

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO
E ESTRUTURA DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA DE CANA-
DE-AÇÚCAR**

Ana Paula Corrêa Moneda
Bióloga

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO
E ESTRUTURA DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA DE CANA-
DE-AÇÚCAR**

Ana Paula Corrêa Moneda

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2022

M742i Moneda, Ana Paula Corrêa
Influência do sistema de cultivo na composição e estrutura da microbiota rizosférica de cana-de-açúcar / Ana Paula Corrêa Moneda. -- Jaboticabal, 2022
95 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Daniel Guariz Pinheiro

1. Ecologia Microbiana. 2. Rizosfera. 3. Cana-de-açúcar. 4. Metataxonômica. 5. 16S rDNA, ITS. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR

AUTORA: ANA PAULA CORRÊA MONEDA

ORIENTADOR: DANIEL GUARIZ PINHEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

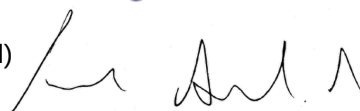
Prof. Dr. DANIEL GUARIZ PINHEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuaria e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Virtual)
Departamento de Ciencias da Producao Agricola / FCAV UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. GALDINO ANDRADE FILHO (Participação Virtual)
Universidade Estadual de Londrina - UEL / Londrina/PR



Jaboticabal, 06 de maio de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ANA PAULA CORRÊA MONEDA – Nascida em 15 de abril de 1994, natural de Vargem Grande do Sul – São Paulo, Brasil. Iniciou o curso de bacharel em Ciências Biológicas no ano de 2014 na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Jaboticabal, concluindo-o em dezembro de 2018. Em agosto de 2019, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV– UNESP), resultando no presente trabalho.

"É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida."

Bob Marley

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua existência, me permitiu concretizar mais uma etapa. Nos momentos de dificuldades me demonstrou toda sua força, permitindo-me sempre voltar incessantemente o meu olhar para Ele.

A minha família e amigos pela base sólida de apoio, incentivo e união.

Ao Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro e ao grupo de pesquisa do Laboratório de Bioinformática, em especial a Lucas Amoroso Lopes de Carvalho pela disponibilidade e ajuda fornecida.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal e ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agropecuária pela oportunidade de realização deste trabalho, pelo suporte acadêmico e por todo conhecimento compartilhado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio no desenvolvimento desta pesquisa através da bolsa de estudos (Processo nº 145962/2019-9). Agradeço também à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa (Processo nº 2017/09008-5).

Agradeço imensamente todas as pessoas que mesmo que de forma singela, tenham contribuído com minha formação profissional e pessoal.

Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRAT	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Importância da cana-de-açúcar	4
2.2. O cultivo convencional e orgânico de cana-de-açúcar	6
2.3. Microbioma e rizosfera	8
2.4. A abordagem metataxonômica.....	11
3. OBJETIVOS	13
3.1. Gerais.....	13
3.2. Específicos	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1. Desenho experimental e obtenção de amostras	14
4.2. Informações sobre os manejos dos talhões de cana-de-açúcar.....	17
4.3. Acesso às comunidades microbianas associadas à rizosfera.....	19
4.4. Determinação de parâmetros físicos e químicos dos solos.....	20
4.5. Extração de DNA.....	21
4.6. Preparação de bibliotecas de <i>amplicons</i> - 16S (Bactérias) e ITS (Fungos)	22
4.7. Sequenciamento das bibliotecas de <i>amplicons</i>	22
4.8. Processamento dos dados de <i>amplicons</i> 16S e ITS	23
4.9. Análises de ecologia microbiana	24
4.9.1. Análises de alfa e beta diversidade	24
4.9.2. Microbioma essencial (<i>core microbiome</i>)	25
4.9.3. Análise de abundância diferencial	25
4.9.4. Análises de predição funcional	25
4.9.5. Redes de coocorrência.....	26
5. RESULTADOS.....	26
5.1. Análises dos parâmetros físicos e químicos dos solos.....	26

5.2. Processamento e sequenciamento de <i>amplicons</i>	27
5.3. Medidas ecológicas e composição microbiana	28
5.3.1. Composição taxonômica	28
5.3.2. Diversidade alfa (16S e ITS)	31
5.3.3. Diversidade beta (16S e ITS)	32
5.3.4. O microbioma essencial ou <i>microbiome core</i>	34
5.3.5. Táxons diferencialmente abundantes considerando os sistemas de cultivos contrastantes	37
5.3.6. Análise de predição funcional	39
5.3.7. Estruturação dos microbiomas	40
6. DISCUSSÃO	42
7. CONCLUSÕES	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
9. APÊNDICES	69

INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO - A cultura da cana de açúcar (*Saccharum* spp.) envolve atividades agrícolas e industriais de extrema importância para a obtenção de produtos e subprodutos que movimentam fortemente a economia e possuem impactos no meio ambiente. Na agricultura convencional é comum a aplicação de fertilizantes, pesticidas e demais produtos agroquímicos de origem sintética, além de uma intensiva exploração dos recursos naturais, como o solo. Uma prática alternativa, o cultivo orgânico visa maior sustentabilidade e equilíbrio das relações ecológicas aliado a conservação ambiental. Poucos estudos avaliaram o impacto desses dois sistemas contrastantes de manejo na composição e estrutura da microbiota rizosférica. Neste trabalho, utilizamos o sequenciamento em larga-escala dos genes 16S rRNA (V3 e V4) e o Espaçador Interno Transcrito (ITS2) oriundos de amostras coletadas da rizosfera de plantas de cana-de-açúcar cultivadas em condições de campo para a identificação de procariotos e fungos, respectivamente. Os filos mais comuns encontrados foram *Proteobacteria* e *Ascomycota*. Ao todo, obtivemos 14 táxons bacterianos e 60 táxons fúngicos diferencialmente abundantes e a presença de grupos taxonômicos essenciais, promotores de crescimento de plantas. Nas redes de coocorrência, táxons chaves sugestivamente alteram a estrutura das comunidades microbianas. Na predição funcional, se destacam vias metabólicas envolvidas em processos estruturais e biológicos dos microbiomas. Nossos resultados, evidenciam que o tipo de manejo empregado determina de forma sutil a composição, diversidade e estrutura dessa microbiota.

Palavras-chave: Ecologia da rizosfera, cana-de-açúcar, metataxonômica, 16S rRNA, ITS.

INFLUENCE OF THE CULTIVATION SYSTEM ON THE COMPOSITION AND STRUCTURE OF SUGARCANE RHIZOSPHERIC MICROBIOTA

ABSTRACT - The cultivation of sugarcane (*Saccharum* spp.) involves agricultural and industrial activities of extreme importance to obtain products and by-products that strongly move the economy and have impacts on the environment. In conventional agriculture, it is common to apply fertilizers, pesticides and other agrochemicals of synthetic origin, in addition to intensive exploitation of natural resources, such as soil. An alternative practice, organic cultivation aims at greater sustainability and balance of ecological relationships combined with environmental conservation. Few studies have evaluated the impact of these two contrasting management systems on the composition and structure of the rhizospheric microbiota. In this work, we used the large-scale sequencing of the 16S rRNA genes (V3 and V4) and the Internal Transcript Spacer (ITS2) from samples collected from the rhizosphere of sugarcane plants grown under field conditions to identify prokaryotes and fungi, respectively. The most common phyla found were *Proteobacteria* and *Ascomycota*. Altogether, we obtained 14 bacterial taxa and 60 differentially abundant fungal taxa and the presence of essential taxonomic groups that promote plant growth. In co-occurrence networks, key taxa suggestively alter the structure of microbial communities. In functional prediction, metabolic pathways involved in structural and biological processes of microbiomes stand out. Our results show that the type of management employed subtly determines the composition, diversity and structure of this microbiota.

Keywords: Rhizosphere ecology, sugarcane, metataxonomics, 16S rRNA, ITS

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Localização geográfica e dados climatológicos dos pontos de amostragem, data da coleta e dados ambientais: umidade relativa do solo, temperatura do solo, temperatura atmosférica, umidade relativa do ar e pressão atmosférica	17
Tabela 2. Insumos agrícolas utilizados na cultura orgânica de cana-de-açúcar	18
Tabela 3. Insumos agroquímicos utilizados na cultura convencional de cana-de-açúcar.....	19
Tabela 4. Média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos dos solos sob sistema de cultivo orgânico e convencional	26
Tabela 5. Resultados do processamento e sequenciamento de alto rendimento para <i>amplicons</i> 16S e ITS da rizosfera de cana-de-açúcar	28
Tabela 6. Índices de diversidade alfa para as bibliotecas 16S e ITS das três amostras de solo rizosférico orgânico e três amostras de solo rizosférico convencional. As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente, através do teste não-paramétrico de comparação de médias Wilcoxon, onde significância (Sig = p-valor $\leq$ 0,1) e ns (não significativo = p > 0,1)	32

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Área de amostragem e pontos de coletas de solos rizosféricos de cana-de-açúcar na Fazenda São José, obtida de forma orgânica (ORG) e pontos de coletas de solos rizosféricos de cana-de-açúcar convencional (CON) na Fazenda São Sebastião. Legenda: Distância entre os talhões (~230 m); Distância entre os pontos amostrais (50 m); Ponto de amostragem convencional; Ponto de amostragem orgânico.15

Figura 2. Esquema de coletas. Da esquerda para direita, de cima pra baixo: área de coleta, colmos coletados em saco de ráfia esterilizado, trado holandês e raízes arrancadas do solo para a coleta16

Figura 3. Distribuição dos 8 fillos bacterianos mais abundantes em cultivo orgânico e convencional (A) e distribuição de 15 ordens bacterianas mais abundantes da rizosfera de cana-de-açúcar orgânica (ORZ) e convencional (CRZ) (B)29

Figura 4. Distribuição dos 5 fillos fúngicos mais abundantes em cultivo orgânico e convencional (A) e distribuição de 15 ordens fúngicas mais abundantes da rizosfera de cana-de-açúcar orgânica (ORZ) e convencional (CRZ) (B)30

Figura 5. Índices de diversidade alfa para as bibliotecas 16S (A) e ITS (B) das três amostras de solo rizosférico orgânico (verde) e três amostras de solo rizosférico convencional (vermelho). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do teste não-paramétrico de comparação de médias Wilcoxon, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$ 31

Figura 6. Dendrograma resultante do agrupamento hierárquico de amostras 16S rRNA de solo rizosférico (A). Análise de Coordenadas Principais (PCoA), baseado no índice de *Bray-Curtis* de amostras 16S rRNA de solo rizosférico (B). As matrizes das distâncias foram utilizadas para comparação estatística entre os sistemas por uma análise PERMANOVA, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$ 33

Figura 7. Dendrograma resultante do agrupamento hierárquico de amostras ITS de solo rizosférico (A). Análise de Coordenadas Principais (PCoA), baseado no índice de *Bray-Curtis* de amostras ITS de solo rizosférico (B). As matrizes das distâncias foram utilizadas para comparação estatística entre os sistemas por uma análise PERMANOVA, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$34

Figura 8. Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons bacterianos de alta prevalência (> 90%) nas amostras de rizosfera independentemente do sistema de cultivo, onde a coloração azul indica a prevalência dos táxons nas amostras e a porcentagem horizontal representa a abundância relativa de cada táxon nas amostras. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (filo), "c" (classe), "o" (ordem), "f" (família), e "g" (gênero)35

Figura 9. Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons fúngicos de alta prevalência (> 90%) nas amostras de rizosfera independentemente do sistema de cultivo, onde a coloração azul indica a prevalência dos táxons nas amostras e a porcentagem horizontal representa a abundância relativa de cada táxon nas amostras. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (filo), "c" (classe), "o" (ordem), "f" (família), "g" (gênero) e "s" (espécie).....36

Figura 10. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo convencional (CRZ) e orgânico (ORZ) presentes na rizosfera de cana-de-açúcar através da constatação estatística pelo teste Wald, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$37

Figura 11. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo convencional (CRZ) e orgânico (ORZ) presentes na rizosfera de cana-de-açúcar através da constatação estatística pelo teste Wald, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$ 38

Figura 12. Vias metabólicas de amostras 16S rRNA diferencialmente abundantes na rizosfera de cana-de-açúcar comparadas através do teste White, considerando um p-

valor $\leq 0,05$. As vias em vermelho representam a proporção média em cultivo convencional e em verde a proporção média em cultivo orgânico.39

Figura 13. Vias metabólicas de amostras ITS diferencialmente abundantes na rizosfera de cana-de-açúcar comparadas através do teste White, considerando um p-valor $\leq 0,05$. As vias em vermelho representam a proporção média em cultivo convencional e em verde a proporção média em cultivo orgânico.40

Figura 14. Redes de coocorrência dos gêneros bacterianos presentes em sistemas de cultivo convencional e orgânico. Os círculos são proporcionais as somatórias de abundância relativa de cada gênero. A coloração indica a abundância relativa em cultivo convencional (vermelho) e orgânico (verde). Linhas cinzas são indicativos de conexões com correlação positiva entre os gêneros, enquanto as azuis, conexões com correlação negativa. As medidas de centralidade dos tratamentos foram comparadas estatisticamente utilizando os parâmetros de correlação mínima = $\pm 0,5$ e p-valor = 0,0541

Figura 15. Redes de coocorrência dos gêneros fúngicos presentes em sistemas de cultivo convencional e orgânico. Os círculos são proporcionais as somatórias de abundância relativa de cada gênero. A coloração indica a abundância relativa em cultivo convencional (vermelho) e orgânico (verde). Linhas cinzas são indicativos de conexões com correlação positiva entre os gêneros, enquanto as azuis, conexões com correlação negativa. As medidas de centralidade dos tratamentos foram comparadas estatisticamente, utilizando os parâmetros de correlação mínima = $\pm 0,5$ e p-valor = 0,0542

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) destaca-se no Brasil como uma das culturas socioeconômicas mais importantes para o país. O sistema agroindustrial relacionado ao seu processamento em refinarias é responsável por abastecer o mercado com biocombustível etanol e açúcar. Além disso, há o aproveitamento da cana-de-açúcar em sua totalidade, através da produção de grandes quantidades de resíduos, levando a grande diversificação no uso de seus produtos e subprodutos, sendo essencial para a sustentabilidade do processo produtivo do setor sucroalcooleiro (Silva et al., 2021).

Os microrganismos associados a cultura de cana-de-açúcar passaram a ser de grande interesse em decorrência das funções essenciais ligadas à saúde das plantas e fertilidade do solo. Assim como, a atuação mutualística de microrganismos que agem como biofertilizantes e produzem substâncias que promovem o crescimento e aumentam a absorção de nutrientes pelas plantas, levando a maior tolerância a estresses bióticos e abióticos e controle biológico (Rodrigues et al., 2016).

Os métodos tradicionais de cultivo proporcionam o acesso a essas comunidades microbianas através do estudo de culturas puras pela caracterização bioquímica e fisiológica, assim como o aperfeiçoamento de inúmeros processos biotecnológicos que fazem uso de culturas celulares. Todavia, informações reais sobre o potencial metabólico de comunidades, assim como, a taxonomia dos reais responsáveis por tais processos biológicos em seu habitat natural ficam limitadas (Sun et al., 2018; Perito e Cavalieri, 2018).

