONNI, S.J. The uncultured microbial majority. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 67, p. 369-394, 2003.

RAPPE, M.S.; VERGIN, K.; GIOVANNONI, S.J. Phylogenetic comparisons of coastal bacterioplankton community with its counterparts in open ocean and freshwater systems. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 33, p. 219-232, 2000.

ROESCH, L.F.W.; FULTHORPE, R.R.; RIVA, A.; CASELLA, G.; HADWIN, A.K.M.; KENT, A.D.; DAROUB, S.H.; CAMARGO, F.A.O.; FARMERIE, W.G.; TRIPLETT, E.W.

Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. **The ISME Journal**, Wallingford, v. 1, p. 283-290, 2007.

ROSCOE, R.; BUURMAN, P.; VELTHORST, E.J.; VASCONCELLOS, C.A. Soil organic matter dynamics in density and particle size fractions as revealed by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio in a Cerrado's oxisol. **Geoderma**, Amsterdam, v. 104, p. 185-202, 2001.

ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 25, p. 39-67, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning**: a laboratory manual. 2. ed. Woodbury: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. p. 1.25-1.30.

SANDAA, R.A.; TORSKIK, V.; ENGER, O. Influence of long-term heavy-metal contamination on microbial communities in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 287-95, 2001.

SCHMIDT, M.W.I.; NOACK, A.G. Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications, and current challenges. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 14, p. 777-793, 2000.

SCHMIDT, M.W.J.; SKJEMSTAD, E.; GEHRT, E.; KÖEL-KNABNER, I. Charred organic carbon in German chernozemic soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 50, p. 351-365, 1999.

SCHLOSS, P.D.; HANDELMAN, J. Introducing to DOTUR, a computer program for defining operation a taxonomic in its and estimating species richness. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 1501-1506, 2005.

SILVEIRA, I.M.; KERN, D.C.; QUARESMA, H.D.A.B. Reconstruindo uma ocupação. In: LISBOA, P.L.B. Caxiuanã populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2002. p. 59-76.

SIMPSON, M.J.; HATCHER, P.G. Determination of black carbon in natural organic matter by chemical oxidation and solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 35, p. 923-935, 2004.

SINGLETON, D.R.; MICHELLE, A.F.; STEPHEN, L.R.A; WILLIAM, B.W. Quantitative comparisons of 16S rRNA gene sequence libraries from environmental samples. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 4374-4376, 2001.

SKJEMSTAD, J.O.; CLARKE, P.; TAYLOR, J.A.; OADES, J.M.; MCCLURE, S.G. The chemistry and nature of protected carbon in soil. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 34, p. 251-271, 1996.

SKJEMSTAD, J.O.; REICOSKY, D.C.; WILTS, A.R.; MCGOWAN, J.A. Charcoal carbon in US Agricultural Soil. **Soil Science Society of the America Journal**, Madison, v. 66, p. 1249-1255, 2002.

SKJEMSTAD, J.O.; TAYLOR, J.A.; SMERNIK, R.J. Estimation of charcoal (char) in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 30, n. 15-16, p. 2289-2298, 1999.

SMERNIK, R.J.; SKJEMSTAD, J.O.; OADES, J.M. Virtual fractionation of charcoal from soil organic matter using solid state ^{13}C NMR spectral editing. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 38, p. 665-683, 2000.

SMITH, N.J.H. Anthrosols and human carrying capacity in Amazonia. **Annals of the Association of American Geographers**, Washington, v. 70, p. 553-566, 1980.

SCHMIDT, D.W.; GRIFFIN, J.J.; GOLDBERG, E.D. A spectroscopic method for the quantitative determination of elemental carbon. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 233-238, 2001.

SUZUKI, M.T.; BÉJA, O.; TAYLOR, T.; DELONG, E.F. Phylogenetic analysis of ribosomal RNA operons from uncultivated coastal marine bacterioplankton. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 3, p. 323-331, 2001.

TAMURA K, DUDLEY J, NEI M & KUMAR S) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution** 24:1596-1599, 2007.

TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 32, p. 141-163, 1994.

THIES, J.E. Soil microbial community analysis using terminal restriction fragment length polymorphisms. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 71, n. 2, p. 579-591, 2007.

TORSVIK, V.; GOKSOYR, J.; DAAE, F.L. High diversity in DNA of soil bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, p. 782-787, 1990.

TSAL, S.M.; CANNAVAN, F.S.; SILVA JUNIOR, J.P.; CHAVES, M.G.; PASSIANOTO, C.C.; BORGES, C.P. Diversidade bacteriana em terra preta de índio baseada em sequenciamento do gene 16S rRNA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBSC, 2003.

VENTER, J.C. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. **Science**, Washington, v. 304, p. 66-74, 2004.

WEISBURG, W.G.; BARNSS, S.M.; PELLETIER, D.A.; LANE, D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 173, p. 697-703, 1991.

WHITTAKER, R.H. New concepts of kingdoms of organisms. **Science**, Washington, v. 163, p. 150-160, 1969.

WOESE, C.R. Bacterial evolution. **FEMS Microbiology Reviews**. Amsterdam, v. 51, p. 221-271, 1987.

WOLBACH, W.S.; ANDERS, E. Elemental carbon in sediments: determination and isotopic analysis in the presence of kerogen. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, New York, v. 53, p. 1637-1647, 1989.

WOODS, W.I.; MCCANN, J.M. El origen y persistencia de las tierras negras de la Amazonía. In: HIRAOKA, M.; MORA, S. (Ed.). **Desarrollo sostenible en la Amazonía**. Quito: Abya Ayala, 2001. p. 23-30.

ZANG, H.; SEKIGUCHI, Y.; HANADA, S.; HUGENHOLTZ, P.; KIM, H.; NAKAMURA, K. *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 53, n. 4, p. 1155-1163, 2003.