Esse desafio às pesquisas pode ser enfrentado com abordagens não baseadas em cultivo que incluem ferramentas de análise de diversidade microbiana do solo ou de qualquer outro ambiente, a metagenômica ou a metataxonômica (Silva et al., 2017). A análise metataxonômica é definida como um processo de caracterização da microbiota e a partir dela é possível a obtenção de uma árvore capaz de demonstrar as relações taxonômicas existentes entre os microrganismos de uma comunidade (Marchesi e Ravel, 2015). O avanço proporcionado por tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next-Generation Sequencing*) foi essencial para o desenvolvimento, ampliação e aprofundamento da diversidade

microbiana a partir de amostras ambientais (Handelsman, 2004). As ciências “ômicas” possuem como alvos investigativos genomas, genes e seus produtos, e só foram possibilitadas em virtude da grande quantidade e qualidade dos dados produzidos nos sequenciamentos de alto rendimento (White et al., 2017). A partir da amostra de material genético, que posteriormente é purificado, há a amplificação em milhões de fragmentos de DNA que podem ser utilizados como marcadores filogenéticos ou códigos de barra de DNA (*barcoding DNA*). Neste sentido, o gene 16S rRNA, presente em todos os organismos procarióticos é considerado excelente para análises filogenéticas (Turnbaugh et al., 2009). No caso dos fungos, a região espaçadora entre as unidades ribossomais, os chamados espaçadores internos transcritos (*Internal Transcribed Spacer — ITS*), é comumente utilizado em análises filogenéticas, assim como os genes 16S rRNA. Essas regiões possuem um baixo nível de polimorfismo intraespecífico e tem sido utilizadas como valiosas ferramentas para a distinção de espécies conhecidas (Macedo et al., 2012), porém possuem trechos internos variáveis que permitem a distinção entre elas (Creer et al., 2016). Essas curtas sequências de nucleotídeos amplificadas por PCR denominadas *amplicons*, podem ser usadas para o sequenciamento, sendo uma poderosa abordagem para se estudar a diversidade e atividade microbiana (Zhou et al., 2011). Tais fragmentos precisam ser analisados através de *softwares* específicos na área de bioinformática (Segata et al., 2013).

A união de métodos tradicionais laboratoriais com as novas abordagens metagenômicas proporcionam estudos mais complexos por conta da alta resolução e amplas possibilidades de descobertas de microrganismos raros e nunca antes estudados, a fim de que seja adotado para alguma aplicação biotecnológica (Kaminsky et al., 2018). Assim, amostras edáficas e rizosféricas evidenciam uma diversidade mais ampla que a esperada (Lagos et al., 2015), levando a otimização de recursos naturais que são essenciais para compreensão integrada da estrutura, diversidade e potencial metabólico de comunidades (Singh et al., 2014).

Conhecer a relação de táxons microbianos favorece a seleção de espécies que podem auxiliar no aumento da produtividade da cultura e melhora no potencial de crescimento das plantas (Koskella e Taylor, 2018a). O solo, todavia, pode ter um impacto direto na estrutura e função das comunidades microbianas por meio de perturbações causadas por atividades naturais ou humanas. Foi relatado que o solo

agrícola perturbado por ações antropogênicas tem diversidade bacteriana diferente, se comparado ao solo florestal não perturbado e solo de pastagem (Li et al., 2012). Com isso, há possibilidade de estudos comparativos em relação a composição microbiana de diferentes tipos de cultivos, incluindo orgânicos e convencionais com uso de agroquímicos.

No entanto, poucos estudos avaliaram comparativamente o impacto dos sistemas de cultivo orgânico versus convencional na estrutura e composição da microbiota da rizosfera em culturas agrícolas, especialmente em cana-de-açúcar (Teheran-Sierra et al., 2021; De Carvalho et al., 2021). Há evidências de que a agricultura orgânica acarreta efeitos positivos na comunidade microbiana, com aumento de riqueza e diversidade (Hartmann et al., 2015; Henneron et al., 2015). Todavia, comparando-se os dois modos de cultivo, ORR et al. (2015) não obtiveram resultados de impacto significativo na comunidade de microrganismos, mesmo com mudanças no uso da terra, demonstrando que as variáveis químicas e ambientais que alteram significativamente a diversidade do solo.

Diante disso, buscamos comparar a microbiota por meio de uma abordagem metataxonômica aplicada à investigação de microbiomas associados à rizosfera de cana-de-açúcar em relação a dois modos de cultivo contrastantes, orgânico e convencional. Essa investigação compreende análises de composição e diversidade microbiana, buscando responder as seguintes perguntas:

Os sistemas de cultivos seriam um fator capaz de influenciarem a diversidade da microbiota rizosférica de cana-de-açúcar?

Há diferenças em composição presente no ambiente rizosférico comparando os dois diferentes cultivos?

Quais são as características das comunidades microbianas influenciadas pelos sistemas de cultivo?

Quais são as características das comunidades microbianas independente dos sistemas de cultivo (microbioma essencial)?

Há a presença de vias metabólicas enriquecidas associadas ao tipo de cultivo utilizado?

Há uma rede de interações (coocorrências) diferencial quando consideramos esses dois sistemas de cultivo e que levam a variações na estrutura da comunidade microbiana?

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da cana-de-açúcar

Introduzida no período colonial, a cana-de-açúcar se destaca no Brasil por sua expressiva importância socioeconômica, destacando-o como principal produtor mundial. Seus processos agroindustriais incluem os alimentares (Jeronimo, 2018; Venturini-Filho, 2018) e os não alimentares, com grande destaque para a produção presente e futura de bioetanol (Bordonal et al., 2018). Uma grande inovação no setor sucroalcooleiro é a minimização dos impactos ambientais através da geração de grandes quantidades de resíduos de importância significativa no conceito de produção de bioeconomia circular e sustentabilidade (Meghana e Shastri, 2020). A vinhaça (subproduto da produção de etanol) pode ser aplicada como biofertilizantes e seus minerais estão menos propensos a lixiviação (Bonassa et al., 2015). Tanto a palha como o bagaço podem ser fontes de energia nos processos industriais através da geração de eletricidade, promovendo autossuficiência energética (Goés, 2008; Bonassa et al., 2015). Há ainda a torta de filtro (subproduto obtido da filtração do caldo de cana-de-açúcar) que pode ser usada como adubo nos canaviais (Silva et al., 2021).

Caracterizada por ser uma gramínea tropical perene, a cana-de-açúcar é pertencente à família *Poaceae* e ao gênero *Saccharum*, com a maioria dos seus cultivares representados por híbridos interespecíficos, contendo cerca de 100 a 130 cromossomos (Piperidis et al., 2010; Amaral et al., 2015). Taxonomicamente, o gênero *Saccharum* contém seis espécies, sendo duas silvestres (*S. robustum* Brandes e Jeswit ex Grassl e *S. spontaneum* Linnaeus) e quatro espécies domesticadas ou cultivadas (*S. officinarum* L., *S. sinensis* Roxb., *S. barberi* Jeswit, e *S. edule* Hassk). Os híbridos ocorrem principalmente entre *Saccharum officinarum* ou cana nobre, que contribui com cerca de 80% dos cromossomos, e *S. spontaneum*, contribuindo com 10% dos cromossomos e outros 10% são resultantes da recombinação entre as duas

espécies (Piperidis et al., 2010; Amaral et al., 2015). Assim, os híbridos se tornaram os mais relevantes contribuintes para o genoma das variedades modernas (Daniels e Roach, 1987; Morais et al., 2015). O novo modelo de melhoramento genético da cultura de cana-de-açúcar está direcionado a maior obtenção de fibras em detrimento a maior produção de sacarose. Também, à obtenção de plantas mais resistentes a doenças e pragas e com menores exigências em nutrição, hidratação, clima e solo, acarretando maior eficiência energética em seu cultivo e aumento no rendimento de biomassa (Matsuoka et al., 2012; Matsuoka et al., 2014).

A cana-de-açúcar tem sua produtividade expressivamente influenciada por estresses abióticos como salinidade, alcalinidade, seca e alagamento. A deficiência hídrica é a principal causa da diminuição da produtividade devido aos efeitos morfofisiológicos que este estresse pode causar (Nerkar et al., 2017). Outro destaque é sua alta eficiência no processo fotossintético (utilização e resgate de gás carbônico), se mostrando de extrema importância no ciclo do carbono e influenciando diretamente as comunidades microbianas associadas ao sistema solo-plantas, também contribuintes e participativas na ciclagem biogeoquímica (Costa, 2013).

O Brasil atingiu na safra 2020/2021 a marca de 654,5 milhões de toneladas destinadas a produção de 29,7 bilhões de litros de etanol e 41,2 milhões de toneladas de açúcar (Nachiluk, 2021), produção necessária para atender as necessidades ampliadas em nível global de bioenergia (Bordonal et al., 2018). Diante da alta demanda mundial e os impactos sociais e ambientais atrelados às áreas de cultivo, fez-se necessário o planejamento, monitoramento e regulação de políticas para o setor. Assim, nas últimas décadas o Brasil tem passado por uma revolução tecnológica através da adoção de práticas altamente sustentáveis de cultivo (Silva et al., 2021).

Para atender às crescentes demandas dos consumidores por produtos de maior qualidade provenientes de uma produção mais sustentável, há um interesse crescente no desenvolvimento e adoção de modelos agrícolas que visem conservar e melhorar a qualidade do solo levando a maiores rendimentos, mas levando em consideração a proteção do meio ambiente local e serviços ecossistêmicos (Kassam et al., 2009). Essas práticas agroecológicas são a base

dos sistemas de agricultura orgânica que proíbem o uso de insumos sintéticos, como pesticidas ou fertilizantes sintéticos (Malviya et al., 2021).

2.2. O cultivo convencional e orgânico de cana-de-açúcar

A agricultura contemporânea é caracterizada por práticas que visam uma elevada produção em escala industrial, e portanto, também pode ser chamada de agricultura industrial. Esse sistema de cultivo é frequentemente caracterizado pela aplicação de insumos sintéticos, manejo químico de pragas e patógenos, uso intenso do solo e monocultura, além de manipulação genômica de animais e plantas. Caso ocorra um desequilíbrio em tais práticas, a produtividade futura é comprometida, esgotando-se recursos genéticos, hídricos e edáficos (Gliessman, 2004).

A agricultura orgânica teve suas primeiras manifestações na década de 1920 através do trabalho do pesquisador inglês Albert Howard. A narrativa de sua viagem à Índia e suas observações as técnicas de trabalho de camponeses indianos através de práticas agrícolas de adubação orgânica e compostagem, posteriormente foi relatado no livro *Um testamento agrícola*, de 1940 (Ormond et al., 2002). O surgimento da agricultura orgânica possibilitou uma alternativa ao modelo contemporâneo de agricultura, com amplas vantagens para produtores e consumidores. A necessidade em diminuir os danos causados ao meio ambiente no final do século XIX fortaleceu a intensificação desse novo modelo agrícola, assim como, os avanços tecnológicos que intensificaram processos de erosão, diminuição da produtividade do solo e destruição do patrimônio genético (Pinho et al., 2015). Esse sistema de produção alternativo se baseia na interação dinâmica sustentável e segura entre meio ambiente, ecossistema, pessoas, animais e plantas (Muñoz et al., 2016).

Atualmente, a agricultura orgânica abrange a necessidade de uma compreensão integrada dos ciclos biogeoquímicos, da polinização, conservação do solo e dos processos biológicos direcionados ao manejo mais adequado, considerando a inter-relação entre os fatores envolvidos, com destaque para o papel essencial do húmus e da matéria orgânica para a fertilidade do solo e nutrição da planta (Howard, 1943; Sandhu et al., 2010; Schipanski et al., 2017).

Os produtores orgânicos utilizam uma variedade de cana-de-açúcar não transgênica, além de adubação advinda de produção local ou compostos orgânicos devidamente autorizados pelas certificadoras. Dentre os fertilizantes e corretivos estão a compostagem, resíduos frigoríficos, esterco puro, coberturas mortas, rochas ou calcários moídos, restos materiais de biodigestores, torta de mamona e fosfatos naturais. Subprodutos da cana-de-açúcar como torta de filtro e vinhaça podem proporcionar quantidades adequadas ao suprimento de fósforo, potássio e parte significativa de nitrogênio. Palhada e gramíneas auxiliam na estruturação do solo e adubação verde e/ou rotação de culturas auxiliam na fixação biológica de nitrogênio (Barbosa, 2010; Possebon; Polli, 2020).

O uso de defensivos agrícolas é altamente controlado, dando prioridade ao controle biológico (Chagas et al., 2016). No caso da colheita que pode ou não ser mecanizada, não ocorre queima. Quando o produto chega à indústria, esta deve ser autossustentável, não fazer uso de aditivos químicos durante a produção do álcool e açúcar, seguir a legislação vigente de emissão de poluentes e descarte adequado de resíduos (Possebon; Polli, 2020).

As primeiras movimentações em prol do sistema orgânico não se assemelham com a agricultura orgânica desenvolvida atualmente, uma vez que não haviam normas e padrões ou qualquer tipo de regulamentação que garantisse maior segurança alimentar ou proteção ambiental (Ormond et al., 2002). Em 1972 foi criada a “Federação Internacional dos Movimentos de Agricultura Orgânica” ou “*International Federation of Organic Agriculture Movements*” (IFOAM), em decorrência do aumento da produção e popularidade advindos da alimentação orgânica. Essa organização é responsável pelo estabelecimento de normas internacionais relacionadas a esse sistema de cultivo (IFOAM, 2021).

Dentro da agricultura orgânica há uma legislação específica com os princípios e técnicas a serem adotados na produção de alimentos aplicáveis pelos agricultores, que garantem o cumprimento e sustentação desse sistema de produção (Figueiredo, 2002). A importância da certificação se dá pela garantia estabelecida, a demonstração de que o produto está dentro de princípios seguidos e que englobam práticas de produção adequadas. Assim, o produtor consegue destaque no mercado através da valorização e da qualidade do produto fornecido, pelo manejo sustentável, destino

adequado de resíduos, preservação ambiental e inibição do uso de agroquímicos (Nascimento et al., 2013).

Cita-se nessa legislação toda a cadeia produtiva, a rastreabilidade orgânica e o livre acesso aos locais de processamento e produção, além da comercialização, certificação e fiscalização, fundamentos estes que devem ser respeitados. Estas diretrizes garantem a qualidade e procedência orgânica de um alimento processado ou natural (Nascimento et al., 2013). Dispõe sobre agricultura orgânica brasileira e dá outras providências a regulamentação pela Lei Ordinária nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 (Brasil, 2003) e Decreto nº 6.323 de 27 de dezembro de 2007 (Brasil, 2007) que proporcionam maior confiabilidade ao consumidor.

Nos Estados Unidos, o Programa Nacional Orgânico (*National Organic Program* - NOP) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture* - USDA) desenvolve e aplica padrões consistentes para a produção agrícola orgânica (Usda, 2021). A legislação da União Europeia para produção orgânica baseia-se nos padrões IFOAM e é constituída pelos regulamentos: (CE) nº 834/2007 (Council of the European Union, 2007), relativo à rotulagem e produção orgânica de seus produtos; (CE) nº 889/2008 (Commission of the European Communities, 2008) que estabelece a execução e normas do regulamento (CE) nº 834/2007.

O grande desafio para a produção orgânica é alcançar maior estabilidade na produtividade das culturas (Knapp e Van Der Heijden, 2018). Nesse contexto, a microbiota do solo também pode desempenhar um papel fundamental (Bender et al., 2016), principalmente aquelas que habitam a rizosfera (Berendsen et al., 2012), e colonizam os tecidos vegetais (Chialva et al., 2022). Portanto, a microbiota associada ao solo e às plantas, tornou-se alvo de estudos para identificar os fatores impulsionadores que moldam a composição e estruturação da assembleia microbiana (Berg et al., 2020).