ANEXO

ANEXO A – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
1	MITPA1A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp18	100%
2	MITPA1A02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
2	MITPA3H08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
3	MITPA1A03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
3	MITPA3A06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
3	BITPA3B04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
4	MITPA1A04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
4	MITPA2H03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
5	MITPA1A05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
5	MITPA3D07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
6	MITPA1A06	Acidobacteria	85%	Acidobacteria	85%	Acidobacteriales	85%	Acidobacteriaceae	85%	Gp4	85%
7	MICARAC04	Firmicutes	74%	"Clostridia"	63%	"Thermoanaerobacterales"	49%	"Thermoanaerobacteraceae"	49%	Thermanaeromonas	31%
7	MICARBA07	Firmicutes	60%	"Clostridia"	53%	"Thermoanaerobacterales"	36%	"Thermoanaerobacteraceae"	36%	Thermanaeromonas	12%
7	MICARBG08	Firmicutes	61%	"Clostridia"	55%	"Thermoanaerobacterales"	43%	"Thermoanaerobacteraceae"	43%	Thermanaeromonas	26%
7	MICARBB09	Firmicutes	59%	"Clostridia"	54%	"Thermoanaerobacterales"	33%	"Thermoanaerobacteraceae"	33%	Thermanaeromonas	21%
7	MICARBB05	Firmicutes	39%	"Clostridia"	34%	"Thermoanaerobacterales"	21%	"Thermoanaerobacteraceae"	21%	Thermanaeromonas	12%
7	MITPA1A07	Firmicutes	52%	"Clostridia"	45%	"Thermoanaerobacterales"	33%	"Thermoanaerobacteraceae"	33%	Thermanaeromonas	19%
7	MITPA1D02	Firmicutes	59%	"Clostridia"	57%	"Thermoanaerobacterales"	36%	"Thermoanaerobacteraceae"	36%	Thermanaeromonas	21%
8	MITPA1A08	Proteobacteria	93%	Deltaproteobacteria	78%	Myxococcales	50%	Sorangineae	37%	Polyangiaceae	37%
9	MICARAA05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
9	MICARDB07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MICARDC06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MICARDE12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MICARDG09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA1A09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA1C10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA1H01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA1H09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA2C05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA3C05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA3D12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA3E05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
9	MITPA3E06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MICARAF07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MICARAC02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA1A10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA1B04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA1C03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA1G01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA1H02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
10	MITPA2A12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
10	MITPA3E12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
11	MICAREF11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
11	MITPA1A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
11	MITPA2A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
11	BITPA3B03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MICARBD11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MICAREE10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA1A12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA1G03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA2A05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA2D04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA2E03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA2E12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA2F04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3A04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3B07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3C04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3C12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3D05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
12	MITPA3F02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3F03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
12	MITPA3G09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
13	MITPA1B01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
13	MITPA2E08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
14	MITPA1B02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
15	MITPA1B03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
15	MITPA2G04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA1B05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA1B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2A03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2D09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2F01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2F06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2F12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA2G05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA3F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA3F08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
16	MITPA3G03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
17	MITPA1B06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
18	MICAREB08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
18	MITPA1B07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
18	MITPA1G11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
18	MITPA2D03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
19	MITPA1B08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA1C06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA1F04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA2D01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA3B06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA3C01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA3E01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA3F11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	MITPA3G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	BITPA3D05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
19	BITPA3F04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
20	MICARBC06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp18	100%
20	MITPA1B09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp18	100%
21	BICAR3C10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BICAR5E04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BICAR9C01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
21	MICARBD05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA1B10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA1D06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA1D10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA1H07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA1H10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA2C01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA3E03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	MITPA3G10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA1B08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3A03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3A08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3A12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3C09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3D09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3E08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3E10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3E11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3E12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3F02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
21	BITPA3H04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3H08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
21	BITPA3H11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
22	MITPA1B12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
22	MITPA3C03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
23	MITPA1C01	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	98%	Hyphomicrobiaceae	89%	Pedomicrobium	71%
23	MITPA1D03	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	98%	Hyphomicrobiaceae	90%	Pedomicrobium	69%
24	MITPA1C02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
24	MITPA1C12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
24	MITPA3E09	Acidobacteria	96%	Acidobacteria	96%	Acidobacteriales	96%	Acidobacteriaceae	96%	Gp6	96%
25	MICARBA04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
25	MITPA1C04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
25	MITPA2C04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
25	MITPA2H04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
25	MITPA3F01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
25	MITPA3H11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
26	MITPA1C05	Proteobacteria	79%	Deltaproteobacteria	77%	Syntrophobacterales	59%	Syntrophobacteraceae	53%	Desulforhabdus	48%
26	MITPA3D01	Proteobacteria	80%	Deltaproteobacteria	78%	Syntrophobacterales	54%	Syntrophobacteraceae	44%	Desulforhabdus	39%
27	MITPA1C07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
27	MITPA1D05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
28	MITPA1C08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
28	MITPA3A02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
29	MITPA1C09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
30	MITPA1C11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA1H03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA1H05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2B02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2C12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2D10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2E01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2E11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA2F11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA3B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA3C09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA3E04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	MITPA3G12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
30	BITPA3G09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
31	MITPA1D01	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	100%	Comamonadaceae	99%	Ramlibacter	54%
32	MICAREG03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
32	MITPA1D04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp15	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
33	MITPA1D07	Deinococcus-Thermus	22%	Deinococci	22%	Thermales	18%	Thermaceae	18%	Marinithermus	14%
34	MICARAG12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARBF03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARBC03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARCF05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARCD10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARDD05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MICARDE07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA1D08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA2B07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA2B12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA2C06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA2D11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA3C10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA3C11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA3D09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA3D10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	MITPA3H03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
34	BITPA1E02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
35	MITPA1D09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
35	BITPA3E06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
36	BICAR4B09	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	BICAR4B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
36	BICAR4C08	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	BICAR4E05	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	BICAR4E08	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	BICAR4H12	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp4	98%
36	BICAR5B04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
36	BICAR5D02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
36	BICAR5D12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
36	BICAR5G04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
36	MITPA1D11	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	MITPA2H09	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
36	MITPA3F04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
37	MITPA1D12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
38	MITPA1E01	Firmicutes	11%	"Clostridia"	11%	Clostridiales	9%	Clostridiaceae	6%	"Clostridiaceae 1"	6%
39	MITPA1E02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
40	MICARAB08	Proteobacteria	92%	Deltaproteobacteria	88%	Syntrophobacteriales	36%	Syntrophaceae	36%	Smithella	32%
40	MITPA1E03	Proteobacteria	98%	Deltaproteobacteria	97%	Desulfuromonales	51%	Geobacteraceae	47%	Trichlorobacter	36%
41	MICARAD01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
41	MITPA1E04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
41	MITPA1G09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
41	MITPA2C07	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp7	97%
41	MITPA2G07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
42	MITPA1E05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
42	MITPA2B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
42	MITPA2G02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
43	MITPA1E06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
44	MITPA1E07	Firmicutes	72%	"Clostridia"	72%	"Thermoanaerobacterales"	67%	Thermodesulfobiaceae	67%	Thermodesulfobium	67%
45	MITPA1E08	WS3	100%	WS3_genera_incertainae_sedis	100%						
46	MICARAE07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MICARBE10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MICARBD08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MITPA1E10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MITPA1F03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MITPA2G08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MITPA3B03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
46	MITPA3E10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
47	MITPA1E11	Proteobacteria	79%	Deltaproteobacteria	75%	Desulfuromonales	23%	Geobacteraceae	22%	Geothermobacter	19%
47	MITPA1G10	Proteobacteria	82%	Deltaproteobacteria	76%	Desulfuromonales	34%	Geobacteraceae	34%	Geothermobacter	20%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
48	MICAREF03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
48	MITPA1E12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
49	MITPA1F01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp18	100%
50	MICARAG10	Proteobacteria	92%	Deltaproteobacteria	92%	Desulfuromonales	40%	Geobacteraceae	35%	Trichlorobacter	34%
50	MICARBE03	Proteobacteria	96%	Deltaproteobacteria	96%	Desulfuromonales	25%	Geobacteraceae	25%	Trichlorobacter	23%
50	MICAREG10	Proteobacteria	94%	Deltaproteobacteria	92%	Desulfuromonales	44%	Geobacteraceae	44%	Trichlorobacter	42%
50	MITPA1F02	Proteobacteria	97%	Deltaproteobacteria	97%	Desulfuromonales	43%	Geobacteraceae	42%	Trichlorobacter	26%
50	MITPA1F07	Proteobacteria	97%	Deltaproteobacteria	97%	Desulfuromonales	38%	Geobacteraceae	36%	Trichlorobacter	25%
51	MITPA1F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
52	MICARAD02	Acidobacteria	96%	Acidobacteria	96%	Acidobacteriales	96%	Acidobacteriaceae	96%	Gp6	96%
52	MITPA1F06	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp6	99%
52	MITPA2F03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
53	MITPA1F08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
53	MITPA2D06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
54	MITPA1F09	Acidobacteria	91%	Acidobacteria	91%	Acidobacteriales	91%	Acidobacteriaceae	91%	Gp4	91%
54	MITPA2D07	Acidobacteria	58%	Acidobacteria	58%	Acidobacteriales	58%	Acidobacteriaceae	58%	Gp4	58%
54	MITPA3E02	Acidobacteria	79%	Acidobacteria	79%	Acidobacteriales	79%	Acidobacteriaceae	79%	Gp4	79%
55	MITPA1F10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
55	BITPA3A04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp15	100%
56	BICAR8E03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
56	MITPA1F11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
56	MITPA2E02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
56	MITPA3B09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
56	BITPA1E07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
56	BITPA3F03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
57	MITPA1F12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
57	MITPA2F09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
58	MICARBB12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
58	MITPA1G04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
58	MITPA3D03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
59	MICAREF05	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp11	99%
59	MITPA1G05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
59	MITPA2G10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	99%
59	MITPA3F12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
60	MICARAE06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
60	MICARAB03	Acidobacteria	94%	Acidobacteria	94%	Acidobacteriales	94%	Acidobacteriaceae	94%	Gp4	94%
60	MITPA1G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
60	MITPA3G07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
61	MITPA1G07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp18	100%
62	MITPA1G08	Chloroflexi	40%	Anaerolineae	40%	Caldilineae	28%	Caldilineales	28%	Caldilineacea	28%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
62	MITPA2C09	Spirochaetes	27%	Spirochaetes	27%	Spirochaetales	27%	Spirochaetaceae	27%	Brevinema	27%
63	BICAR3F06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BICAR4F01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BICAR5A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BICAR5B06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BICAR5E07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BICAR5F06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	MITPA1G12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	MITPA2B01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	MITPA2H05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BITPA2B07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BITPA3A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BITPA3B08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BITPA3B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
63	BITPA3H07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
64	MITPA1H04	Proteobacteria	86%	Deltaproteobacteria	75%	Syntrophobacteriales	35%	Syntrophaceae	30%	Smithella	29%
65	MITPA1H06	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteriales	12%	Thermodesulfobacteriaceae	12%	Thermodesulfatator	11%
66	MICARDD11C	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
66	MICAREAO9	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
66	MITPA1H08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
66	MITPA2B08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
66	MITPA3A03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
67	MICARBE09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
67	MITPA1H11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
67	MITPA2E07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
67	MITPA3A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
68	MICARBB08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
68	MITPA2A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
68	MITPA2C03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
68	MITPA3A09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
69	MITPA2A02	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	99%	Rhodocyclales	30%	Rhodocyclaceae	30%	Denitratisoma	29%
70	MITPA2A04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
70	MITPA2G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
70	MITPA2H01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
70	MITPA3F06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
70	MITPA3H01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
71	MITPA2A06	Firmicutes	64%	"Clostridia"	64%	"Thermoanaerobacterales"	63%	Thermodesulfobiaceae	62%	Thermodesulfobium	62%
71	MITPA3H10	Firmicutes	61%	"Clostridia"	61%	"Thermoanaerobacterales"	61%	Thermodesulfobiaceae	61%	Thermodesulfobium	61%
72	MICAREC10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
72	MITPA2A07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
73	MICAREA12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
73	MITPA2A08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
74	MITPA2A09	Proteobacteria	68%	Deltaproteobacteria	61%	Desulfuromonales	17%	Geobacteraceae	17%	Geothermobacter	16%
74	MITPA3H04	Proteobacteria	70%	Deltaproteobacteria	62%	Desulfuromonales	21%	Geobacteraceae	21%	Geothermobacter	18%
75	MITPA2A10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp9	100%
75	MITPA3A12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp9	100%
75	MITPA3D11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp9	100%
76	MITPA2B04	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
77	MITPA2B05	Firmicutes	27%	"Clostridia"	22%	Clostridiales	18%	Clostridiaceae	8%	Clostridiaceae 3	6%
77	MITPA2D02	Firmicutes	36%	"Clostridia"	33%	Clostridiales	25%	Clostridiaceae	12%	Clostridiaceae 3	9%
78	MITPA2B06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
79	MITPA2B09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
79	MITPA3B10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
79	MITPA3F10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
79	BITPA3F06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
80	MITPA2B10	Chloroflexi	33%	Anaerolineae	33%	Caldilineae	23%	Caldilineales	23%	Caldilineacea	23%
80	MITPA2F02	Chloroflexi	30%	Anaerolineae	30%	Caldilineae	25%	Caldilineales	25%	Caldilineacea	25%
81	MITPA2C02	Actinobacteria	10%	Actinobacteria	10%	Rubrobacteridae	10%	Rubrobacterales	10%	Rubrobacterineae	10%
82	MITPA2C08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
82	MITPA2H02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
82	MITPA3A07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
82	MITPA3F09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
82	MITPA3G01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
82	MITPA3G11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
83	MITPA2C10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
83	MITPA3H05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
84	MICARBF01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
84	MITPA2C11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
84	MITPA3D06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
85	BICAR1F10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BICAR7H03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BICAR8A06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICARAG01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICARAF10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICARAB11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICARBD10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICAREH02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MICAREC08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MITPA2D05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	MITPA3A10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
85	BITPA1A02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
85	BITPA1B04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
85	BITPA1B10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1C01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1D01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1D02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1E06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1E10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1F10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA1G05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2A10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2B05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2B08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2C04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	97%
85	BITPA2C12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2D01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2D04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2E02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2F08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA2H02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