2.3. Microbioma e rizosfera

As comunidades de microrganismos presentes em um ecossistema são coletivamente chamadas de microbiota e constituem neste ambiente seu microbioma

ou nicho ecológico. A associação externa ou interna desses microrganismos a plantas é denominado fitomicrobioma (Hassani et al., 2018). As plantas dependem dos microrganismos nela existentes para desenvolverem características e funções específicas, que podem ser considerados em conjunto como constituintes de um superorganismo ou holobionte (Hassani et al., 2018). Nesses superorganismos, o ambiente rizosférico (área imediatamente adjacente à raiz) e seu microbioma ou rizobioma constituem uma parte significativa e altamente complexa de uma extensa rede de interações moleculares, genéticas e metabólicas (Brink, 2016).

Partindo deste princípio, a rizosfera é um ecossistema muito relevante para o aprofundamento do microbioma da planta (Berendsen et al., 2012). Foi definida por Hiltner em 1904 como uma área onde os compostos químicos presentes influenciam diretamente a comunidade microbiana presente. A planta recruta microrganismos benéficos que auxiliam em sua proteção e desenvolvimento (Bakker et al., 2013; Mendes et al., 2013) e seus exsudatos formam o rizodepósito, caracterizado em conjunto pela mucilagem, vitaminas, aminoácidos, proteínas, carboidratos e ácidos orgânicos que servem como estimulantes físicos e biológicos para a ocorrência de interações (York et al., 2016). Os microrganismos ali existentes fazem parte de uma complexa rede de interações, permitindo que a planta faça a modulação do microbioma em benefício próprio. Dessa forma, a planta se beneficia com a promoção de crescimento e saúde que pode ocorrer direta ou indiretamente pela ação de microrganismos selecionados com características adequadas as suas necessidades (Berendsen et al., 2012).

A atração dos microrganismos se dá pelos nutrientes que a planta fornece, assim como pelo sistema imunológico e metabolismo da planta, pelas descargas de fotossintatos e a capacidade de competição com outros microrganismos (Mendes et al., 2013; Levy et al., 2018; Sharma et al., 2021). A comunidade presente no microbioma da planta também é influenciada pela geografia e proximidade com outras plantas, filogenia e genética da planta hospedeira bem como o sistema de defesa vegetal e das diversas interações (Koskella e Taylor, 2018b). Essas comunidades podem sofrer interferência em sua estruturação pela presença de compostos químicos e antibióticos, variações drásticas de temperatura e presença de agentes patogênicos que refletem na composição do microbioma e da rizosfera (Turner et al., 2013).

As interações entre os organismos rizosféricos e o ambiente que estão inseridos são necessários para decifrar o papel sinérgico que leva a melhorias na saúde das plantas (Dessaux et al., 2016; Hassan et al., 2019). Dentre os benefícios obtidos estão a maior absorção de minerais, maior mobilização de nutrientes e a diminuição da ação de agentes patogênicos, características estas que promovem promoção de crescimento e maior qualidade para o vegetal (Dakora et al., 2015; Chapelle et al., 2016). Os chamados promotores de crescimento incluem agentes de biocontrole, fixadores de nitrogênio, patógenos de solo e fungos micorrízicos (Mendes et al., 2013) e agem das mais variadas formas dentre as quais através biofertilização e/ou fitoestimulação (Kumar et al., 2011).

Os microrganismos presentes na rizosfera se movem para o restante da planta e colonizam diferentes órgãos (Hardoim et al., 2015; Mitter et al., 2020). Com isso, a microbiota das partes aéreas das plantas é influenciada por processos de transporte de longa distância, enquanto que para raízes, o tipo de solo e sua história, o teor de nutrientes e água são fatores influentes (Bogino et al., 2013).

A microbiota da cana-de-açúcar passou a ser alvo de muitos estudos, devido a sua importância econômica. Nela, se encontra uma comunidade microbiana rizosférica muito diversificada, com a presença abundante de filos como *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* dentre outros em menores abundâncias (Pisa et al., 2011; Mehnaz, 2013). A relevância do rizomicrobioma para o funcionamento das plantas é reconhecido há décadas, mas, até recentemente muitas ferramentas para a investigação de interações não estavam disponíveis, como as atuais abordagens que garantem maior acessibilidade através de técnicas de sequenciamento em larga escala, com exploração dos microbiomas ambientais e do hospedeiro (Brink, 2016). O microbioma da rizosfera da cana-de-açúcar tem sido alvo de investigações antes mesmo da disseminação das tecnologias de Sequenciamento de Nova Geração (NGS) (Pisa et al., 2011). O uso de tecnologias NGS tem levado a um aumento na avaliação exploratória deste ambiente (De Souza et al., 2016) e maior amplificação na valiação dos impactos dos manejo nas culturas (Gao et al., 2019).

2.4. A abordagem metataxonômica

Durante muito tempo os estudos envolvendo a rizosfera foram feitos de forma isolada sob uma perspectiva reducionista, ou seja, o solo, os microrganismos e as plantas eram estudados dissociados uns dos outros (Dessaux et al., 2016). Recriar as condições ideais de cultivo dificultava as análises devido às limitações metodológicas ou pela incapacidade de simular as reais condições naturais do meio (Nannipieri et al., 2008). Acredita-se que os métodos baseados em cultivo não demonstram as verdadeiras composições e diversidades das comunidades bacterianas (Cho et al., 2016).

Esta dificuldade foi superada através do desenvolvimento de novas técnicas moleculares independentes de cultivo, através da tecnologia de sequenciamento de nova geração e alto rendimento, possibilitando o estudo de forma detalhada de comunidades microbianas altamente complexas (Kavamura et al., 2020). O uso do sequenciamento gênico de alto rendimento produz dados cada vez mais rápidos e com menores custos (Nelson et al., 2014). Essas novas abordagens demonstram que amostras edáficas e rizosféricas foram subestimadas, obtendo-se dados significativos de filos microbianos sem representantes cultivados, evidenciando-se uma diversidade muito maior do que a esperada (Mendes et al., 2013; Lagos et al., 2015).

Na genômica, há especificidade no estudo de um único organismo através do sequenciamento de DNA e assim uma análise mais aprofundada. Já na metagenômica, derivada do conceito estatístico de meta análises, o DNA da comunidade total de organismos é estudado em um determinado ambiente, garantindo a combinação estatística de análises separadas (Schloss e Handelsman, 2003; Dantas, 2009). Os passos principais para um estudo de metagenômica estão na obtenção e processamento de amostras ambientais para acesso ao DNA total da comunidade, o sequenciamento automatizado em larga escala dos ácidos nucleicos e análise computacional desse volume de dados, que geralmente compõem duas divisões: a análise funcional e/ou estrutural de diversidade microbiana (Vieites et al., 2010).

A abordagem metagenômica estrutural se baseia no estudo da organização de uma comunidade a partir da identificação dos microrganismos presentes nas amostras

ambientais, ou ainda, na reconstrução das complexas redes metabólicas para compreender as funções estabelecidas entre os membros da comunidade. Já a metagenômica funcional propõe a identificação de genes que codificam funções de interesse, com o propósito de realizar triagens baseadas em atividades específicas (Alves et al., 2018). Pelo metagenoma rizosférico é possível se obter dados ricos em estruturação e interações de comunidades, dinâmica e atividades metabólicas entre associações ecológicas. (Mendes et al., 2013; Goel et al., 2017; Ofaim et al., 2017).

As estratégias de sequenciamento de metagenomas foram desenvolvidas incluindo a abordagem metataxonômica, também reconhecido como *DNA metabarcoding* ou *environmental DNA* (eDNA), com enfoque no sequenciamento de regiões gênicas estabelecidas como marcadores taxonômicos, os quais apresentam alta conservação entre espécies de um determinado grupo, mas que possuem trechos internos variáveis que permitem a distinção entre elas (Creer et al., 2016). Semelhantes a códigos de barras padronizados, esses fragmentos são amplificados através da reação em cadeia de polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*), que posteriormente são submetidos ao sequenciamento para a obtenção de uma sequência de DNA que frequentemente contém informação suficiente para o reconhecimento do gênero do microrganismo, mas em muitos casos, atinge maior especificidade em nível de espécie (Coissac et al., 2012; Francioli et al., 2021).

Entre os marcadores taxonômicos mais utilizados estão o gene da pequena subunidade ribossomal, usado na identificação de bactérias e arqueas, 16S (gene 16S rRNA) (Janda e Abbott, 2007) e o Espaçador Interno Transcrito (ITS, do inglês *Internal transcribed spacer*) para fungos (Schoch et al., 2012). Essa abordagem auxilia na caracterização de toda a microbiota e as relações estabelecidas, demonstrando que o genótipo da planta, o ambiente e compartimento rizosférico influenciam na composição bacteriana e fúngica da comunidade em variados graus (Leach et al., 2017).

Após a realização do processo de sequenciamento, utilizam-se ferramentas computacionais para o processamento de dados, atribuição taxonômica e análises ecológicas (Alberdi et al., 2018). O processamento dos dados consiste no agrupamento de sequências de acordo com sua similaridade. A estratégia utilizada pode agrupar sequências próximas e resultar em Unidades taxonômicas Operacionais

(OTUs, do inglês *Operational Taxonomic Units*), obtendo-se cerca de 97% de semelhança com uma sequência de corte comparada ao gene 16S ou ITS. Já as variantes de sequências de *amplicons* (ASVs, do inglês *Amplicon Sequence Variants*) também podem ser usadas, obtendo-se vantagens no agrupamento de sequências idênticas (Tipton et al., 2021). Nesse caso, não há um limite de similaridade, obtendo-se níveis mais refinados e específicos em taxonomia (Schloss, 2021). Posteriormente, o pacote de *software* DADA2 pode ser usado para correção e inferência de *amplicons* sequenciados pela plataforma Illumina® (Callahan et al., 2016). Finalmente, as sequências de ASVs/OTUs são submetidas a uma atribuição taxonômica através da comparação com sequências conhecidas depositadas em bancos de dados como UNITE, GENBANK, RDP e SILVA (Foster et al., 2017).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

Investigar a composição e a diversidade microbiana associada a rizosfera de cana-de-açúcar em relação a dois modos de cultivos (orgânico e convencional) através da abordagem metataxonômica.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a diversidade microbiana (alfa e beta) e composição taxonômica presente na rizosfera da cultura de cana-de-açúcar, através da análise dos genes marcadores taxonômicos 16S rRNA (região V3-V4) para bactérias e ITS (região ITS2) para fungos;
- Identificar a microbiota essencial (“*core microbiota*” ou “*core microbiome*”), ou seja, táxons que estão presentes na rizosfera da cana-de-açúcar independente do sistema de cultivo;
- Identificar a microbiota diferencialmente abundante entre os diferentes sistemas e a possível influência do sistema de cultivo em sua presença e abundância;

- Analisar a predição funcional de comunidades microbianas e o possível enriquecimento de vias metabólicas relacionados aos sistemas de cultivo;
- Analisar a estruturação das comunidades microbianas existentes em sistemas orgânico e convencional através da rede de coocorrências;
- Identificar microrganismos promotores de crescimento de plantas e a possível influência dos sistemas de cultivos na presença dos mesmos;
- Encontrar relações que permitam a compreensão das complexas interações dos microrganismos que poderiam influenciar a cana-de-açúcar, baseados nos sistemas de cultivos empregados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Desenho experimental e obtenção de amostras

As amostras para obtenção de DNA metagenômico foram obtidas de solo da rizosfera de plantas do mesmo cultivar de cana-de-açúcar (CTC 9001) sob dois modos de cultivo contrastantes, ou seja, sob cultivo convencional e orgânico.

As coletas foram realizadas em dois talhões separados por uma distância de aproximadamente 100 metros, ambos localizados no município de Jaboticabal-SP (Fazenda São José de cultivo orgânico e Fazenda São Sebastião de cultivo convencional). Foram selecionados pontos amostrais equidistantes (≈ 50 m) em uma porção representativa do talhão, onde foram coletados os solos rizosféricos de plantas saudáveis, ou seja, sem sintomas evidentes de patógenos. Os pontos de coletas foram nomeados CRZ1, CRZ2 e CRZ3 em cultivo convencional e ORZ1, ORZ2 e ORZ3 em cultivo orgânico. As coletas de cada ponto foram realizadas em dias distintos e para manter o pareamento das amostras por dia, foram coletadas plantas dos dois talhões (ex. CRZ1 e ORZ1 coletados no dia 27/02/2018) (Figura 1).

Na Fazenda São José a cana-de-açúcar foi cultivada de forma convencional até o ano 2000, quando o processo de conversão se iniciou e a agricultura orgânica passou a ser cultivada, seguindo as especificidades e recomendações para adequação às normas de produção das agências certificadoras até receber a primeira certificação em 2006. Atualmente a Fazenda possui o certificado nacional de produção

orgânica em acordo com a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 (Brasil, 2003), a certificação americana USDA (100%) (USDA, 2000), e está de acordo com a regulamentação definida pela União Europeia, (CE) nº 834/2007 (Council of the European Union, 2007).

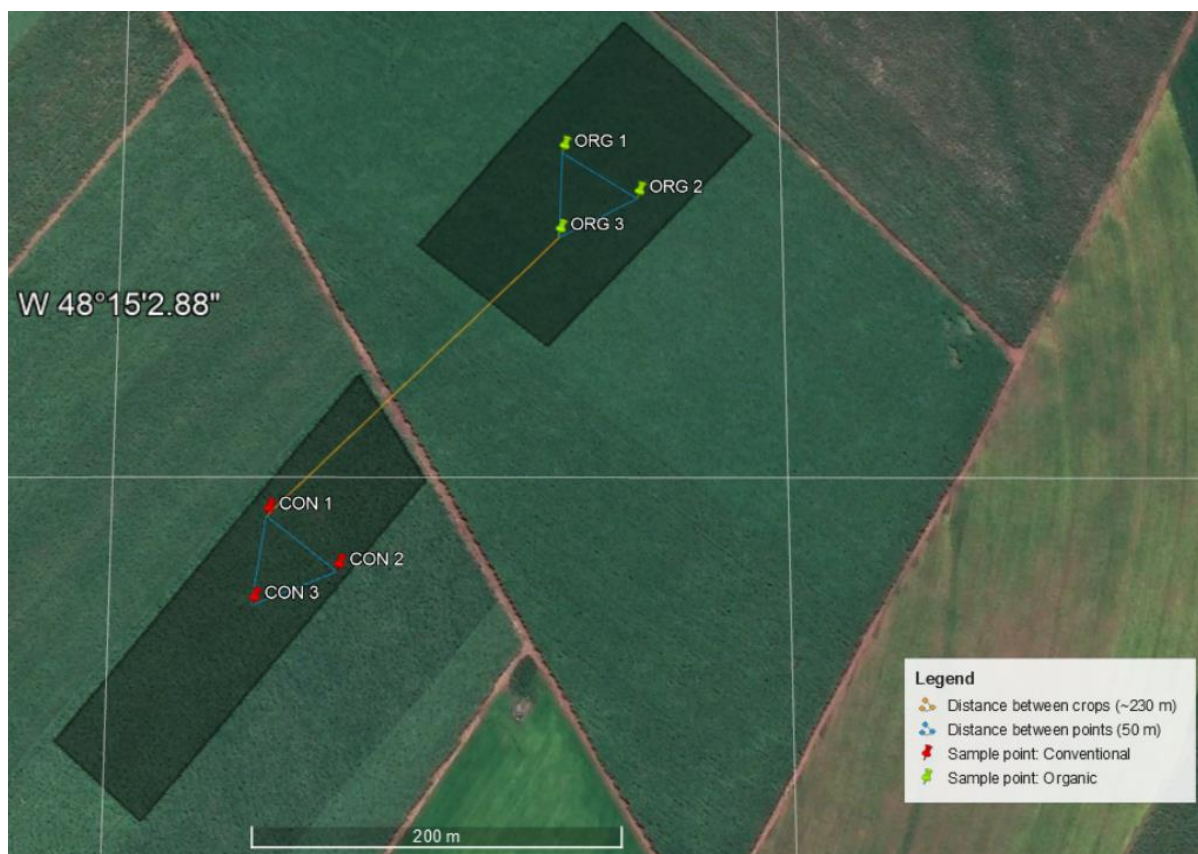


Figura 1: Área de amostragem e pontos de coletas de solos rizosféricos de cana-de-açúcar na Fazenda São José, obtida de forma orgânica (ORG) e pontos de coletas de solos rizosféricos de cana-de-açúcar convencional (CON) na Fazenda São Sebastião. Legenda: Distância entre os talhões (~230 m); Distância entre os pontos amostrais (50 m); Ponto de amostragem convencional; Ponto de amostragem orgânico.