85	BITPA2H09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3A02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3A05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3A09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3A10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	98%
85	BITPA3B09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3D07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3D08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3E03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3E07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3F12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	99%
85	BITPA3G07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3H06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
85	BITPA3H10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
86	MITPA2D08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
87	MITPA2D12	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
88	MITPA2E04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
89	MICARBA08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
89	MITPA2E05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
89	MITPA2G01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
90	BICAR4B03	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
90	BICAR4C10	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
90	MICAREG04	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
90	MITPA2E06	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
91	MITPA2E09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
92	MITPA2E10	Proteobacteria	87%	Deltaproteobacteria	83%	Myxococcales	39%	Sorangineae	38%	Polyangiaceae	38%
93	MITPA2F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
94	MITPA2F07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
94	BITPA1B05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
94	BITPA3F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
95	MITPA2F08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp15	100%
96	MITPA2G03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
97	MITPA2G09	Proteobacteria	93%	Deltaproteobacteria	90%	Syntrophobacteriales	16%	Syntrophaceae	14%	Desulfobacca	13%
98	MITPA2G11	Proteobacteria	100%	Deltaproteobacteria	100%	Myxococcales	100%	Sorangineae	99%	Polyangiaceae	99%
98	MITPA3H09	Proteobacteria	98%	Deltaproteobacteria	96%	Myxococcales	89%	Sorangineae	83%	Polyangiaceae	83%
99	MICARBD06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
99	MICAREE01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
99	MITPA2G12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
100	MICARAH05	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	94%	Incertae sedis 5	41%	Schlegelella	23%
100	MICARAE08	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	94%	Incertae sedis 5	41%	Schlegelella	23%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
100	MITPA2H06	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	95%	Burkholderiales	79%	Incertae sedis 5	65%	Schlegelella	17%
101	MITPA2H10	Chloroflexi	88%	Anaerolineae	88%	Caldilineae	73%	Caldilineales	73%	Caldilineacea	73%
102	MITPA2H11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp5	100%
103	MITPA3A05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
103	MITPA3G04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
103	MITPA3H06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
104	MITPA3A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
105	MITPA3B01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
106	MITPA3B02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
107	MITPA3B05	Proteobacteria	93%	Deltaproteobacteria	93%	Desulfurellales	30%	Desulfurellaceae	30%	Hippea	30%
108	MITPA3B08	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	93%
108	MITPA3G02	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	92%
109	MITPA3B12	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp6	99%
110	MITPA3C02	Proteobacteria	41%	Deltaproteobacteria	37%	Myxococcales	25%	Sorangineae	24%	Polyangiaceae	24%
111	MICARDE09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
111	MITPA3C06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp17	100%
112	MITPA3C07	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
113	MITPA3C08	Proteobacteria	55%	Deltaproteobacteria	54%	Desulfobacterales	17%	Nitrospinaceae	16%	Nitrospina	16%
113	MITPA3H07	Proteobacteria	51%	Deltaproteobacteria	47%	Desulfobacterales	16%	Nitrospinaceae	12%	Nitrospina	12%
114	MITPA3D04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
115	MICARAH02	Proteobacteria	81%	Deltaproteobacteria	65%	Desulfuromonales	37%	Geobacteraceae	37%	Geothermobacter	37%
115	MITPA3D08	Proteobacteria	60%	Deltaproteobacteria	53%	Desulfobacterales	14%	Desulfobacteriaceae	11%	Desulfocella	8%
116	MITPA3E07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
116	MITPA3E11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
117	MITPA3E08	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
118	MITPA3F07	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	97%	Methylobacteriaceae	36%	Microvirga	35%
118	BITPA2G02	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	97%	Hyphomicrobiaceae	93%	Blastochloris	89%
119	MITPA3H02	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Isosphaera	38%
120	MICARAA02	Acidobacteria	49%	Acidobacteria	49%	Acidobacteriales	49%	Acidobacteriaceae	49%	Gp6	46%
120	MICARAH11	Acidobacteria	53%	Acidobacteria	53%	Acidobacteriales	53%	Acidobacteriaceae	53%	Gp6	52%
120	MICARAH08	Acidobacteria	74%	Acidobacteria	74%	Acidobacteriales	74%	Acidobacteriaceae	74%	Gp6	73%
120	MICARAG07	Acidobacteria	44%	Acidobacteria	44%	Acidobacteriales	44%	Acidobacteriaceae	44%	Gp6	43%
120	MICARAG06	Acidobacteria	42%	Acidobacteria	42%	Acidobacteriales	42%	Acidobacteriaceae	42%	Gp6	41%
120	MICARAF09	Acidobacteria	41%	Acidobacteria	41%	Acidobacteriales	41%	Acidobacteriaceae	41%	Gp6	40%
120	MICARAE01	Acidobacteria	60%	Acidobacteria	60%	Acidobacteriales	60%	Acidobacteriaceae	60%	Gp6	57%
120	MICARAD04	Acidobacteria	46%	Acidobacteria	46%	Acidobacteriales	46%	Acidobacteriaceae	46%	Gp6	46%
120	MICARAD03	Acidobacteria	49%	Acidobacteria	49%	Acidobacteriales	49%	Acidobacteriaceae	49%	Gp6	49%
120	MICARAC09	Acidobacteria	48%	Acidobacteria	48%	Acidobacteriales	48%	Acidobacteriaceae	48%	Gp6	47%
120	MICARAB10	Acidobacteria	43%	Acidobacteria	43%	Acidobacteriales	43%	Acidobacteriaceae	43%	Gp6	43%
120	MICARAB04	Acidobacteria	56%	Acidobacteria	56%	Acidobacteriales	56%	Acidobacteriaceae	56%	Gp6	56%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
120	MICARAA10	Acidobacteria	55%	Acidobacteria	55%	Acidobacteriales	55%	Acidobacteriaceae	55%	Gp6	53%
121	BICAR6B11	Firmicutes	32%	"Clostridia"	29%	Halanaerobiales	16%	Halanaerobiaceae	15%	Halothermothrix	11%
121	MICARAH10	Thermodesulfobacteria	16%	Thermodesulfobacteria	16%	Thermodesulfobacteriales	16%	Thermodesulfobacteriaceae	16%	Thermodesulfatator	16%
122	MICARAH09	Verrucomicrobia	22%	Verrucomicrobiae	22%	Verrucomicrobiales	22%	Verrucomicrobiaceae	22%	Verrucomicrobium	20%
122	MICARAG09	Planctomycetes	34%	Planctomycetacia	34%	Planctomycetales	34%	Planctomycetaceae	34%	Pirellula	22%
123	MICARAH06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
123	BITPA3B10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
124	MICARAH01	Actinobacteria	98%	Actinobacteria	98%	Acidimicrobiae	35%	Acidimicrobiales	35%	Acidimicrobineae	35%
125	MICARAG11	Proteobacteria	100%	Gammaproteobacteria	100%	Pseudomonadales	100%	Moraxellaceae	100%	Acinetobacter	100%
126	MICARAG05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
127	MICARAG04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	98%	"Paenibacillaceae"	94%	"Paenibacillaceae 1"	94%
127	MICARBH08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	99%	"Paenibacillaceae 1"	99%
127	MICARDA11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	96%	"Paenibacillaceae 1"	96%
128	MICARAF12	Actinobacteria	98%	Actinobacteria	98%	Actinobacteridae	66%	Actinomycetales	66%	Micromonosporineae	32%
129	MICARAF11	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Bradyrhizobiaceae	100%	Afipia	59%
129	BITPA3G11	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Bradyrhizobiaceae	100%	Bradyrhizobium	77%
130	BICAR1D05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
130	BICAR2F07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
130	BICAR4B05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	99%	"Paenibacillaceae 1"	99%
130	MICARAF05	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	99%	"Paenibacillaceae 1"	99%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
130	BITPA1A09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	95%	"Paenibacillaceae 1"	95%
131	MICARAF04	Acidobacteria	88%	Acidobacteria	88%	Acidobacteriales	88%	Acidobacteriaceae	88%	Gp7	87%
132	MICARAF03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
132	MICARAC03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
132	MICARAB02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
133	MICARAF02	Verrucomicrobia	98%	Verrucomicrobiae	98%	Verrucomicrobiales	98%	Subdivision 3	98%	Incertae_sedis	98%
134	MICARAF01	Actinobacteria	88%	Actinobacteria	88%	Rubrobacteridae	66%	Rubrobacterales	66%	Rubrobacterineae	66%
135	MICARAE11	Aquificae	33%	Aquificae	33%	Aquificales	33%	Incertae sedis 2	33%	Desulfurobacterium	32%
135	MICARBH06	Aquificae	39%	Aquificae	39%	Aquificales	39%	Incertae sedis 2	36%	Desulfurobacterium	34%
136	MICARAE09	Proteobacteria	28%	Deltaproteobacteria	21%	Desulfurellales	15%	Desulfurellaceae	15%	Hipaea	15%
137	MICARAE05	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
138	MICARAE03	Bacteroidetes	34%	Sphingobacteria	15%	Sphingobacteriales	15%	Flexibacteraceae	14%	Marinicola	11%
139	MICARAD08	Actinobacteria	30%	Actinobacteria	30%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
139	MICARBG05	Actinobacteria	29%	Actinobacteria	29%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
139	MICARBC04	Actinobacteria	37%	Actinobacteria	37%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
140	MICARAC01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
141	MICARAB07	Actinobacteria	100%	Actinobacteria	100%	Actinobacteridae	100%	Actinomycetales	100%	Streptomycineae	100%
142	MICARAB06	Thermodesulfobacteria	16%	Thermodesulfobacteria	16%	Thermodesulfobacteriales	16%	Thermodesulfobacteriaceae	16%	Thermodesulfator	16%
143	MICARAB01	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	86%	Burkholderiales	33%	Incertae sedis 5	12%	Schlegelella	10%
144	MICARBA06	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	70%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
144	MICARBG07	Planctomycetes	98%	Planctomycetacia	98%	Planctomycetales	98%	Planctomycetaceae	98%	Pirellula	68%
144	MICARBE07	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	76%
144	MICARDH05	Planctomycetes	99%	Planctomycetacia	99%	Planctomycetales	99%	Planctomycetaceae	99%	Pirellula	66%
145	MICARBH12	Planctomycetes	99%	Planctomycetacia	99%	Planctomycetales	99%	Planctomycetaceae	99%	Pirellula	80%
145	MICARCB05	Planctomycetes	99%	Planctomycetacia	99%	Planctomycetales	99%	Planctomycetaceae	99%	Pirellula	90%
146	MICARBH10	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	94%	Burkholderiales	84%	Incertae sedis 5	50%	Schlegelella	4%
147	MICARBH09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
147	BITPA2E10	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
148	MICARBH07	Acidobacteria	79%	Acidobacteria	79%	Acidobacteriales	79%	Acidobacteriaceae	79%	Gp4	79%
148	MICARBG09	Acidobacteria	83%	Acidobacteria	83%	Acidobacteriales	83%	Acidobacteriaceae	83%	Gp4	83%
148	MICARBF07	Acidobacteria	78%	Acidobacteria	78%	Acidobacteriales	78%	Acidobacteriaceae	78%	Gp4	78%
148	MICARBE12	Acidobacteria	92%	Acidobacteria	92%	Acidobacteriales	92%	Acidobacteriaceae	92%	Gp4	92%
148	MICARBD04	Acidobacteria	76%	Acidobacteria	76%	Acidobacteriales	76%	Acidobacteriaceae	76%	Gp4	76%
148	MICARBC09	Acidobacteria	92%	Acidobacteria	92%	Acidobacteriales	92%	Acidobacteriaceae	92%	Gp4	92%
149	MICARBH04	Planctomycetes	99%	Planctomycetacia	99%	Planctomycetales	99%	Planctomycetaceae	99%	Pirellula	51%
150	MICARBH02	Proteobacteria	26%	Deltaproteobacteria	26%	Desulfovibrionales	26%	Desulfovibrionaceae	26%	Bilophila	24%
151	MICARBH01	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Gemmata	83%
152	MICARBG11	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhodospirillales	70%	Rhodospirillaceae	63%	Magnetospirillum	36%
152	MICARBB10	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhodospirillales	59%	Rhodospirillaceae	48%	Magnetospirillum	36%
153	MICARBG10	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
153	MICARCE09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
154	MICARBG03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
155	MICARBG01	Chloroflexi	35%	Anaerolineae	35%	Caldilineae	30%	Caldilineales	30%	Caldilineacea	30%
155	MICARBD03	Chloroflexi	35%	Anaerolineae	35%	Caldilineae	29%	Caldilineales	29%	Caldilineacea	29%
156	MICARBF12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
156	BITPA3A11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
157	MICARBF10	Lentisphaerae	13%	Lentisphaerae	13%	Victivallales	6%	Victivallaceae	6%	Victivallis	6%
157	MICARBA12	Chlamydiae	13%	Chlamydiae	13%	Chlamydiales	13%	Simkaniaceae	9%	Rhabdochlamydia	8%
158	MICARBF09	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	77%	Alcaligenaceae	24%	Derxia	11%
158	MICARBD09	Proteobacteria	99%	Betaproteobacteria	96%	Burkholderiales	80%	Incertae sedis 5	34%	Thiobacter	23%
158	BITPA1B07	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	88%	Burkholderiales	76%	Incertae sedis 5	28%	Schlegelella	8%
159	MICARBF08	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Gemmata	80%
160	MICARBF06	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Isosphaera	44%
160	MICARBC05	Planctomycetes	98%	Planctomycetacia	98%	Planctomycetales	98%	Planctomycetaceae	98%	Isosphaera	70%
160	MICARDF08	Planctomycetes	97%	Planctomycetacia	97%	Planctomycetales	97%	Planctomycetaceae	97%	Isosphaera	48%
161	MICARBF02	Proteobacteria	90%	Deltaproteobacteria	82%	Desulfurellales	9%	Desulfurellaceae	9%	Hippea	9%
162	MICARBD12	Planctomycetes	24%	Planctomycetacia	24%	Planctomycetales	24%	Planctomycetaceae	24%	Pirellula	21%
162	MICARCE05	Lentisphaerae	30%	Lentisphaerae	30%	Lentisphaerales	26%	Lentisphaeraceae	26%	Lentisphaera	26%
163	MICARBC12	Chloroflexi	94%	Anaerolineae	85%	Caldilineae	70%	Caldilineales	70%	Caldilineacea	70%
163	MICARBC11	Chloroflexi	76%	Anaerolineae	79%	Caldilineae	62%	Caldilineales	52%	Caldilineacea	52%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
163	MICARCC10	Chloroflexi	78%	Anaerolineae	62%	Caldilineae	42%	Caldilineales	42%	Caldilineacea	42%
164	MICARBC08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
165	MICARBB04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	90%	"Bacillaceae 1"	87%
166	MICARBB03	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Gemmata	98%
167	MICARBA11	Actinobacteria	22%	Actinobacteria	22%	Rubrobacteridae	16%	Rubrobacterales	16%	Rubrobacterineae	16%
168	MICARCA07	Actinobacteria	16%	Actinobacteria	16%	Rubrobacteridae	15%	Rubrobacterales	15%	Rubrobacterineae	15%
168	MICARCH08	Actinobacteria	18%	Actinobacteria	18%	Rubrobacteridae	17%	Rubrobacterales	17%	Rubrobacterineae	17%
168	MICARCH03	Actinobacteria	19%	Actinobacteria	19%	Rubrobacteridae	18%	Rubrobacterales	18%	Rubrobacterineae	18%
168	MICARCG11	Actinobacteria	22%	Actinobacteria	22%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
168	MICARCG10	Actinobacteria	23%	Actinobacteria	23%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
168	MICARCG03	Actinobacteria	10%	Actinobacteria	10%	Rubrobacteridae	10%	Rubrobacterales	10%	Rubrobacterineae	10%
168	MICARCF06	Actinobacteria	23%	Actinobacteria	23%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
168	MICARCE01	Actinobacteria	18%	Actinobacteria	18%	Rubrobacteridae	17%	Rubrobacterales	17%	Rubrobacterineae	17%
168	MICARCC12	Actinobacteria	24%	Actinobacteria	24%	Rubrobacteridae	23%	Rubrobacterales	23%	Rubrobacterineae	23%
168	MICARCC09	Actinobacteria	19%	Actinobacteria	19%	Rubrobacteridae	19%	Rubrobacterales	19%	Rubrobacterineae	19%
168	MICARCC05	Actinobacteria	16%	Actinobacteria	16%	Rubrobacteridae	16%	Rubrobacterales	16%	Rubrobacterineae	16%
168	MICARCB11	Actinobacteria	28%	Actinobacteria	28%	Rubrobacteridae	26%	Rubrobacterales	26%	Rubrobacterineae	26%
168	MICARCB10	Actinobacteria	22%	Actinobacteria	22%	Rubrobacteridae	22%	Rubrobacterales	22%	Rubrobacterineae	22%
168	MICARCB09	Actinobacteria	18%	Actinobacteria	18%	Rubrobacteridae	17%	Rubrobacterales	17%	Rubrobacterineae	17%
168	MICARCB07	Actinobacteria	21%	Actinobacteria	21%	Rubrobacteridae	21%	Rubrobacterales	21%	Rubrobacterineae	21%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
168	MICARCB06	Actinobacteria	24%	Actinobacteria	24%	Rubrobacteridae	24%	Rubrobacterales	24%	Rubrobacterineae	24%
168	MICARCB03	Actinobacteria	18%	Actinobacteria	18%	Rubrobacteridae	18%	Rubrobacterales	18%	Rubrobacterineae	18%
169	MICARCG09	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	81%
170	MICARCE07	Proteobacteria	77%	Deltaproteobacteria	75%	Desulfuromonales	61%	Geobacteraceae	58%	Geothermobacter	28%
171	MICARCC01	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
171	MICAREA11	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
172	MICARDA08	Proteobacteria	87%	Gammaproteobacteria	22%	Xanthomonadales	22%	Xanthomonadaceae	22%	Silanimonas	18%
172	MICARDA09	Proteobacteria	97%	Alphaproteobacteria	63%	Rhodospirillales	28%	Acetobacteraceae	24%	Teichococcus	15%
172	MICARDB04	Proteobacteria	91%	Gammaproteobacteria	20%	Xanthomonadales	18%	Xanthomonadaceae	18%	Silanimonas	18%
172	MICARDB05	Proteobacteria	96%	Alphaproteobacteria	74%	Rhodospirillales	44%	Acetobacteraceae	36%	Teichococcus	22%
172	MICARDC04	Proteobacteria	94%	Alphaproteobacteria	73%	Rhodospirillales	44%	Acetobacteraceae	36%	Teichococcus	18%
172	MICARDD03	Proteobacteria	98%	Alphaproteobacteria	76%	Rhodospirillales	28%	Acetobacteraceae	23%	Teichococcus	15%
172	MICARDD09	Proteobacteria	96%	Alphaproteobacteria	82%	Rhodospirillales	28%	Acetobacteraceae	24%	Teichococcus	10%
172	MICARDE03	Proteobacteria	97%	Alphaproteobacteria	75%	Rhodospirillales	35%	Acetobacteraceae	22%	Teichococcus	15%
172	MICARDG05	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	79%	Rhodospirillales	38%	Acetobacteraceae	26%	Teichococcus	15%
172	MICARDG07	Proteobacteria	96%	Alphaproteobacteria	70%	Rhodospirillales	35%	Acetobacteraceae	26%	Teichococcus	12%
172	MICARDG10	Proteobacteria	92%	Alphaproteobacteria	74%	Rhodospirillales	33%	Acetobacteraceae	26%	Teichococcus	17%
172	MICARDH04	Proteobacteria	95%	Alphaproteobacteria	74%	Rhodospirillales	40%	Acetobacteraceae	29%	Teichococcus	19%
173	MICARDB06	Proteobacteria	65%	Epsilonproteobacteria	32%	Campylobacteriales	32%	Helicobacteraceae	32%	Wolinella	12%
174	MICARDB08	Proteobacteria	100%	Gammaproteobacteria	91%	Legionellales	46%	Coxiellaceae	46%	Coxiella	35%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
175	MICARDD06	Planctomycetes	98%	Planctomycetacia	98%	Planctomycetales	98%	Planctomycetaceae	98%	Planctomyces	48%
175	MICARDH11	Planctomycetes	99%	Planctomycetacia	99%	Planctomycetales	99%	Planctomycetaceae	99%	Planctomyces	43%
176	MICARDD07	Actinobacteria	77%	Actinobacteria	77%	Rubrobacteridae	63%	Rubrobacterales	63%	Rubrobacterineae	63%
177	MICARDE05	OP10	83%	OP10_genera_incertae_sedis	83%						
178	MICARDF06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
178	MICAREH03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	99%	"Paenibacillaceae 1"	99%
178	MICAREB03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
179	MICARDG03	Proteobacteria	77%	Deltaproteobacteria	72%	Desulfurellales	16%	Desulfurellaceae	16%	Hipaea	16%
180	MICARDH06	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	95%	Alcaligenaceae	30%	Pigmentiphaga	12%
181	MICARDH08	Chlamydiae	30%	Chlamydiae	30%	Chlamydiales	30%	Simkaniaceae	23%	Simkania	23%
182	MICARDH09	Proteobacteria	100%	Gammaproteobacteria	87%	Xanthomonadales	74%	Xanthomonadaceae	74%	Dokdonella	35%
183	MICARDH10	Proteobacteria	88%	Deltaproteobacteria	82%	Myxococcales	32%	Sorangineae	32%	Polyangiaceae	32%
184	MICAREA05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREA06	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp4	99%
184	MICAREH05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREH04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREG07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREG05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREF10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREF08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
184	MICAREF07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREF04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREE11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREE08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICARED10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICARED09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICARED06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREC06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREB07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
184	MICAREB01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
185	MICAREH11	Proteobacteria	74%	Alphaproteobacteria	74%	Rhizobiales	63%	Hyphomicrobiaceae	29%	Prosthecomicrobium	27%
186	MICAREH10	Firmicutes	31%	"Clostridia"	29%	"Thermoanaerobacterales"	17%	"Thermoanaerobacteraceae"	14%	Thermacetogenium	14%
186	MICAREF09	Firmicutes	28%	"Clostridia"	26%	"Thermoanaerobacterales"	17%	"Thermoanaerobacteraceae"	11%	Thermacetogenium	10%
186	MICARED07	Chloroflexi	47%	Anaerolineae	23%	Caldilineae	22%	Caldilineales	22%	Caldilineacea	22%
186	MICAREC07	Firmicutes	26%	"Clostridia"	24%	"Thermoanaerobacterales"	15%	"Thermoanaerobacteraceae"	13%	Thermacetogenium	13%
187	MICAREH09	Planctomycetes	100%	Planctomycetacia	100%	Planctomycetales	100%	Planctomycetaceae	100%	Pirellula	42%
188	MICAREH08	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp18	98%
189	MICAREH07	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	88%	Methylobacteriaceae	45%	Microvirga	38%
190	MICAREG12	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
191	MICAREF01	Actinobacteria	100%	Actinobacteria	100%	Actinobacteridae	100%	Actinomycetales	100%	Micrococcineae	86%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
192	MICAREE09	Thermodesulfobacteria	23%	Thermodesulfobacteria	23%	Thermodesulfobacteriales	23%	Thermodesulfobacteriaceae	23%	Thermodesulfatator	23%
192	MICAREB12	Thermodesulfobacteria	25%	Thermodesulfobacteria	25%	Thermodesulfobacteriales	25%	Thermodesulfobacteriaceae	25%	Thermodesulfatator	25%
193	MICARED12	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
194	BICAR7A06	Proteobacteria	82%	Deltaproteobacteria	82%	Myxococcales	28%	Cystobacterineae	17%	Cystobacteraceae	17%
194	MICARED11	Proteobacteria	92%	Deltaproteobacteria	91%	Desulfuromonales	21%	Geobacteraceae	18%	Trichlorobacter	10%
194	MICAREA07	Proteobacteria	82%	Deltaproteobacteria	80%	Syntrophobacteriales	22%	Syntrophaceae	19%	Smithella	13%
195	MICARED08	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
196	MICARED01	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
196	BITPA1B03	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
197	MICAREC04	Proteobacteria	100%	Deltaproteobacteria	100%	Myxococcales	100%	Cystobacterineae	100%	Cystobacteraceae	100%
198	MICAREB09	Proteobacteria	100%	Gammaproteobacteria	99%	Chromatiales	56%	Chromatiaceae	50%	Thioflaviccoccus	17%
199	MICAREB06	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Sphingomonadales	100%	Sphingomonadaceae	100%	Novosphingobium	63%
200	BITPA1A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
200	BITPA2E01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
200	BITPA3G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
201	BITPA1A03	Proteobacteria	98%	Deltaproteobacteria	97%	Desulfuromonales	44%	Geobacteraceae	44%	Trichlorobacter	40%
202	BITPA1A04	Proteobacteria	40%	Deltaproteobacteria	39%	Myxococcales	22%	Cystobacterineae	20%	Cystobacteraceae	20%
203	BITPA1A07	Verrucomicrobia	11%	Verrucomicrobiae	11%	Verrucomicrobiales	11%	Verrucomicrobiaceae	9%	Verrucomicrobium	9%
204	BITPA1B01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Planococcaceae	99%	Kurthia	99%
205	BITPA1B09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	83%	Xiphinematobacteriaceae	83%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
206	BICAR1H09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR3E10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR3G06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR4A10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
206	BICAR4D07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR4F03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
206	BICAR4F10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR4G10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	99%
206	BICAR5F03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR5G12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	99%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	99%