Os plantios de cana-planta nesses talhões foram realizados aproximadamente no mesmo período, entre março e abril de 2017 (sistema de plantio de ano-e-meio). As três coletas do material rizosférico em cada cultivo foram realizadas aproximadamente 11 meses após o plantio, no início do ano 2018, aproximando-se do final do período de crescimento vegetativo e início da maturação do canavial (Figura 2).



Figura 2: Esquema de coletas. Da esquerda para direita, de cima pra baixo: área de coleta, colmos coletados em sacos de rafia esterilizados, trado holandês e raízes arrancadas do solo para a coleta.

Os pontos de amostragem foram escolhidos previamente utilizando-se o *software* Google Earth e para a localização dos pontos definidos utilizou-se o *software* de georreferenciamento com sistema de posicionamento global (GPS). Os dados climatológicos foram obtidos através do Departamento de Ciências Exatas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal/SP, através de dados pertencentes ao acervo do setor de Agrometeorologia (Tabela 1).

Tabela 1: Localização geográfica e dados climatológicos dos pontos de amostragem, data da coleta e dados ambientais: umidade relativa do solo, temperatura do solo, temperatura atmosférica, umidade relativa do ar e pressão atmosférica.

Pontos	Latitude	Longitude	Umid Solo (%)	Temp. Solo (°C)	Temp. Atm. (°C)	Umid. Ar (%)	Press. Atm. (hPa)	Data
CRZ1	21°11'23.27"S	48°14'59,92"O	17,98	23,0	21,42	93,01	943,70	27/02/2018
CRZ2	21°11'24.28"S	48°14'58,56"O	15,70	22,9	23,49	79,94	942,50	03/03/2018
CRZ3	21°11'24.88"S	48°15'00,17"O	14,84	23,5	21,20	95,24	941,00	08/03/2018
ORZ1	21°11'16.46"S	48°14'54,23"O	17,95	22,6	25,47	75,40	944,10	27/02/2018
ORZ2	21°11'17.33"S	48°14'52,76"O	17,92	23,1	28,00	61,05	943,10	03/03/2018
ORZ3	21°11'18.06"S	48°14'54,32"O	17,08	22,7	24,72	78,57	941,70	08/03/2018

4.2. Informações sobre os manejos dos talhões de cana-de-açúcar

Os talhões foram selecionados primeiramente por possuírem o mesmo cultivar (CTC9001) plantados com cana-planta e com início de plantio semelhante (março de 2017), além de possuírem uma curta distância (≈ 100 m) entre si. Essa menor distância foi considerada como critério de seleção, a fim de encontrar semelhanças na textura do solo e na topologia do terreno, além da uniformidade de outras variáveis físico-químicas e relacionadas ao microclima. Com isso, intencionou-se obter apenas a variação na composição química do solo relacionada aos efeitos do manejo.

Os procedimentos de preparo do solo para o plantio são semelhantes nos dois talhões, ou seja, aração, gradagem e subsolagem. Na reforma desses canaviais são plantadas leguminosas (amendoim, soja ou crotalária). Após a colheita dessas culturas o material vegetal restante é revolvido junto com o solo no preparo.

Na área de cultivo orgânico para a reforma do canavial, há aplicação de vinhaça no solo e especificamente no sulco de plantio, matéria orgânica em processo de decomposição (Torta de filtro, esterco de gado em confinamento, material vegetal proveniente da vegetação nativa na área da fazenda). A vinhaça e a torta de filtro são provenientes de usinas sucroalcooleiras com certificação de produção orgânica. Para o replantio, a adubação inicia com a calagem (ajuste da acidez excessiva do solo e suplementação de cálcio e magnésio) e fosfatagem utilizando fertilizantes minerais (calcário e rocha fosfatada). Foram utilizados produtos comerciais para biocontrole de pragas e promotores de crescimento (fixação biológica de nitrogênio) (Tabela 2).

Tabela 2: Insumos agrícolas utilizados na cultura orgânica de cana-de-açúcar.

Classificação	Produto	Ingrediente Ativo (Grupo Químico)	Dosagem (per ha)
Fungicida	Quality® (*) (**)	<i>Trichoderma asperellum</i> 1 x 10 ¹⁰ UFC/g (Biológico)	200 g (*) /100g (**)
	Difere®	Oxicloreto de cobre 588 g/L (Inorgânico)	200 L (*)
Nematicida	Rizos® (**)	<i>Bacillus subtilis</i> 1,5 x 10 ⁹ UFC/L (Biológico)	300 mL (**)
	Onix® (*)	<i>Bacillus methylotrophicus</i> isolado SF 267 1,5 x 10 ⁹ UFC/L (Biológico)	0,5 L (*)
Inseticida	Bouveriz® (*)	<i>Beauveria bassiana</i> 8 x 10 ⁹	50 g (*)
Promoção de Crescimento	Azos® (*) (**)	<i>Azospirillum brasilense</i> estirpe ABV5 1 x 10 ⁹ UFC/L (Biológico)	1 L (*) / 300 mL (**)
	Starfix® (**)	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA 5079/5080 (Biológico)	8 doses

(*) Aplicação no início do plantio;

(**) Aplicação no sulco de plantio da cultura anterior

Na área de cultivo convencional, a adubação do solo foi realizada com calagem, utilizando gesso e calcário e fertilização com adubo NPK (nitrogênio [N], pentóxido de fósforo [P₂O₅] e óxido de potássio [K₂O]) na proporção 50-50-25, respectivamente. Além da adubação para o plantio, são aplicados inseticidas, fungicidas, herbicidas, além de fertilizantes a base de compostos orgânicos e inorgânicos (Tabela 3).

Tabela 3: Insumos agroquímicos utilizados na cultura convencional de cana-de-açúcar.

Classificação	Produto	Ingrediente Ativo (Grupo Químico)	Dosagem (per ha)
Inseticida	Orix® (*)	Óleo mineral (Hidrocarbonetos alifáticos)	0,2 L
	Nuprid®	Imidacloprido (Neonicotinóide)	1 kg
	Regent® (*)	Fipronil (Fenilpirazol)	247,93 g
	Engeo Pleno®	Tiametoxam (Neonicotinóide); Lambda-Cialotrina (Piretróide)	1 L
Fungicida	Opera®	Epoxiconazol (Triazol); Piraclostrobina (Estrobilurina)	1 L
	Comet® (*)	Piraclostrobina (Estrobilurina)	0,495 L
Herbicida	Butiron® (*)	Tebutiurum (Uréia)	1,65 L
	Boral (*)	Sulfentrazone (Triazolona)	1,65 L
Fertilizante	Poliflex® (*)	Pentóxido de fósforo (P ₂ O ₅) 18%; Nitrogênio (N) 3%	0,062 L
	Zintrac™ (*)	Zinco (Zn) 40%; Nitrogênio (N) 1%	1,033 L
	Bortrac™ (*)	Boro (B) 10,9%; Nitrogênio (N) 4,7%	1,033 L
	Biozyme TF® (*)	Óxido de Potássio (K ₂ O) 5,0%; Carbono Orgânico Total 3,5%; Zinco (Zn) 2%; Nitrogênio (N) 1,5%; Manganês (Mn) 1%; Enxofre (S) 1%; Ferro (Fe) 0,4%; Boro (B) 0,08%	0,495 L

(*) Aplicação no início do plantio (pré-emergência)

Porcentagem de compostos orgânicos/inorgânicos em p/p.

4.3. Acesso às comunidades microbianas associadas à rizosfera

Antes de cada coleta, as salas foram limpas com solução de água sanitária (Hipoclorito de sódio [NaClO]) com teor de cloro ativo entre 2,0% e 2,5% p/p] e Lysoform. Para o processamento das amostras, os membros da equipe utilizaram luvas estéreis, máscara e touca para evitar contaminações. As bandejas e outros recipientes foram esterilizados a cada utilização com solução de água sanitária

(Hipoclorito de Sódio [NaClO], com teor de cloro ativo entre 2,0% e 2,5% p/p a 1% p/p).

As plantas selecionadas possuíam colmos com aproximadamente 15 entrenós. O solo em torno de cada colmo principal foi escavado considerando uma circunferência de 0,5 a 0,6 m² de diâmetro e uma profundidade de 0,5m. As raízes e o solo aderido as raízes (referente a porção rizosférica) após a coleta foram colocados em sacos plásticos estéreis com capacidade para 20 litros, sendo transportados em caixas térmicas com gelo devidamente lacradas e identificadas. O processamento teve início imediatamente após a coleta para se evitar danos ao material coletado, onde o solo da rizosfera foi retirado no laboratório. As touceiras foram sacudidas para que o excesso de solo se soltasse. Após esse procedimento, foi retirado o solo aderido as raízes, que foi peneirado, fracionados em 6 microtubos de 1,5 mL e posteriormente foram armazenados e congelados em nitrogênio líquido a -80°C.

Além do solo rizosférico também foram coletadas 5 amostras de solos livres de raízes em torno de cada ponto amostral. Para essa coleta, utilizou-se o trado (tipo holandês) em uma profundidade de 20 cm a partir da superfície. Essas coletas foram fracionadas em sacos plásticos de 250 mg e posteriormente transferidas para microtubos de 1,5 mL, resfriadas utilizando-se nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C

4.4. Determinação de parâmetros físicos e químicos dos solos

Foram realizadas análises químicas e físicas dos solos livres, considerando um *pool* de 5 amostras de solos entorno de cada ponto amostral (raio de 2 metros de cada planta). As análises realizadas foram macronutrientes (Potássio [K], Fósforo [P], Enxofre [S], Magnésio [Mg] e Cálcio [Ca]), micronutrientes (Boro [B]), Manganês [Mn], Ferro [Fe], Cobre [Cu], Zinco [Zn] e Alumínio [Al]), matéria orgânica (MO), análises granulométricas do solo (Argila, Silte e Areia [Fina e Grossa]), assim como análises relacionados à acidez do solo (pH, acidez potencial [H + Al], soma de bases [SB], saturação por bases [V%], capacidade de troca de cátions [CTC])

Para a quantificação dos caracteres químicos do solo foram utilizados os métodos padronizados pelo Instituto Agronômico de Campinas - IAC (Raj et al., 2005):

- Matéria Orgânica (MO): por espectrofotometria;
- Fósforo (P): em resina por espectrofotometria;
- Potássio (K): por Espectrometria de absorção atômica;
- Cálcio (Ca): por Espectrometria de absorção atômica;
- Magnésio (Mg): por Espectrometria de absorção atômica;
- Enxofre (S): por Turbidimetria;
- Alumínio (Al): em KCl por titulometria;
- Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn): extração com solução ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) e quantificação por espectrometria de absorção atômica.
- Boro (B): método da Azometina-H por espectrofotometria
- pH: em CaCl_2 : potenciometria;
- Acidez potencial (H+Al): em tampão SMP por potenciometria;
- Soma de bases (SB) = $\text{Ca} + \text{Mg} + \text{Na} + \text{K}$;
- Capacidade de troca de cátions (CTC) = $\text{SB} + \text{H} + \text{Al}$;
- Saturação por bases (V%) = $(\text{SB}/\text{CTC}) \times 100$;

Para avaliação granulométrica, determinou as frações de Argila, Silte e Areia (AG: Areia Grossa; AF: Areia Fina) de acordo com manual da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa (Donagema et al., 2011).

As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do pacote “compare_means” função “ggpubr” (v. 0.4.0; Kassambara, 2020) do programa estatístico R (v 4.0.2; R Core Team, 2020).

4.5. Extração de DNA

As extrações de DNA total das comunidades microbianas dos solos rizosféricos foram realizadas utilizando kit comercial *DNAeasy PowerSoil Kit* (Qiagen®). Utilizou-se o protocolo padrão do fabricante com as modificações realizadas por De Souza et al. (2016), no qual consiste no aquecimento a 65°C por 10 minutos após adição do reagente C1 e duas etapas de lavagem com etanol.

Para a remoção de contaminantes, como inibidores de PCR, o DNA foi submetido à etapa de purificação com o kit Agencourt AMPure XP (A63881, Beckman

Coulter®), seguindo o protocolo do fabricante. As amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotômetro (NanoDrop®) e fluorômetro (Qubit®) e armazenadas a -80°C.

4.6. Preparação de bibliotecas de *amplicons* - 16S (Bactérias) e ITS (Fungos)

Para acessar as comunidades de bactérias para análise de abundância e diversidade, foram obtidos *amplicons* 16S rRNA e no caso das comunidades de fungos foram obtidos *amplicons* ITS. No caso dos *amplicons* 16S rRNA, o alvo foi o fragmento que compreende as regiões hipervariáveis V3 e V4 do gene (*primers* 319F e 806R; 469 pb). Para os *amplicons* ITS o alvo foi a região ITS2 (*primers* ITS9F e ITS4R; tamanho variável) (Lundberg et al., 2013).

Foram construídas bibliotecas de *amplicons* em duas etapas de PCR. Na primeira etapa de PCR, foi feita à amplificação específica do alvo (ITS2 ou V3-V4), a adição do adaptador Illumina®, além de algumas bases adicionais aleatórias adjacentes aos *primers*, *Forward* e *Reverse*, em sua extremidade 5', para incorporar heterogeneidade às sequências (Fadrosh et al., 2014; De Souza et al., 2016). Na segunda etapa de PCR foram incorporados os adaptadores para posterior sequenciamento multiplex. O produto da PCR1 de cada amostra após purificação com *beads* recebeu uma combinação única de adaptadores por meio dessa segunda reação de PCR com os *barcodes* N7 e S5 da Illumina® para indexação. As etapas de PCR seguiram o mesmo protocolo descrito no manual técnico de preparo de bibliotecas da Illumina® para MiSeq, utilizando kit PCR BIO ULTRA MIX® para as PCRs. As amostras foram purificadas com kit Agencourt AMPure XP® (A63881, Beckman Coulter®) e também com o kit DNA Clean & Concentrator - Zymo Research®.

4.7. Sequenciamento das bibliotecas de *amplicons*

Para o sequenciamento de bibliotecas *amplicons*, realizamos um sequenciamento na plataforma MiSeq Illumina® utilizando kit Nano (≈1 milhão de leituras) de bibliotecas 16S e ITS construídas a partir das amostras de DNA

metagenômico purificado (Seção “Preparação de Bibliotecas de *amplicons*”) referentes aos solos rizosféricos sob os dois modos de cultivo contrastantes. Os fragmentos foram sequenciados usando o kit MiSeq Reagent Kit v.2 (600 cycles). O sequenciamento na plataforma MiSeq® gera leituras de 300 pb em modo *paired-end* (2x300 pb), permitindo uma maior taxa de fusão de pares de leituras para a realização das análises taxonômicas.