206	BICAR5H10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR9A03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR6B07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BICAR6C01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA1B12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA1C04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	97%
206	BITPA1D07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA1D12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA1F01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA2A11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
206	BITPA2B12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA2F01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA3F01	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
206	BITPA3F11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
207	BICAR6F02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
207	BITPA1C02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
207	BITPA1C09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	99%
207	BITPA1D06	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
207	BITPA3A07	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	98%
207	BITPA3C02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
207	BITPA3D11	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	98%
207	BITPA3F10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	95%
208	BITPA1C05	Proteobacteria	96%	Deltaproteobacteria	76%	Myxococcales	53%	Sorangineae	30%	Polyangiaceae	30%
209	BITPA1C10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
210	BITPA1C12	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp2	98%
211	BITPA1D04	Firmicutes	99%	"Bacilli"	88%	Bacillales	80%	Bacillaceae	49%	"Bacillaceae 1" Subdivision	38%
212	BITPA1D05	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	3_genera_incertae_sedis	100%
213	BITPA1D08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	98%	"Paenibacillaceae 1"	98%
214	BITPA1D10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	99%	Bacillaceae	95%	"Bacillaceae 2"	36%
215	BITPA1E01	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Beijerinckiaceae	100%	Beijerinckia	54%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
216	BITPA1E04	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	91%	Rhizobiales	83%	Hyphomicrobiaceae	35%	Starkeya	13%
217	BICAR3H07	Chloroflexi	20%	Anaerolineae	20%	Caldilineae	20%	Caldilineales	20%	Caldilineacea	20%
217	BICAR3H08	Chloroflexi	19%	Anaerolineae	19%	Caldilineae	19%	Caldilineales	19%	Caldilineacea	19%
217	BITPA1E05	Proteobacteria	68%	Alphaproteobacteria	36%	Rhodospirillales	24%	Acetobacteraceae	19%	Teichococcus	11%
218	BITPA1E09	Proteobacteria	96%	Alphaproteobacteria	86%	Rhizobiales	47%	Hyphomicrobiaceae	23%	Prosthecomicrobium	12%
219	BICAR3D05	Proteobacteria	95%	Deltaproteobacteria	94%	Desulfurellales	44%	Desulfurellaceae	44%	Hippea	44%
219	BICAR4C09	Proteobacteria	99%	Deltaproteobacteria	99%	Syntrophobacterales	61%	Syntrophaceae	50%	Smithella	47%
219	BICAR4E09	Proteobacteria	99%	Deltaproteobacteria	99%	Syntrophobacterales	61%	Syntrophaceae	50%	Smithella	47%
219	BICAR5C07	Proteobacteria	98%	Deltaproteobacteria	98%	Syntrophobacterales	57%	Syntrophaceae	50%	Smithella	46%
219	BICAR5D05	Proteobacteria	98%	Deltaproteobacteria	98%	Syntrophobacterales	57%	Syntrophaceae	50%	Smithella	46%
219	BICAR8F11	Proteobacteria	94%	Deltaproteobacteria	93%	Syntrophobacterales	41%	Syntrophaceae	37%	Smithella	35%
219	BITPA1E12	Proteobacteria	97%	Deltaproteobacteria	97%	Syntrophobacterales	37%	Syntrophaceae	33%	Smithella	25%
220	BITPA1F02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
221	BICAR4D11	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Hyphomicrobiaceae	85%	Rhodoplanes	84%
221	BICAR4F08	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	99%	Hyphomicrobiaceae	36%	Rhodoplanes	33%
221	BICAR4F11	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Hyphomicrobiaceae	75%	Rhodoplanes	72%
221	BITPA1F04	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Hyphomicrobiaceae	55%	Rhodoplanes	52%
222	BITPA1F05	Firmicutes	72%	"Bacilli"	62%	Bacillales	60%	Bacillaceae	52%	"Bacillaceae 2"	37%
223	BITPA1F07	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
224	BITPA1F09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
225	BITPA1G01	Acidobacteria	52%	Acidobacteria	52%	Acidobacteriales	52%	Acidobacteriaceae	52%	Gp6	50%
226	BITPA1G02	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	92%	"Paenibacillaceae 1"	92%
227	BICAR4C07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA1G04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA2A02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA3B02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA3C01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA3E05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
227	BITPA3H03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp7	100%
228	BITPA1G07	Actinobacteria	67%	Actinobacteria	67%	Actinobacteridae	67%	Actinomycetales	67%	Streptomycineae	57%
229	BITPA1G10	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	99%
230	BICAR1B09	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
230	BICAR1C08	Thermomicrobia	49%	Thermomicrobia	49%	Thermomicrobiales	49%	Thermomicrobiaceae	49%	Thermomicrobium	49%
230	BICAR1C09	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobiales	41%	Thermomicrobiaceae	41%	Thermomicrobium	41%
230	BICAR1G03	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobiales	35%	Thermomicrobiaceae	35%	Thermomicrobium	35%
230	BICAR1H03	Thermomicrobia	65%	Thermomicrobia	65%	Thermomicrobiales	65%	Thermomicrobiaceae	65%	Thermomicrobium	65%
230	BICAR3D10	Thermomicrobia	43%	Thermomicrobia	43%	Thermomicrobiales	43%	Thermomicrobiaceae	43%	Thermomicrobium	43%
230	BICAR3E05	Thermomicrobia	38%	Thermomicrobia	38%	Thermomicrobiales	38%	Thermomicrobiaceae	38%	Thermomicrobium	38%
230	BICAR4E06	Thermomicrobia	31%	Thermomicrobia	31%	Thermomicrobiales	31%	Thermomicrobiaceae	31%	Thermomicrobium	31%
230	BICAR4H03	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobiales	41%	Thermomicrobiaceae	41%	Thermomicrobium	41%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
230	BICAR5A09	Thermomicrobia	39%	Thermomicrobia	39%	Thermomicrobiales	39%	Thermomicrobiaceae	39%	Thermomicrobium	39%
230	BICAR5A10	Thermomicrobia	50%	Thermomicrobia	50%	Thermomicrobiales	50%	Thermomicrobiaceae	50%	Thermomicrobium	50%
230	BICAR5D03	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobiales	33%	Thermomicrobiaceae	33%	Thermomicrobium	33%
230	BICAR6A11	Thermomicrobia	54%	Thermomicrobia	54%	Thermomicrobiales	54%	Thermomicrobiaceae	54%	Thermomicrobium	54%
230	BICAR6D06	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobiales	35%	Thermomicrobiaceae	35%	Thermomicrobium	35%
230	BICAR6D11	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobiales	33%	Thermomicrobiaceae	33%	Thermomicrobium	33%
230	BITPA1H05	Thermomicrobia	65%	Thermomicrobia	65%	Thermomicrobiales	65%	Thermomicrobiaceae	65%	Thermomicrobium	65%
230	BITPA2C09	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
230	BITPA3D10	Thermomicrobia	48%	Thermomicrobia	48%	Thermomicrobiales	48%	Thermomicrobiaceae	48%	Thermomicrobium	48%
230	BITPA3E09	Thermomicrobia	32%	Thermomicrobia	32%	Thermomicrobiales	32%	Thermomicrobiaceae	32%	Thermomicrobium	32%
231	BICAR6D12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
231	BITPA1H08	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	96%
232	BITPA2A03	Firmicutes	96%	"Bacilli"	94%	Bacillales	94%	Bacillaceae	69%	"Bacillaceae 2"	50%
233	BITPA2A06	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	genera_incertainae_sedis	100%
234	BITPA2A07	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Methylophilales	89%	Methylophilaceae	89%	Methylobacillus	42%
235	BICAR3E06	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Methylocystaceae	30%	Methylocystis	29%
235	BICAR4A01	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	98%	Rhizobiales	81%	Methylobacteriaceae	19%	Microvirga	19%
235	BICAR6B01	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	98%	Rhizobiales	91%	Methylobacteriaceae	22%	Microvirga	21%
235	BICAR6B03	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	91%	Methylobacteriaceae	33%	Microvirga	33%
235	BITPA2A09	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	96%	Methylocystaceae	39%	Methylosinus	28%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
235	BITPA2G01	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	90%	Methylocystaceae	47%	Methylosinus	27%
236	BICAR3F08	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadales	89%	Gemmatimonadaceae	89%	Gemmatimonas	89%
236	BICAR3G05	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadales	89%	Gemmatimonadaceae	89%	Gemmatimonas	89%
236	BICAR3G08	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadales	86%	Gemmatimonadaceae	86%	Gemmatimonas	86%
236	BICAR4G07	Gemmatimonadetes	99%	Gemmatimonadetes	99%	Gemmatimonadales	99%	Gemmatimonadaceae	99%	Gemmatimonas	99%
236	BICAR5E10	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadales	86%	Gemmatimonadaceae	86%	Gemmatimonas	86%
236	BICAR5E12	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadetes	89%	Gemmatimonadales	89%	Gemmatimonadaceae	89%	Gemmatimonas	89%
236	BICAR5G03	Gemmatimonadetes	93%	Gemmatimonadetes	93%	Gemmatimonadales	93%	Gemmatimonadaceae	93%	Gemmatimonas	93%
236	BICAR5H11	Thermomicrobia	50%	Thermomicrobia	50%	Thermomicrobiales	50%	Thermomicrobiaceae	50%	Thermomicrobium	50%
236	BICAR6D03	Gemmatimonadetes	76%	Gemmatimonadetes	76%	Gemmatimonadales	76%	Gemmatimonadaceae	76%	Gemmatimonas	76%
236	BICAR6E02	Gemmatimonadetes	87%	Gemmatimonadetes	87%	Gemmatimonadales	87%	Gemmatimonadaceae	87%	Gemmatimonas	87%
236	BICAR6G03	Gemmatimonadetes	61%	Gemmatimonadetes	61%	Gemmatimonadales	61%	Gemmatimonadaceae	61%	Gemmatimonas	61%
236	BICAR6H06	Gemmatimonadetes	80%	Gemmatimonadetes	80%	Gemmatimonadales	80%	Gemmatimonadaceae	80%	Gemmatimonas	80%
236	BITPA2A12	Gemmatimonadetes	85%	Gemmatimonadetes	85%	Gemmatimonadales	85%	Gemmatimonadaceae	85%	Gemmatimonas	85%
236	BITPA3A06	Gemmatimonadetes	96%	Gemmatimonadetes	96%	Gemmatimonadales	96%	Gemmatimonadaceae	96%	Gemmatimonas	96%
237	BITPA2B01	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadetes	86%	Gemmatimonadales	86%	Gemmatimonadaceae	86%	Gemmatimonas	86%
238	BICAR3B08	Thermomicrobia	39%	Thermomicrobia	39%	Thermomicrobiales	39%	Thermomicrobiaceae	39%	Thermomicrobium	39%
238	BICAR3E09	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
238	BICAR3H05	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobiales	33%	Thermomicrobiaceae	33%	Thermomicrobium	33%
238	BICAR3H06	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobia	33%	Thermomicrobiales	33%	Thermomicrobiaceae	33%	Thermomicrobium	33%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
238	BICAR4D12	Thermomicrobia	30%	Thermomicrobia	30%	Thermomicrobiales	30%	Thermomicrobiaceae	30%	Thermomicrobium	30%
238	BICAR4E07	Thermomicrobia	36%	Thermomicrobia	36%	Thermomicrobiales	36%	Thermomicrobiaceae	36%	Thermomicrobium	36%
238	BICAR4H05	Thermomicrobia	34%	Thermomicrobia	34%	Thermomicrobiales	34%	Thermomicrobiaceae	34%	Thermomicrobium	34%
238	BICAR5A05	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobiales	41%	Thermomicrobiaceae	41%	Thermomicrobium	41%
238	BICAR5A06	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
238	BICAR5B07	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
238	BICAR5B08	Thermomicrobia	45%	Thermomicrobia	45%	Thermomicrobiales	45%	Thermomicrobiaceae	45%	Thermomicrobium	45%
238	BICAR5C01	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobia	42%	Thermomicrobiales	42%	Thermomicrobiaceae	42%	Thermomicrobium	42%
238	BICAR5G01	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobia	41%	Thermomicrobiales	41%	Thermomicrobiaceae	41%	Thermomicrobium	41%
238	BICAR6C10	Thermomicrobia	29%	Thermomicrobia	29%	Thermomicrobiales	29%	Thermomicrobiaceae	29%	Thermomicrobium	29%
238	BICAR6C12	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobia	35%	Thermomicrobiales	35%	Thermomicrobiaceae	35%	Thermomicrobium	35%
238	BICAR6F04	Thermomicrobia	30%	Thermomicrobia	30%	Thermomicrobiales	30%	Thermomicrobiaceae	30%	Thermomicrobium	30%
238	BICAR6H09	Thermomicrobia	23%	Thermomicrobia	23%	Thermomicrobiales	23%	Thermomicrobiaceae	23%	Thermomicrobium	23%
238	BITPA2B02	Thermomicrobia	48%	Thermomicrobia	48%	Thermomicrobiales	48%	Thermomicrobiaceae	48%	Thermomicrobium	48%
238	BITPA3F07	Thermomicrobia	38%	Thermomicrobia	38%	Thermomicrobiales	38%	Thermomicrobiaceae	38%	Thermomicrobium	38%
239	BITPA2B03	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	93%	"Bacillaceae 2"	51%
240	BITPA2B04	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	100%	Hyphomicrobiaceae	100%	Pedomicrobium	100%
241	BITPA2B06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
241	BITPA2D03	Acidobacteria	99%	Acidobacteria	99%	Acidobacteriales	99%	Acidobacteriaceae	99%	Gp2	99%
242	BITPA2B10	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
243	BITPA2B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
244	BITPA2C01	Actinobacteria	72%	Actinobacteria	72%	Actinobacteridae	72%	Actinomycetales	72%	Micrococccineae	63%
245	BITPA2C02	Lentisphaerae	29%	Lentisphaerae	29%	Victivallales	19%	Victivallaceae	19%	Victivallis	19%
246	BITPA2C03	Firmicutes	30%	"Bacilli"	19%	Bacillales	14%	"Thermoactinomycetaceae"	10%	Shimazuella	6%
247	BITPA2D02	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
247	BITPA2E09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
248	BITPA2D09	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	97%	Bacillaceae	85%	"Bacillaceae 2"	36%
249	BITPA2E03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
249	BITPA3B01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
250	BICAR5E02	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
250	BITPA2E04	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
251	BITPA2F02	Gemmatimonadetes	96%	Gemmatimonadetes	96%	Gemmatimonadales	96%	Gemmatimonadaceae	96%	Gemmatimonas	96%
252	BICAR5D04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
252	BICAR5D07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
252	BICAR5E03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
253	BITPA2G03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
254	BITPA2H01	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp4	98%
255	BITPA3B05	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
256	BITPA3B06	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	97%	Burkholderiales	92%	Incertae sedis 5	31%	Schlegelella	8%
257	BICAR3F07	Proteobacteria	36%	Deltaproteobacteria	22%	Desulfurellales	6%	Desulfurellaceae	6%	Hippea	6%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
257	BITPA3C03	Firmicutes	44%	"Clostridia"	44%	"Thermoanaerobacterales"	26%	"Thermoanaerobacteraceae"	22%	Gelria	14%
258	BITPA3C04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	"Paenibacillaceae"	100%	"Paenibacillaceae 1"	100%
259	BITPA3C06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
260	BITPA3C07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
261	BICAR6G01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
261	BITPA3C08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
262	BITPA3C11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
262	BITPA3D12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
263	BITPA3C12	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
264	BICAR3B03	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
264	BICAR4A12	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
264	BICAR4E12	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
264	BICAR6E07	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
264	BICAR6G08	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
264	BITPA3D02	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
265	BITPA3D03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
265	BITPA3H05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp11	100%
266	BITPA3D04	Proteobacteria	100%	Alphaproteobacteria	100%	Rhizobiales	98%	Rhodobiaceae	44%	Rhodobium	44%
267	BITPA3D06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
267	BITPA3H01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
268	BITPA3E01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
269	BITPA3E04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
269	BITPA3G12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
270	BITPA3F08	Proteobacteria	79%	Deltaproteobacteria	74%	Syntrophobacteriales	50%	Syntrophaceae	43%	Desulfobacca	36%
271	BITPA3F09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp4	100%
272	BITPA3G01	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	100%	Incertae sedis 5	94%	Rubrivivax	60%
273	BICAR4G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
273	BICAR6F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
273	BITPA3G02	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
274	BITPA3G03	Gemmatimonadetes	100%	Gemmatimonadetes	100%	Gemmatimonadales	100%	Gemmatimonadaceae	100%	Gemmatimonas	100%
275	BITPA3G10	Proteobacteria	22%	Deltaproteobacteria	19%	Desulfovibrionales	19%	Desulfovibrionaceae	19%	Bilophila	18%
276	BITPA3H02	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%
277	BITPA3H09	Acidobacteria	96%	Acidobacteria	96%	Acidobacteriales	96%	Acidobacteriaceae	96%	Gp7	96%
278	BICAR1C11	Nitrospira	44%	Nitrospira	44%	Nitrospirales	44%	Nitrospiraceae	44%	Nitrospira	42%
278	BICAR6H01	Proteobacteria	95%	Deltaproteobacteria	91%	Syntrophobacteriales	42%	Syntrophaceae	40%	Smithella	38%
279	BICAR1E05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
279	BICAR1E06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
279	BICAR5A07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
279	BICAR6C09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp3	100%
279	BITPA3G05	Firmicutes	99%	"Bacilli"	99%	Bacillales	99%	Bacillaceae	99%	"Bacillaceae 1"	89%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
280	BICAR1F09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
281	BICAR1G06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
281	BICAR4F04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
281	BICAR6G09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
282	BICAR1H10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
282	BICAR3B11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
282	BICAR4F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
283	BICAR3A06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
283	BICAR3A07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
283	BICAR3A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
283	BICAR5C03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
283	BICAR5C05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
283	BICAR9C04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
284	BICAR3B07	Proteobacteria	90%	Deltaproteobacteria	68%	Myxococcales	21%	Sorangineae	16%	Polyangiaceae	16%
285	BICAR3B09	Gemmatimonadetes	90%	Gemmatimonadetes	90%	Gemmatimonadales	90%	Gemmatimonadaceae	90%	Gemmatimonas	90%
285	BICAR6A07	Gemmatimonadetes	88%	Gemmatimonadetes	88%	Gemmatimonadales	88%	Gemmatimonadaceae	88%	Gemmatimonas	88%
285	BICAR6A09	Gemmatimonadetes	82%	Gemmatimonadetes	82%	Gemmatimonadales	82%	Gemmatimonadaceae	82%	Gemmatimonas	82%
285	BICAR6B02	Gemmatimonadetes	88%	Gemmatimonadetes	88%	Gemmatimonadales	88%	Gemmatimonadaceae	88%	Gemmatimonas	88%
285	BICAR6D09	Gemmatimonadetes	83%	Gemmatimonadetes	83%	Gemmatimonadales	83%	Gemmatimonadaceae	83%	Gemmatimonas	83%
286	BICAR3B10	Proteobacteria	89%	Deltaproteobacteria	86%	Desulfurellales	45%	Desulfurellaceae	45%	Hippea	45%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
287	BICAR3C04	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
287	BICAR8C03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp6	100%
288	BICAR3C07	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteriales	12%	Thermodesulfobacteriaceae	12%	Thermodesulfatator	12%
288	BICAR5A12	Actinobacteria	29%	Actinobacteria	29%	Rubrobacteridae	25%	Rubrobacterales	25%	Rubrobacterineae	25%
288	BICAR6H07	Actinobacteria	32%	Actinobacteria	32%	Rubrobacteridae	28%	Rubrobacterales	28%	Rubrobacterineae	28%
289	BICAR3D03	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	100%	Burkholderiaceae	100%	Burkholderia	100%
289	BICAR3F05	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	100%	Burkholderiales	100%	Burkholderiaceae	100%	Burkholderia	100%
290	BICAR3D08	Proteobacteria	100%	Betaproteobacteria	94%	Burkholderiales	75%	Incertae sedis 5	32%	Schlegelella	5%
291	BICAR3F03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
292	BICAR3G09	Nitrospira	99%	Nitrospira	99%	Nitrospirales	99%	Nitrospiraceae	99%	Nitrospira	99%
292	BICAR4F07	Nitrospira	99%	Nitrospira	99%	Nitrospirales	99%	Nitrospiraceae	99%	Nitrospira	99%
292	BICAR4G03	Nitrospira	99%	Nitrospira	99%	Nitrospirales	99%	Nitrospiraceae	99%	Nitrospira	99%
292	BICAR5F12	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
292	BICAR5H12	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
292	BICAR9A12	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
292	BICAR6A06	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
292	BICAR6C06	Nitrospira	100%	Nitrospira	100%	Nitrospirales	100%	Nitrospiraceae	100%	Nitrospira	100%
293	BICAR3H04	Firmicutes	45%	"Clostridia"	36%	Clostridiales	27%	"Ruminococcaceae"	10%	Faecalibacterium	9%
294	BICAR4A09	Chloroflexi	81%	Anaerolineae	81%	Caldilineae	81%	Caldilineales	81%	Caldilineacea	81%
295	BICAR4B06	Proteobacteria	94%	Deltaproteobacteria	67%	Desulfurellales	20%	Desulfurellaceae	20%	Hipaea	20%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
295	BICAR5C11	Proteobacteria	92%	Deltaproteobacteria	73%	Desulfurellales	23%	Desulfurellaceae	23%	Hippea	23%
296	BICAR4D01	Chloroflexi	44%	Anaerolineae	15%	Caldilineae	15%	Caldilineales	15%	Caldilineacea	15%
296	BICAR6G04	Chloroflexi	16%	Anaerolineae	12%	Caldilineae	12%	Caldilineales	12%	Caldilineacea	12%
297	BICAR4D08	Chloroflexi	34%	Chloroflexi	22%	Chloroflexales	22%	Chloroflexaceae	21%	Roseiflexus	21%
297	BICAR4D10	Chloroflexi	36%	Anaerolineae	16%	Caldilineae	16%	Caldilineales	16%	Caldilineacea	16%
298	BICAR4D09	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
299	BICAR4F09	Firmicutes	23%	"Clostridia"	18%	Halanaerobiales	7%	Halanaerobiaceae	5%	Halocella	4%
300	BICAR4G08	Proteobacteria	78%	Deltaproteobacteria	74%	Myxococcales	37%	Cystobacterineae	36%	Cystobacteraceae	36%
301	BICAR4H07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
302	BICAR5B10	Proteobacteria	99%	Alphaproteobacteria	99%	Rhodospirillales	50%	Acetobacteraceae	37%	Stella	34%
303	BICAR5C02	Thermomicrobia	18%	Thermomicrobia	18%	Thermomicrobiales	18%	Thermomicrobiaceae	18%	Thermomicrobium	18%
304	BICAR5C12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp13	100%
304	BICAR8G03	Acidobacteria	98%	Acidobacteria	98%	Acidobacteriales	98%	Acidobacteriaceae	98%	Gp13	98%
305	BICAR5D06	Acidobacteria	95%	Acidobacteria	95%	Acidobacteriales	95%	Acidobacteriaceae	95%	Gp2	95%
305	BICAR5F05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
306	BICAR5E01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR5G11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR7H07	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR8G11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR9A01	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
306	BICAR9A11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6B08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6E06	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6E10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6E11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6G10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6G11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
306	BICAR6H12	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp1	100%
307	BICAR5E05	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteria	12%	Thermodesulfobacteriales	12%	Thermodesulfobacteriaceae	12%	Thermodesulfatator	12%
308	BICAR5G05	Proteobacteria	92%	Deltaproteobacteria	92%	Myxococcales	41%	Cystobacterineae	23%	Cystobacteraceae	23%
309	BICAR7A09	Actinobacteria	39%	Actinobacteria	39%	Rubrobacteridae	29%	Rubrobacterales	29%	Rubrobacterineae	29%
310	BICAR8B12	Actinobacteria	100%	Actinobacteria	100%	Actinobacteridae	100%	Actinomycetales	100%	Micrococcineae	100%
311	BICAR8C04	Firmicutes	100%	"Bacilli"	100%	Bacillales	100%	Bacillaceae	100%	"Bacillaceae 1"	100%
312	BICAR8C12	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Xiphinematobacteriaceae	100%	Incertae_sedis	100%
313	BICAR8E12	Actinobacteria	98%	Actinobacteria	98%	Actinobacteridae	96%	Actinomycetales	96%	Micromonosporineae	31%
314	BICAR8H03	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
314	BICAR6F09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
314	BICAR6H10	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
315	BICAR9B03	Firmicutes	42%	"Clostridia"	26%	Clostridiales	24%	Veillonellaceae	22%	Succiniclasicum	20%
316	BICAR6A01	Chloroflexi	44%	Anaerolineae	38%	Caldilineae	38%	Caldilineales	38%	Caldilineacea	38%