4.8. Processamento dos dados de *amplicons* 16S e ITS

A demultiplexação das bibliotecas foi realizada usando o *software* “bcl2fastq” (v2.20.0.422; Illumina®) com as configurações padrão. As leituras remanescentes, cujo, os *barcodes* não foram identificados, foram processadas com o programa “deML” (v.1.1.3) (Renaud et al., 2015) usando as opções *-rgqual 90* e *-wrongness 80*. Os pares das leituras referentes às sequências da região variável V3-V4 do gene 16S rRNA e do ITS2, foram fundidos usando a ferramenta “PEAR” (v.0.9.11) (Zhang et al., 2014), com sobreposição mínima de 15 pb. Os *amplicons* referente à região V3-V4 do gene 16S rRNA foram extraídos com os conjuntos de primers 319F (-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG) e 806R (-GGACTACHVGGGTWTCTAAT) e o para o ITS usamos os conjuntos ITS9F (-GAACGCAGCRAAIIGYGA) e ITS4R (-TCCTCCGCTTATTGATATGC) a partir do comando “search_pcr2” do pacote de ferramentas do “USEARCH” (v.11.0.667) (Edgar, 2010).

Para a análise do microbioma, usamos o pipeline *Divisive Amplicon Denoising Algorithm* – “DADA2” (v1.14.1) (Callahan et al., 2016) para inferir e quantificar ASVs (Sequência de *Amplicons* Variantes) implementado no R (v3.6.3) (R Core Team, 2020).

Ambos os conjuntos de leituras fundidos, regiões V3-V4 do gene 16S rRNA e ITS2 não foram truncadas e as sequências foram filtradas usando a função “filterAndTrim” com os parâmetros *maxN = 0*, *truncQ = 2* e *maxEE = 2*. A taxa de erro por amostra foi estimada com base no modelo de erro por meio da função “learnErrors” e redundância das sequências foram removidas por meio da função “derepFastq”.

Por fim, as sequências foram corrigidas com base nos modelos de erros obtidos anteriormente com a função “dada” e sequências quiméricas foram removidas usando uma função “removeBimeraDenovo”.

A atribuição taxonômica dos ASVs foi realizada pelo classificador *Naive Bayesian* (Wang et al., 2007) através do DADA2, e usamos o conjunto de treinamento de banco de dados RDP (v.16) (Cole et al., 2014) para o conjunto de dados referentes ao gene 16S e o UNITE (v.8.2) (Nilsson et al., 2019) para o ITS2 aplicando a opção de *minboot* = 80.

4.9. Análises de Ecologia microbiana

4.9.1. Análises de alfa e beta diversidade

Para as análises de alfa diversidade foram consideradas as abundâncias absolutas de procariotos (principalmente bactérias) e fungos de cada sistema de cultivo. A partir desses dados, foram estimados os parâmetros de riqueza (Chao1) e diversidade (índices de Shannon e Gini-Simpson) das amostras avaliadas. Para isso, as contagens foram transformadas em um objeto “phyloseq” (pacote “phyloseq”) (Mcmurdie e Holmes, 2013) e posteriormente submetidas a função “alpha” do pacote “microbiome” (Lahti e Shetty, 2012), do programa estatístico R (R Core Team, 2020). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente, através da função “compare_means” do pacote R “ggpubr” (Kassambara, 2020), pelo teste não-paramétrico de comparação de médias Wilcoxon, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$.

Para a obtenção da beta diversidade, ambos os conjuntos de dados foram transformados em matrizes composicionais (*i.e.* normalização por TSS – *Total Sum Scaling*, ou abundâncias relativas), através da função “transform” do pacote “microbiome”. A partir dos valores transformados, calculamos as distancias das dissimilaridades de *Bray-Curtis* (função “distance” do pacote “phyloseq”). As matrizes das distâncias foram, então, utilizadas para comparação estatística entre os sistemas por uma análise PERMANOVA (do inglês, *Permutational Multivariate Analysis of Variance*) através da função “adonis” do pacote “vegan” (Oksanen et al., 2019), considerando-se um p-valor $\leq 0,1$. Em seguida, as matrizes foram utilizadas para a

obtenção de um dendrograma, resultante do agrupamento hierárquico das amostras, e fornecidas como entrada para uma análise de PCoA (do inglês, *Principal Coordinate Analysis*).

4.9.2. Microbioma essencial (*core microbiome*)

O reconhecimento do microbioma essencial, ou seja, aquele que independe do tipo de cultivo, foi feito através da identificação dos microrganismos de alta prevalência nas amostras, de forma independente ao sistema de cultivo. Para isso, consideramos aqueles microrganismos presentes em ao menos 90% das amostras, com uma abundância relativa mínima de 1%. Os cálculos e visualizações do microbioma essencial foram obtidos através da função “plot_core” do pacote “microbiome”.

4.9.3. Análise de abundância diferencial

A identificação dos táxons, de cada nível taxonômico, que estão presentes em abundâncias significativamente diferentes entre os sistemas, foi feita por meio da abordagem “DESeq2” (Love et al., 2014). Para isso, utilizamos as contagens absolutas, que foram submetidas à plataforma web “*Microbiome Analyst*” (Dhariwal et al., 2017), normalizadas (TSS) e fornecidas como entrada para a implementação do DESeq2, no qual se realizou o teste Wald para constatação de significância estatística, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$.

4.9.4. Análises de Predição Funcional

As capacidades funcionais dos microbiomas foram preditas através do programa “PICRUSt2” (v.2.3.0-b; Douglas et al., 2019). Para isso, utilizamos o banco de vias metabólicas “MetaCyc” (Caspi, 2006) como referência de anotação da predição funcional. As vias anotadas foram comparadas entre os sistemas de cultivo para a identificação de vias metabólicas enriquecidas. Para esse fim, foi utilizado o programa “STAMP” (v.2.1.3; Parks et al., 2014), no qual consideramos o teste de comparação de médias não-paramétrico de White, considerando um p-valor $\leq 0,05$.

4.9.5. Redes de coocorrência

As redes de coocorrência dos gêneros identificados de fungos e bactérias foram elaboradas com base nos coeficientes de correlação de Pearson. Os coeficientes foram obtidos através da submissão das contagens absolutas à plataforma “*MicrobiomeAnalyst*”, onde essas passaram por normalização (TSS) e foram encaminhadas para a “Análise de Correlação” (“*Correlation Analysis*”), utilizando os parâmetros de correlação mínima (*correlation threshold*) = $\pm 0,5$ e p-valor (*p-value threshold*) = 0,05. Posteriormente, os coeficientes de correlação de Pearson foram utilizados como entrada para o programa “Cytoscape” (v.3.8.0; Kohl et al., 2011), onde, além das representações visuais, foram obtidas as medidas de centralidade de cada rede.

5. RESULTADOS

5.1. Análises dos parâmetros físico-químicos dos solos

As análises físico-químicas dos solos livres demonstraram poucas diferenças significativas entre os cultivos. O cultivo convencional caracterizou-se levemente mais ácido, com menores valores de pH, soma e saturação de bases, em contraste com maior potencial de acidez e porcentagem de saturação de alumínio se comparado ao cultivo orgânico (Tabela 4).

Em relação a nutrição, houve diferenças significativas apenas em potássio (K) e enxofre (S) (Tabelas 2 e 3) com valores acrescidos em sistema orgânico e convencional respectivamente. Já a textura do solo, demonstrou-se mais arenoso em cultivo convencional.

Tabela 4: Média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos dos solos em sistema de cultivo orgânico e convencional

Parâmetros	Convencional	Orgânico	Sig
Matéria Orgânica (g.dm ⁻³)	18,92 ± 2,21	19,38 ± 1,12	ns
pH (CaCl ₂)	5,42 ± 0,05	5,7 ± 0,25	*
Potencial de acidez: H+Al (mmolc.dm ⁻³)	24,32 ± 2,8	21,58 ± 3,26	*
Soma de Bases (mmolc.dm ⁻³)	38,18 ± 2,78	44,61 ± 2,02	*
CTC (mmolc.dm ⁻³)	62,5 ± 2,8	66,2 ± 3,23	ns
Saturação de Bases (V %)	61,1 ± 3,97	67,47 ± 3,77	*
Saturação de Alumínio (m %)	0,81 ± 0,76	0,15 ± 0,13	*
Al (mmolc.dm ⁻³)	0,3 ± 0,26	0,07 ± 0,06	ns
B (mg.dm ⁻³)	0,36 ± 0,02	0,33 ± 0,03	ns
Ca (mmolc.dm ⁻³)	28,15 ± 3,9	32,17 ± 1,39	ns
Cu (mg.dm ⁻³)	3,29 ± 0,8	2,91 ± 0,23	ns
Fe (mg.dm ⁻³)	17,18 ± 3,49	22,49 ± 3,58	ns
K (mmolc.dm ⁻³)	1,11 ± 0,27	1,73 ± 0,41	*
Mg (mmolc.dm ⁻³)	8,92 ± 1,43	10,72 ± 0,59	ns
Mn (mg.dm ⁻³)	10,43 ± 2,04	9,09 ± 1,43	ns
P (mg.dm ⁻³)	13,71 ± 2,18	12,78 ± 7,55	ns
S (mg.dm ⁻³)	11,07 ± 7,12	5,46 ± 0,36	*
Zn (mg.dm ⁻³)	3,03 ± 0,82	2,13 ± 0,37	ns
Argila (%)	32,07 ± 4,02	34,99 ± 0,01	ns
Silte (%)	4,07 ± 1,13	6,03 ± 1,33	ns
Areia (%)	63,86 ± 3,22	58,98 ± 1,31	*
Areia Grossa (%)	28,01 ± 2,44	24,11 ± 1,75	ns
Areia Fina (%)	35,85 ± 1,31	34,87 ± 0,45	ns

As médias foram comparadas utilizando o teste não-paramétrico Wilcoxon, considerando um gradiente de significância (Sig) onde * ($p \leq 0,1$) e ns (não significativo $p > 0,1$)

5.2. Processamento e sequenciamento *de amplicons*

O processamento de DADA2 resultou em um total de 227.607 e 276.069 ASVs, dentre os quais 80.465 e 183.705 receberam atribuição taxonômica em nível de gênero, respectivamente para os conjuntos de dados 16S e ITS (Tabela 5).

O sequenciamento de alto rendimento do solo da rizosfera de cana-de-açúcar através do sequenciamento Illumina MiSeq® resultou em um total de 2x 329.685 leituras pareadas do gene 16S rRNA (região V3-V4), com uma média aproximada de 55.000 pares em 6 bibliotecas. Destes, cerca de 326.274 foram fundidos com sucesso.

Para os *amplicons* ITS2, o sequenciamento resultou em um total de 2x 311.269 leituras pareadas com uma média aproximada de 52.000 leituras em 6 bibliotecas, dos quais 309.539 foram fundidos com sucesso (Tabela 5)

Tabela 5: Resultados do processamento e sequenciamento de alto rendimento para *amplicons* 16S e ITS da rizosfera de cana-de-açúcar.

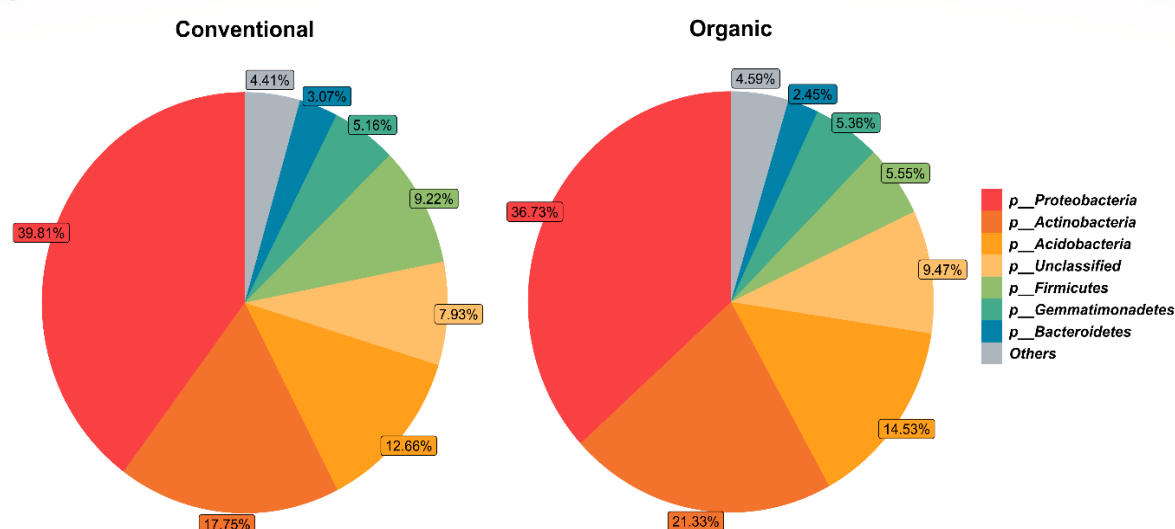
Conjunto de dados	Cultivos	Identificação das amostras	Fragmentos Pareados	Sequências Fundidas	Sequências Processadas	ASVs	Atribuição Taxonômica (Gênero)
16S	Orgânico	ORZ1	30.687	30.255	28.272	19.135	6.135
		ORZ2	51.875	51.300	48.310	36.179	11.594
		ORZ3	59.385	58.805	55.229	42.251	14.668
	Convencional	CRZ1	66.509	65.862	61.628	45.283	16.750
		CRZ2	66.017	65.383	61.459	46.707	18.156
		CRZ3	55.212	54.669	51.405	38.052	13.162
	TOTAL		329.685	326.274	306.303	227.607	80.465
ITS	Orgânico	ORZ1	47.596	47.346	43.567	42.455	27.794
		ORZ2	11.676	11.441	10.426	10.042	6.329
		ORZ3	50.777	50.558	46.658	45.351	32.112
	Convencional	CRZ1	66.655	66.271	60.813	58.166	32.896
		CRZ2	62.383	62.073	57.374	55.932	38.595
		CRZ3	72.182	71.850	66.391	64.123	45.979
	TOTAL		311.269	309.539	285.229	276.069	183.705

5.3. Medidas Ecológicas e Composição Microbiana

5.3.1 Composição taxonômica

Na composição taxonômica de bactérias da rizosfera, grande parte dos táxons de maior abundância são pertencentes ao filo *Proteobacteria* em ambos os sistemas de manejo, seguidos pelos filot *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes* e *Bacteroidetes*, também em altas abundâncias, porém em menores proporções (Figura 3A). Nota-se a presença de grupos categorizados como não classificados (*unclassified*) agrupando táxons em menores abundâncias, desconhecidos ou sequências com evidências insuficientes. Considerando o nível taxonômico de ordem, encontram-se quinze mais abundantes (Figura 3B) com grande destaque para *Rhizobiales*, *Actinomycetales*, *Bacillales* e *Sphingomonadales*.

A



B

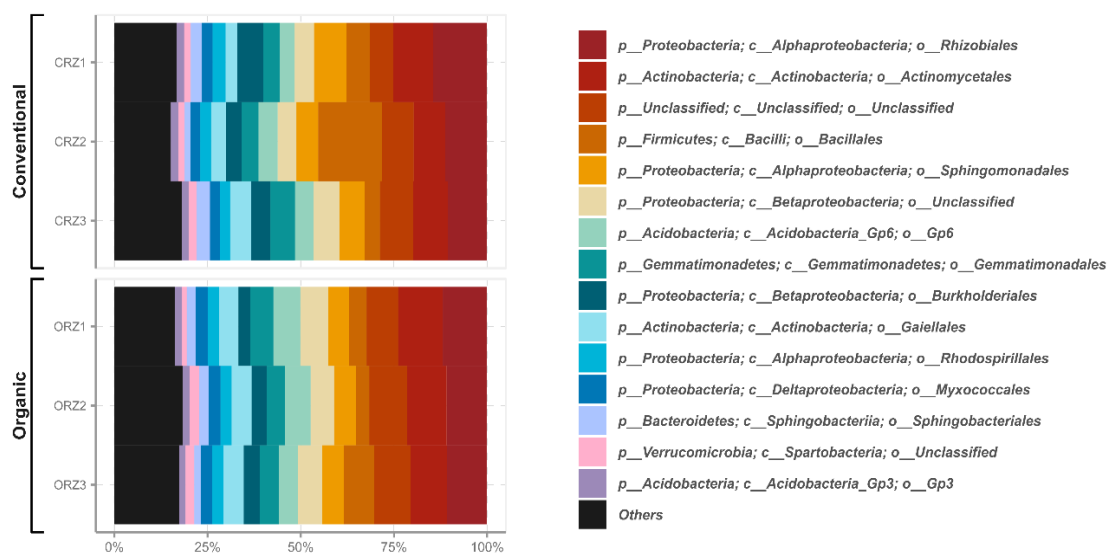
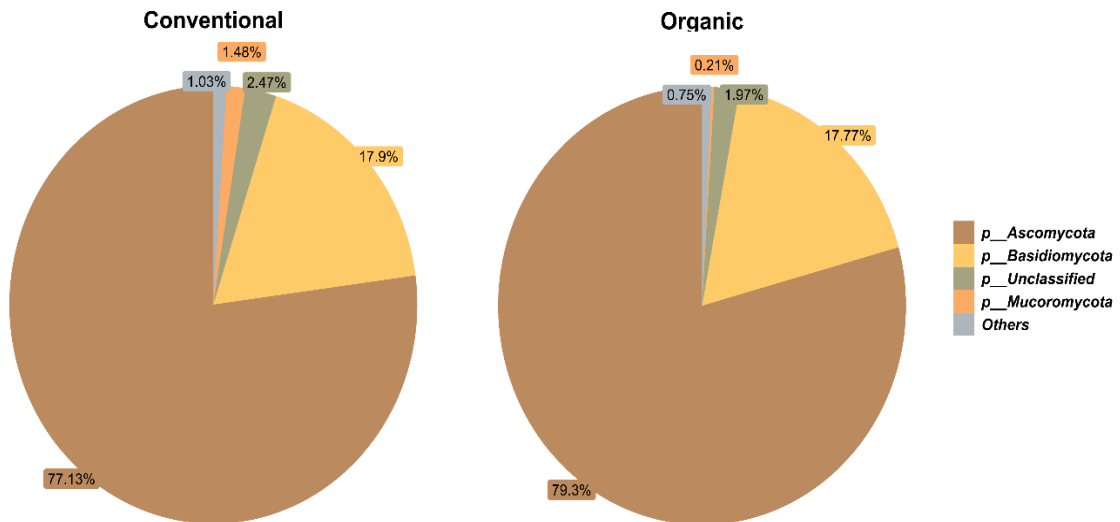


Figura 3: Distribuição dos 8 filot bacterianos mais abundantes em cultivo orgânico e convencional (A) e distribuição de 15 ordens bacterianas mais abundantes da rizosfera de cana-de-açúcar orgânica (ORZ) e convencional (CRZ) (B).

Na composição taxonômica de fungos da rizosfera de cana-de-açúcar, os filos mais abundantes são *Ascomycota* e *Basidiomycota* seguido por *Mucoromycota*, com abundância relativamente pequena (Figura 4A). Considerando o nível taxonômico de ordem, encontram-se quinze mais abundantes (Figura 4B) com grande destaque para *Hypocreales*, *Perosporales* e *Sordariales*.

A



B

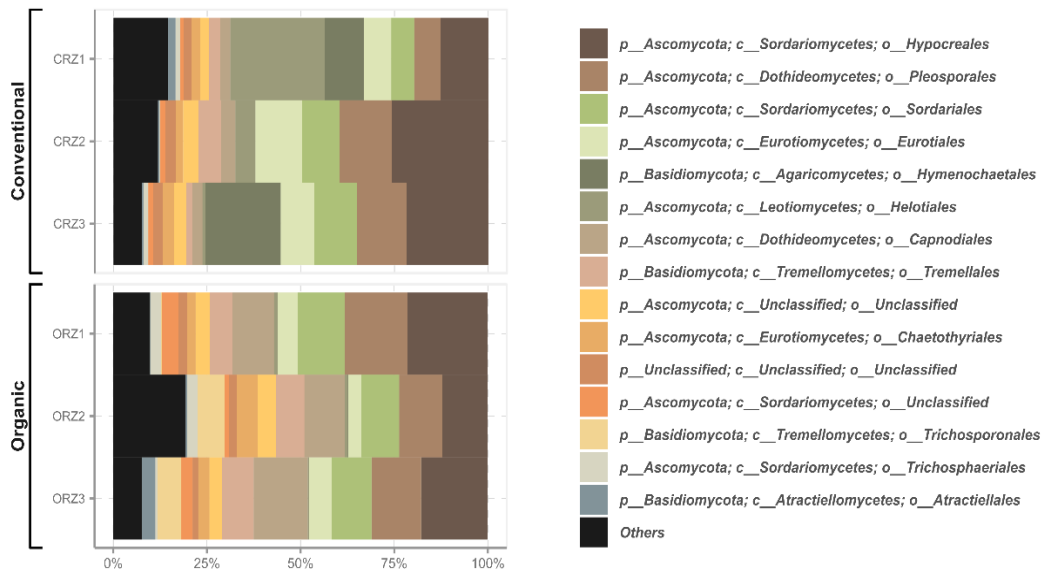


Figura 4: Distribuição dos 5 filos fúngicos mais abundantes em cultivo orgânico e convencional (A) e distribuição de 15 ordens fúngicas mais abundantes da rizosfera de cana-de-açúcar orgânica (ORZ) e convencional (CRZ) (B).

5.3.2. Diversidade alfa (16S e ITS)

O índice de riqueza e diversidade de táxons nas amostras bacterianas em ambos os sistemas de cultivo não apresentaram diferenças significativas, através da comparação de médias Wilcoxon (Chao1 $p=1$, Shannon $p=1$ e Gini-Simpson $p=1$), considerando-se um p -valor $\leq 0,1$ (Figura 5 e tabela 6). Em relação às amostras fúngicas, houve apenas diferença de diversidade considerando o índice Gini-Simpson ($p=0,1$), com valor superior em sistema de cultivo convencional. Os demais índices não obtiveram diferenças significativas entre os sistemas de cultivos (Chao1 $p=0,4$; Shannon $p=0,2$), considerando-se o mesmo nível descritivo de significância estatística (Figura 5 e Tabela 6). O índice de Shannon atribui maior ênfase à riqueza de espécies do que o índice de Simpson, dessa forma os índices podem diferir (Daly et al., 2018).

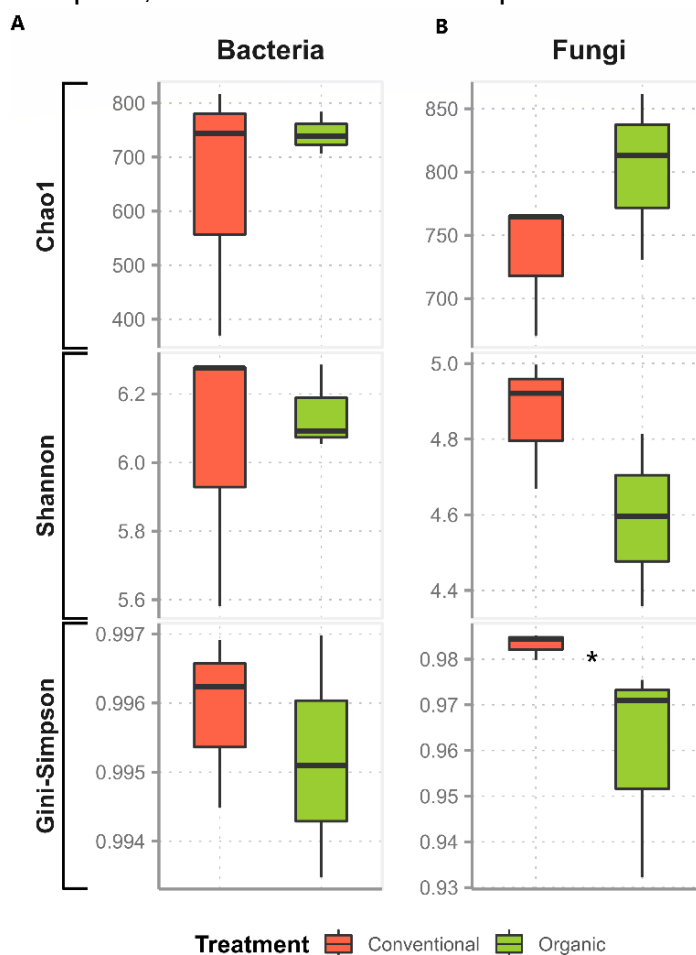


Figura 5: Índices de diversidade alfa para as bibliotecas 16S (A) e ITS (B) das três amostras de solo rizosférico orgânico (verde) e três amostras de solo rizosférico convencional (vermelho). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do teste não-paramétrico de comparação de médias Wilcoxon, considerando-se um p -valor $\leq 0,1$.

Tabela 6: Índices de diversidade alfa para as bibliotecas 16S e ITS das três amostras de solo rizosférico orgânico e três amostras de solo rizosférico convencional. As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente, através do teste não-paramétrico de comparação de médias Wilcoxon, onde significância (Sig = p-valor $\leq$ 0,1) e ns (não significativo = p > 0,1).

	Índice	Tratamento Convencional	Valor	Tratamento Orgânico	Valor	Sig
BACTÉRIAS (16S)	Chao1	CRZ1	370	ORZ1	707	ns
		CRZ2	744	ORZ2	784	
		CRZ3	817	ORZ3	739	
	Shannon	CRZ1	5,58	ORZ1	6,28	ns
		CRZ2	6,27	ORZ2	6,05	
		CRZ3	6,27	ORZ3	6,28	
	Gini-Simpson	CRZ1	0,99	ORZ1	0,99	ns
		CRZ2	0,99	ORZ2	0,99	
		CRZ3	0,99	ORZ3	0,99	
FUNGOS (ITS)	Chao1	CRZ1	765,23	ORZ1	861,75	ns
		CRZ2	670,78	ORZ2	730,59	
		CRZ3	764,7	ORZ3	812,94	
	Shannon	CRZ1	4,92	ORZ1	4,35	ns
		CRZ2	4,99	ORZ2	4,59	
		CRZ3	4,66	ORZ3	4,81	
	Gini-Simpson	CRZ1	0,98	ORZ1	0,93	*
		CRZ2	0,98	ORZ2	0,97	
		CRZ3	0,97	ORZ3	0,97	

5.3.3. Diversidade beta (16S e ITS)

No gráfico bidimensional de Análise de Coordenadas Principais (*Principal Coordinate Analysis* – PCoA) baseado no índice de *Bray-Curtis* em amostras de 16S rRNA (Figura 6), houve descrição significativa do sistema sem grandes perdas de informações. A variância da projeção de dados é explicada em 60% para os procariotos, onde PCoA 1 descreve a maior parte da variação (respondendo por 37,37%). Uma das amostras de manejo orgânico aparece longe das demais do mesmo grupo, se assemelhando às amostras de cultivo convencional, sugerindo tratar-se de um ponto fora da curva (*outlier*). No entanto, mesmo considerando essa amostra discrepante, há a possibilidade de rejeitar a hipótese nula de equivalência

entre os grupos representados pelos sistemas de manejo (considerando-se o p-valor $\leq 0,1$), onde os sistemas de cultivos demonstram diferenças composicionais entre si.

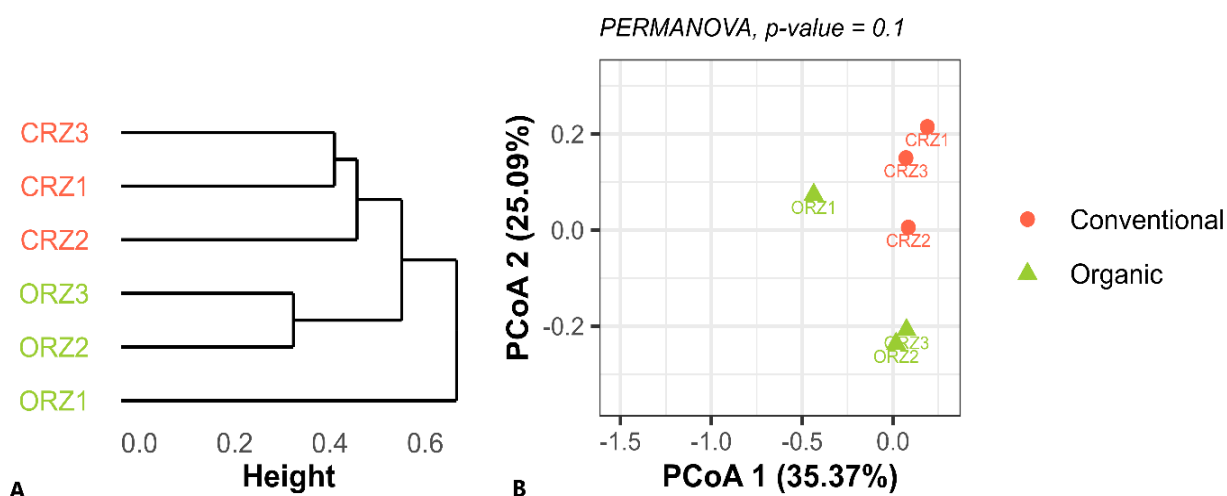


Figura 6: Dendrograma resultante do agrupamento hierárquico de amostras 16S rRNA de solo rizosférico (A). Análise de Coordenadas Principais (PCoA), baseado no índice de *Bray-Curtis* de amostras 16S rRNA de solo rizosférico (B). As matrizes das distâncias foram utilizadas para comparação estatística entre os sistemas por uma análise PERMANOVA, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$.

Na Análise de Coordenadas Principais do conjunto de organismos fúngicos, as amostras das bibliotecas de ITS apresentam o mesmo perfil de agrupamento observados para os dados de procariotos, ou seja, as amostras de manejo orgânico e convencional estão bem definidas e apresentam diferenças entre os manejos (Figura 7). A variância da projeção de dados para os fungos é explicada em 60%, com descrição significativa do sistema, sem grandes perdas de informações. O nível descritivo de significância pela análise PERMANOVA é de 0,1. O caso é semelhante à avaliação feita para os procariotos, dessa forma representando também uma diferença significativa entre os sistemas de cultivo.