ANEXO A (cont.) – Resultados das comparações das sequências parciais da região 16S rRNA obtidas em amostras de carvão pirogênico e solo TPA da região da Amazônia Central e Oriental, com as amostras depositadas no banco de dados de sequências do gene 16S rRNA do RDPX pelo programa *Classifier* e número de UTOs.

UTO	Clone	Filo		Classe		Ordem		Família		Gênero	
316	BICAR6E01	Chloroflexi	44%	Anaerolineae	34%	Caldilineae	34%	Caldilineales	34%	Caldilineacea	34%
316	BICAR6H04	Chloroflexi	36%	Anaerolineae	33%	Caldilineae	33%	Caldilineales	33%	Caldilineacea	33%
317	BICAR6A08	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
317	BICAR6H05	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%
318	BICAR6B06	Proteobacteria	100%	Gammaproteobacteria	100%	Pseudomonadales	100%	Pseudomonadaceae	100%	Pseudomonas	100%
319	BICAR6C02	Actinobacteria	100%	Actinobacteria	100%	Actinobacteridae	100%	Actinomycetales	100%	Pseudonocardineae	27%
319	BICAR6F03	Actinobacteria	100%	Actinobacteria	100%	Actinobacteridae	100%	Actinomycetales	100%	Pseudonocardineae	38%
320	BICAR6C03	Verrucomicrobia	100%	Verrucomicrobiae	100%	Verrucomicrobiales	100%	Subdivision 3	100%	Incertae_sedis	100%
321	BICAR6C05	Chloroflexi	22%	Anaerolineae	22%	Caldilineae	22%	Caldilineales	22%	Caldilineacea	22%
322	BICAR6D01	Proteobacteria	99%	Betaproteobacteria	96%	Rhodocyclales	43%	Rhodocyclaceae	43%	Rhodocyclus	27%
322	BICAR6H03	Proteobacteria	99%	Betaproteobacteria	96%	Rhodocyclales	43%	Rhodocyclaceae	43%	Rhodocyclus	27%
323	BICAR6D05	Thermomicrobia	23%	Thermomicrobia	23%	Thermomicrobiales	23%	Thermomicrobiaceae	23%	Thermomicrobium	23%
324	BICAR6E09	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp25	100%
325	BICAR6F01	Proteobacteria	87%	Gammaproteobacteria	58%	Pseudomonadales	9%	Moraxellaceae	9%	Alkanindiges	9%
326	BICAR6F07	Chloroflexi	29%	Chloroflexi	23%	Chloroflexales	23%	Chloroflexaceae	23%	Roseiflexus	23%
327	BICAR6F08	Proteobacteria	86%	Deltaproteobacteria	83%	Myxococcales	68%	Sorangineae	52%	Polyangiaceae	52%
328	BICAR6F10	Proteobacteria	96%	Deltaproteobacteria	90%	Bdellovibrionales	90%	Bdellovibrionaceae	90%	Bdellovibrio	90%
329	BICAR6G07	Proteobacteria	35%	Deltaproteobacteria	26%	Myxococcales	23%	Sorangineae	12%	Polyangiaceae	12%
330	BICAR6H11	Acidobacteria	100%	Acidobacteria	100%	Acidobacteriales	100%	Acidobacteriaceae	100%	Gp2	100%

Bibliotecas MICAR – carvão Mina I; BICAR – carvão Lagoa Balbina; BITPA – solo TPA Lagoa Balbina; MITPA – solo TPA Mina I.