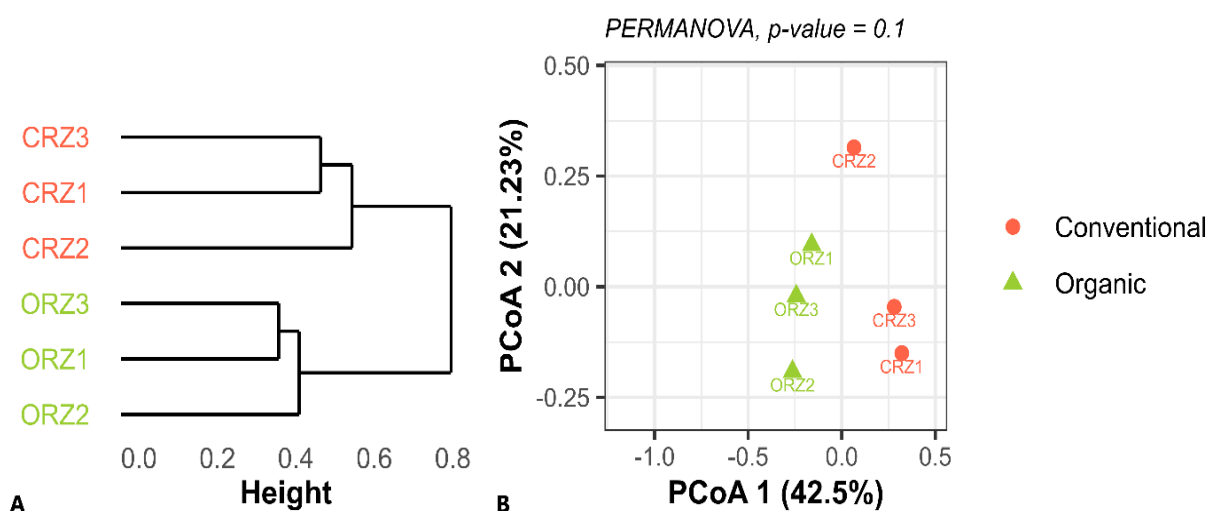


Figura 7: Dendrograma resultante do agrupamento hierárquico de amostras ITS de solo rizosférico (A). Análise de Coordenadas Principais (PCoA), baseado no índice de *Bray-Curtis* de amostras ITS de solo rizosférico (B). As matrizes das distâncias foram utilizadas para comparação estatística entre os sistemas por uma análise PERMANOVA, considerando-se um p-valor $\leq 0,1$.

5.3.4. O microbioma essencial ou *microbiome core*

Para os dados 16S rRNA, foram considerados pertencentes ao microbioma essencial 7 filos, 12 classes, 12 ordens, 9 famílias e 5 gêneros (Figura 8). Dentre estes, destaca-se o filo *Proteobacteria*, com abundância relativa de 35% em 100% das amostras, seguido por *Actinobacteria*, com abundância relativa de 15% em 100% das amostras.

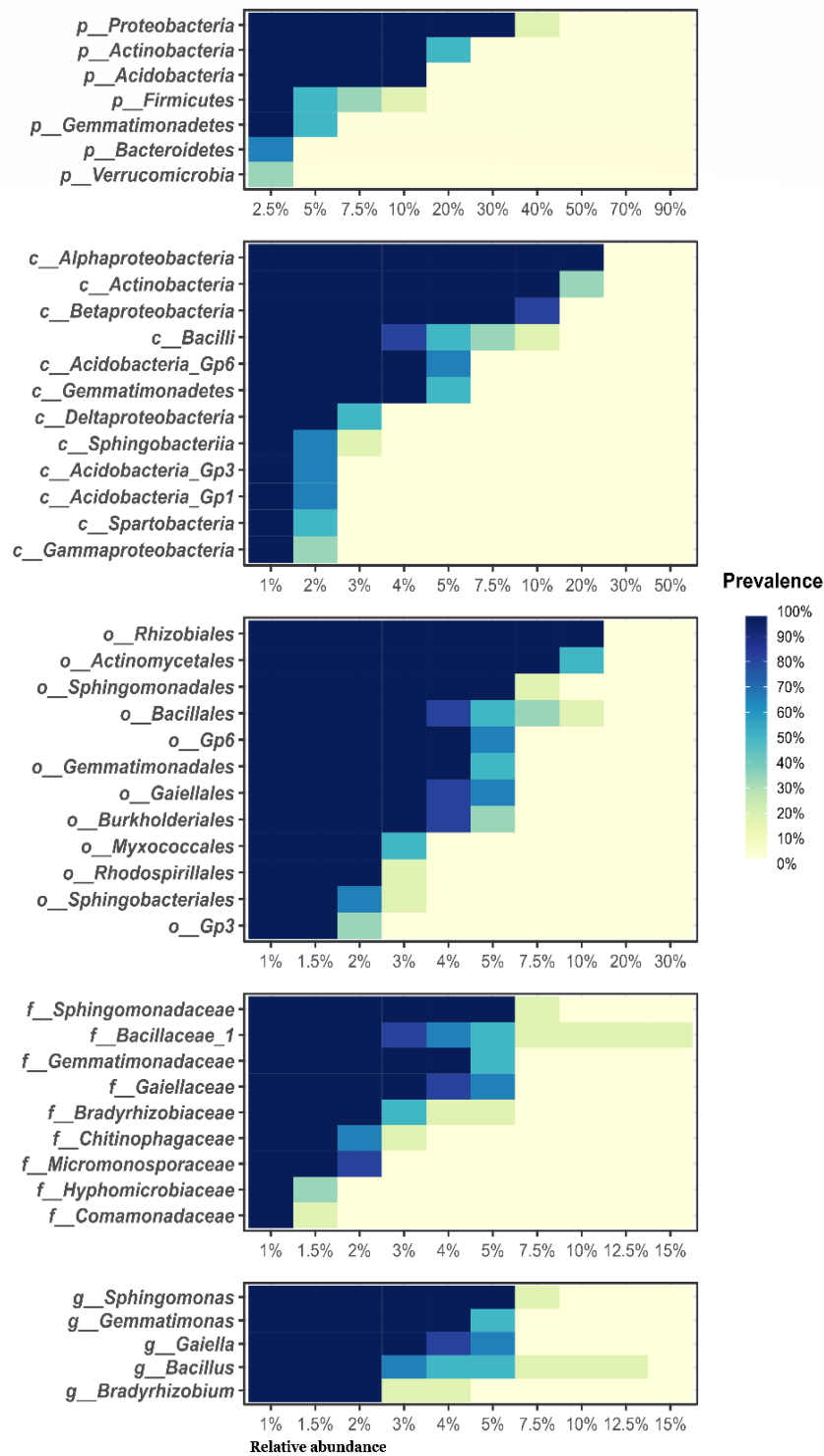


Figura 8: Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons bacterianos de alta prevalência (> 90%) nas amostras de rizosfera independentemente do sistema de cultivo, onde a coloração azul indica a prevalência dos táxons nas amostras e a porcentagem horizontal representa a abundância relativa de cada táxon nas amostras. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (filó), "c" (classe), "o" (ordem), "f" (família), e "g" (gênero).

O microbioma essencial dos fungos compreendeu 2 filos, 5 classes, 7 ordens, 7 famílias, 5 gêneros e 3 espécies (Figura 9). O filo essencial de maior prevalência foi

Ascomycota, com uma abundância relativa de 80% em todas as amostras. O filo de menor prevalência foi *Basidiomycota*, com uma abundância relativa de 8% nas amostras. Seu único representante foi a espécie *Saitozyma podzolica*.

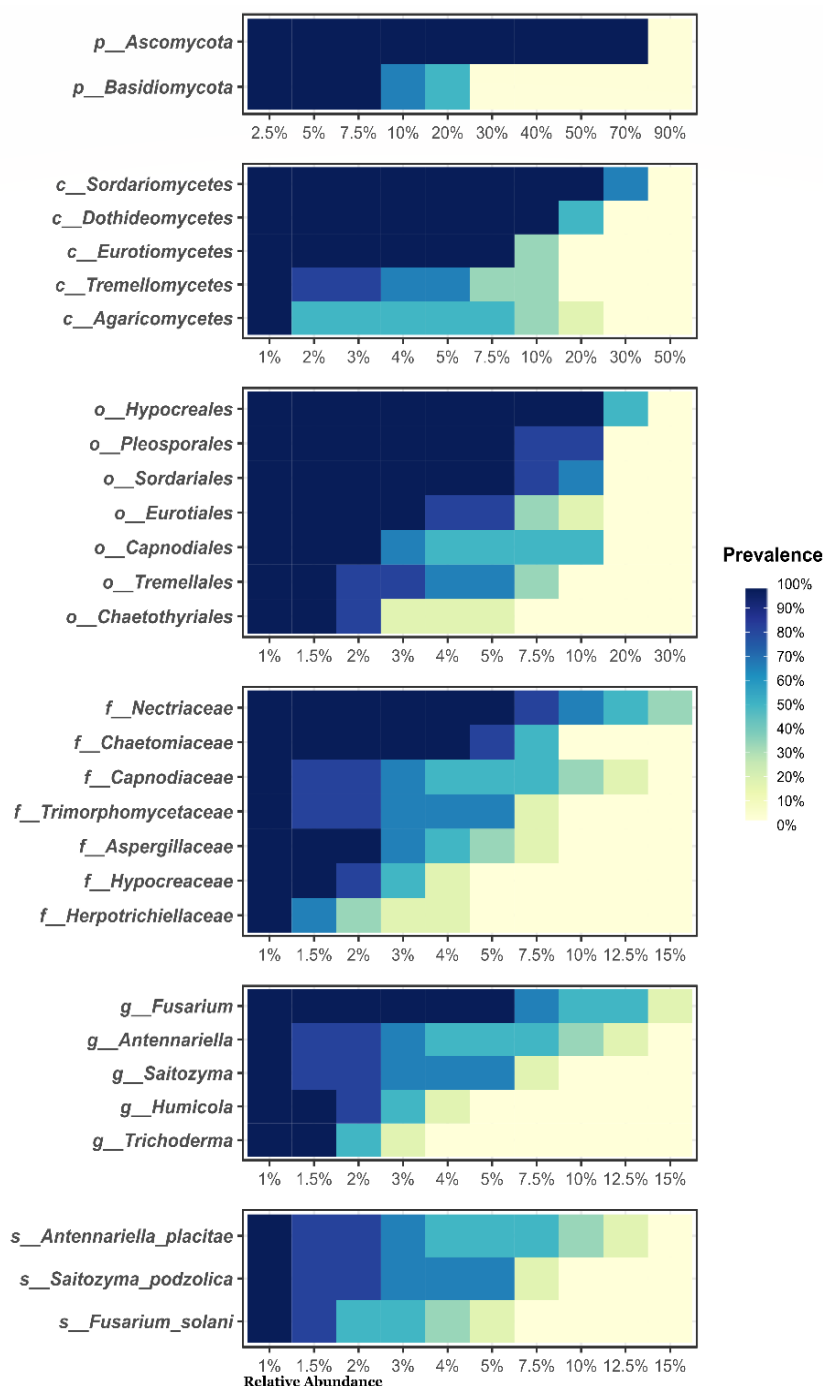


Figura 9: Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons fúngicos de alta prevalência (> 90%) nas amostras de rizosfera independentemente do sistema de cultivo, onde a coloração azul indica a prevalência dos táxons nas amostras e a porcentagem horizontal representa a abundância relativa de cada táxon nas amostras. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (filó), "c" (classe), "o" (ordem), "f" (família), "g" (gênero) e "s" (espécie).

5.3.5. Táxons diferencialmente abundantes considerando os sistemas de cultivos contrastantes

No total foram encontrados 14 táxons bacterianos diferencialmente abundantes em ambos os sistemas de cultivos (Figura 10; Apêndice A). Destes, 8 táxons obtiveram diferenças significativas em abundância, considerando um p-valor $\leq 0,01$ em sistema de cultivo convencional. Dentre eles o filo *Saccharibacteria*, a classe *Flavobacteriia* e a Ordem *Flavobacteriales*. Duas famílias estão em destaque sendo elas *Erythrobacteraceae* e *Flavobacteriaceae* e três gêneros, *Flavobacterium*, *Segetibacter* e em menor abundância *Devosia*.

No cultivo orgânico 6 táxons foram diferencialmente abundantes em relação ao convencional, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$ (Figura 10). Dentre eles, duas famílias *Labilitrichaceae* e *Cryptosporangiaceae* e em menor proporção *Pseudonocardiaceae*. Os três gêneros identificados, *Jatrophihabitans*, *Pelomonas* e *Pseudonocardia* foram os mais abundantes, respectivamente.

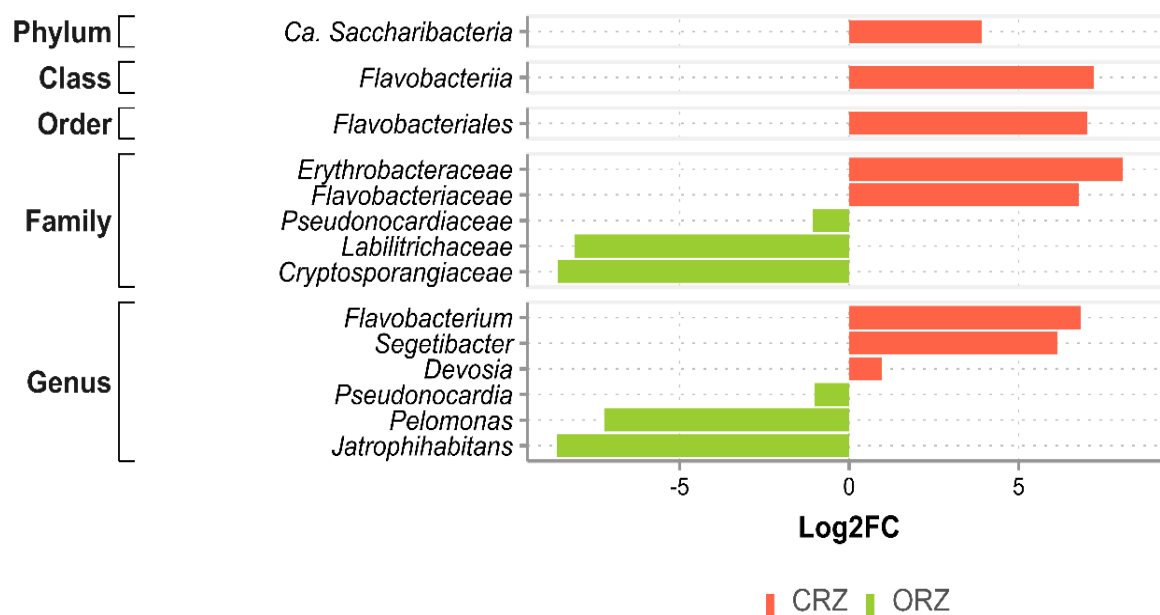


Figura 10: Táxons bacterianos diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo convencional (CRZ) em vermelho e orgânico (ORZ) em verde, presentes na rizosfera de cana-de-açúcar através da constatação estatística pelo teste Wald, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$.

Para fungos foram encontrados 60 táxons diferencialmente abundantes, demonstrando maior expressividade se comparado a taxonomia bacteriana (Figura

11; Apêndice B). Destes, 36 táxons foram diferencialmente abundantes em cultivo convencional e 24 táxons em cultivo orgânico, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$.

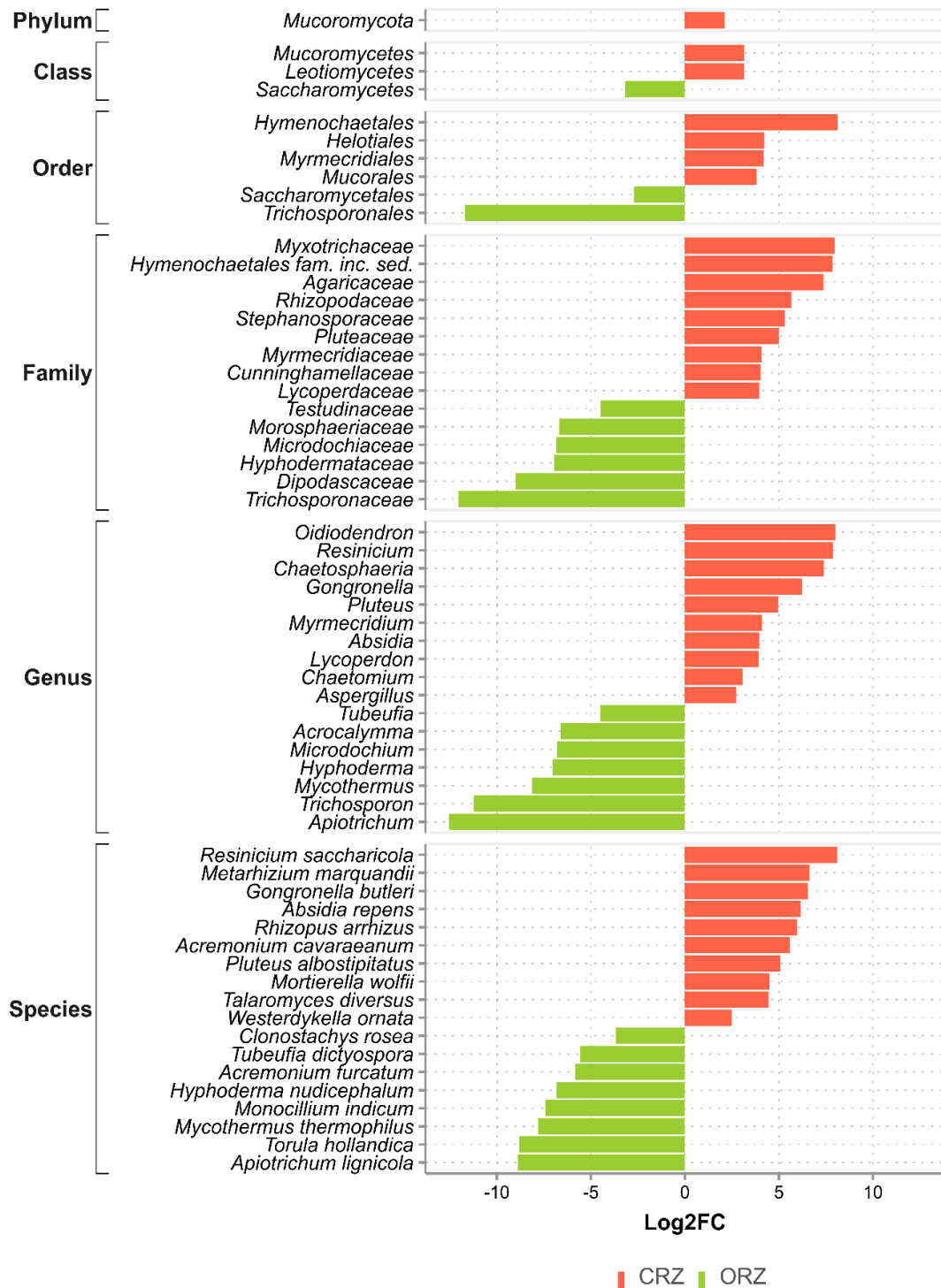


Figura 11: Táxons fúngicos diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo convencional (CRZ) em vermelho e orgânico (ORZ) em verde, presentes na rizosfera de cana-de-açúcar através da constatação estatística pelo teste Wald, considerando-se um p-valor $\leq 0,01$.

5.3.6. Análise de Predição Funcional

Em acréscimo as análises de composição e diversidade, buscou-se investigar as diferenças funcionais, baseadas nas classificações taxonômicas presentes nos microrganismos rizosféricos. No total foram identificadas 324 vias metabólicas em amostras 16S rRNA, dentre as quais 24 vias bacterianas foram diferencialmente abundantes nos dois cultivos avaliados, considerando um p -valor $\leq 0,05$. Destas, 17 foram diferencialmente abundantes em cultivo orgânico e 7 em cultivo convencional (Figura 12).

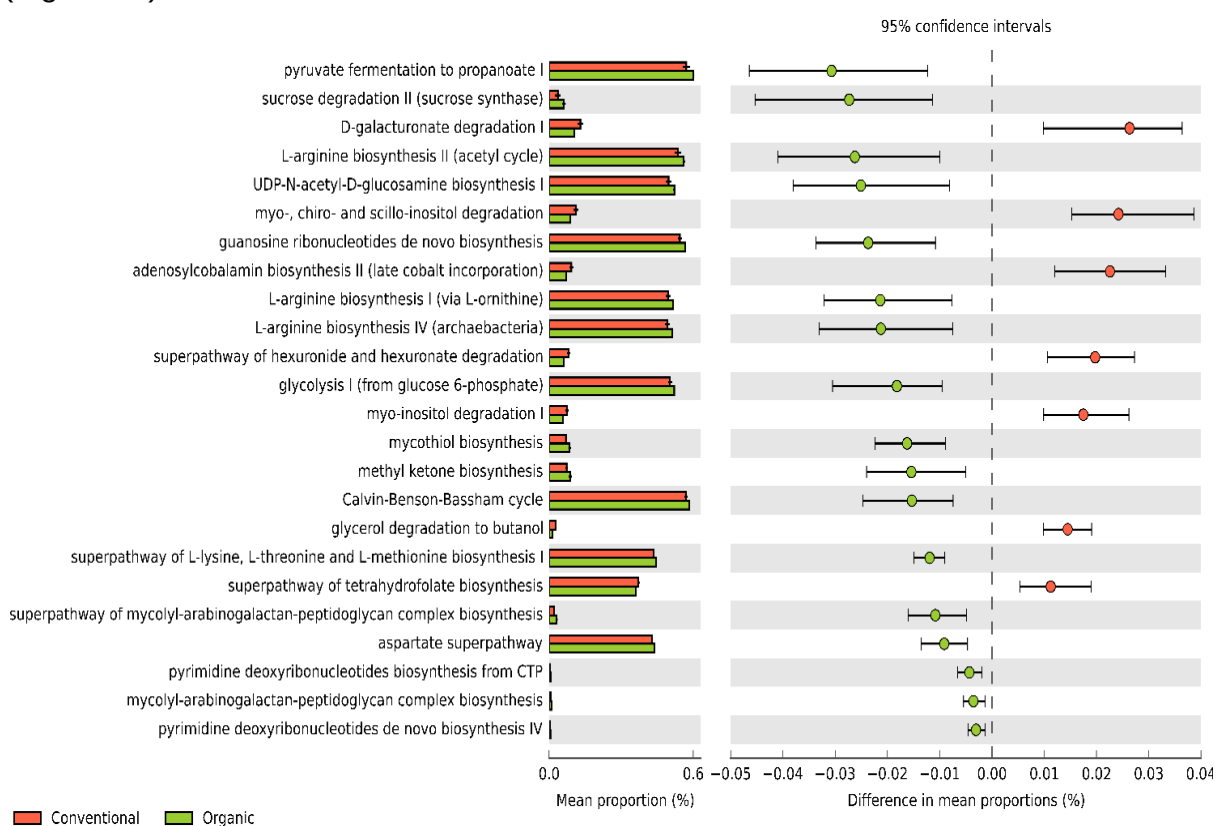


Figura 12: Vias metabólicas de amostras 16S rRNA diferencialmente abundantes na rizosfera de cana-de-açúcar comparadas através do teste White, considerando um p -valor $\leq 0,05$. As vias em vermelho representam a proporção média em cultivo convencional e em verde a proporção média em cultivo orgânico.

Na análise de predição funcional fúngica, foram identificadas 69 vias metabólicas das quais 14 obtiveram maior destaque dentro das amostras analisadas, considerando um p -valor $\leq 0,05$. Destas, 11 obtiveram proporções maiores em cultivo orgânico e 3 em cultivo convencional (Figura 13).

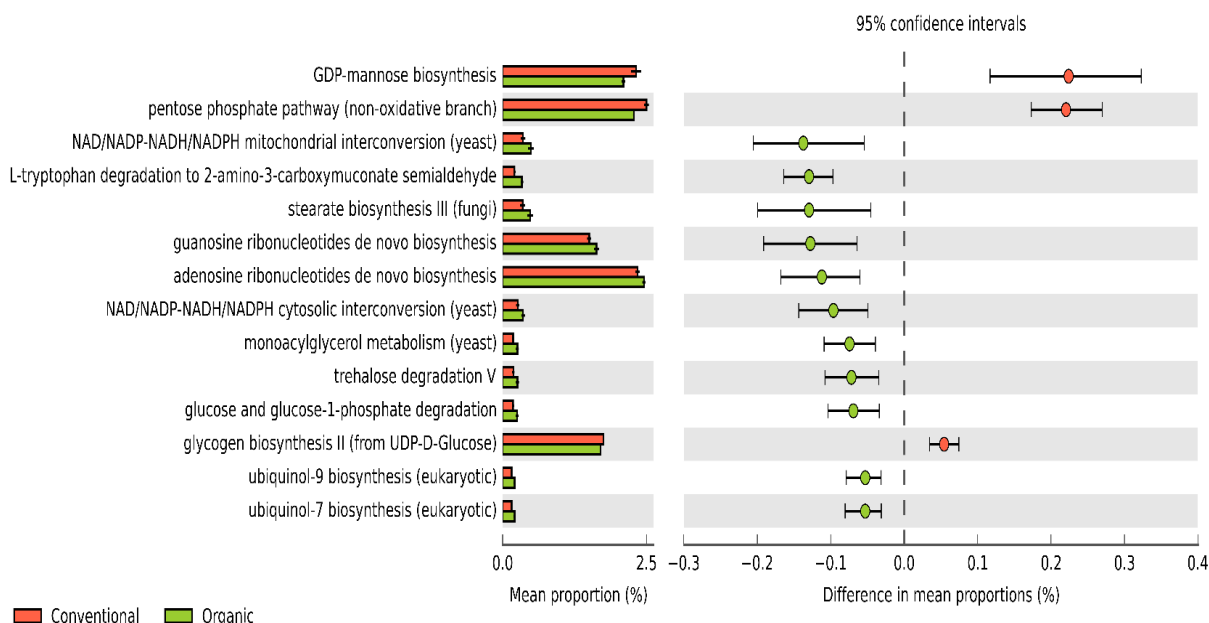


Figura 13: Vias metabólicas de amostras ITS diferencialmente abundantes na rizosfera de cana-de-açúcar comparadas através do teste White, considerando um p-valor $\leq 0,05$. As vias em vermelho representam a proporção média em cultivo convencional e em verde a proporção média em cultivo orgânico.

5.3.7. Estruturação dos Microbiomas

Para investigar a estrutura das comunidades microbianas foram realizadas análises de redes de coocorrência entre os gêneros identificados no conjunto de dados bacterianos e fúngicos. Dentre os gêneros bacterianos identificados, 110 foram considerados para a criação das redes de coocorrência do sistema de cultivo convencional e orgânico (Figura 14). Os gêneros *Nitrosospira*, *Ktedonobacter* e *Kribbella* são indicadores de serem táxons chaves (Figura 14; Apêndice C). Já o gênero *Burkholderia* destaca-se pela maior conectividade com outros gêneros bacterianos, totalizando 25 correlações (Figura 14; Apêndice D).

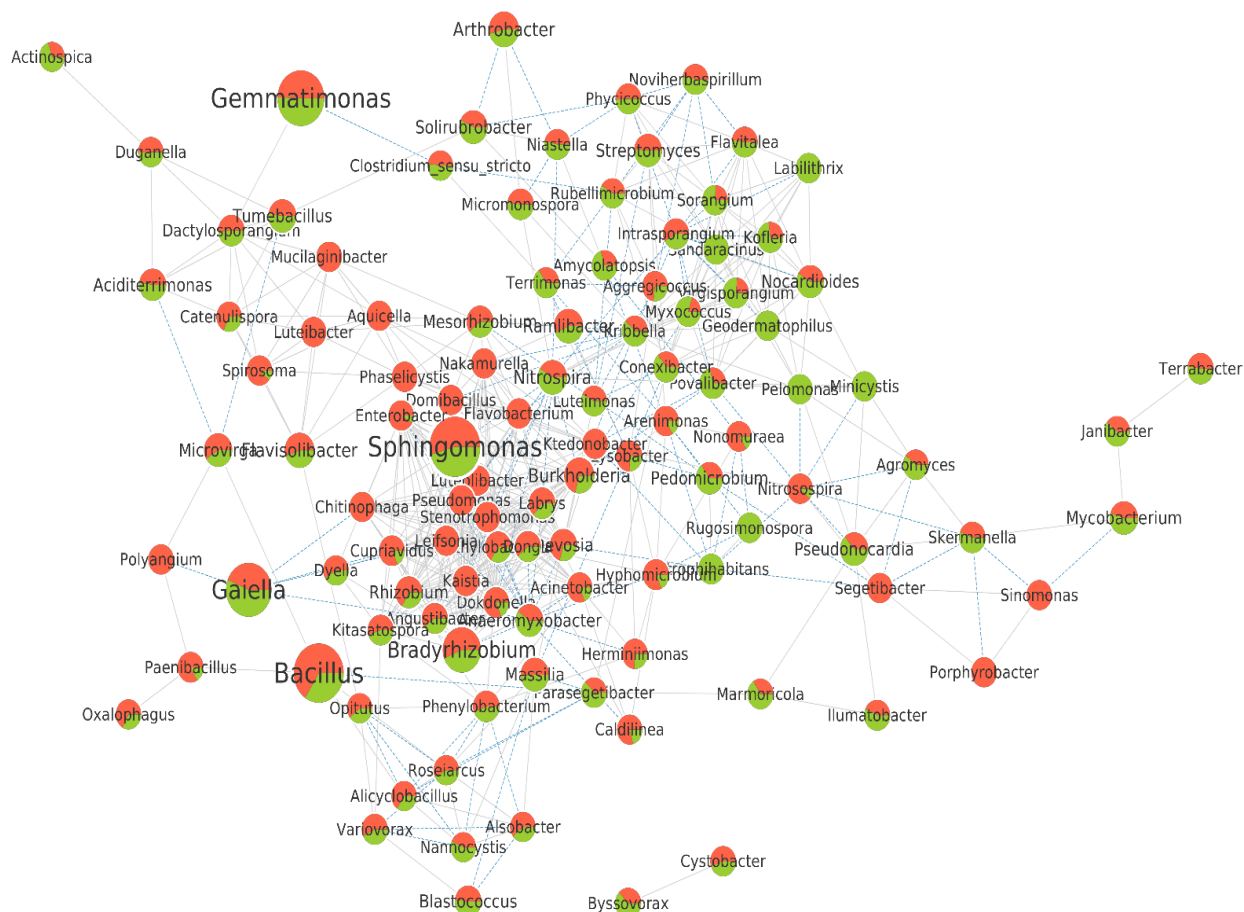


Figura 14: Redes de coocorrência dos gêneros bacterianos presentes em sistemas de cultivo convencional e orgânico. Os círculos são proporcionais as somatórias de abundância relativa de cada gênero. A coloração indica a abundância relativa em cultivo convencional (vermelho) e orgânico (verde). Linhas cinzas são indicativas de conexões com correlação positiva entre os gêneros, enquanto as azuis, conexões com correlação negativa. As medidas de centralidade dos tratamentos foram comparadas estatisticamente utilizando os parâmetros de correlação mínima = $\pm 0,5$ e p-valor = 0,05.

Em relação a rede fúngica 188 táxons foram considerados para a rede de coocorrência, sendo *Fusarium* o gênero mais abundante presente nos sistemas de cultivos (Figura 15). Os gêneros *Rhizopus*, *Scopulariopsis* e *Podospira* destacam-se sugestivamente como táxons chave na rede (Figura 15; Apêndice E). O gênero *Ascoibolus* destaca-se através de suas 27 correlações com outros gêneros fúngicos, (Figura 15; Apêndice F).

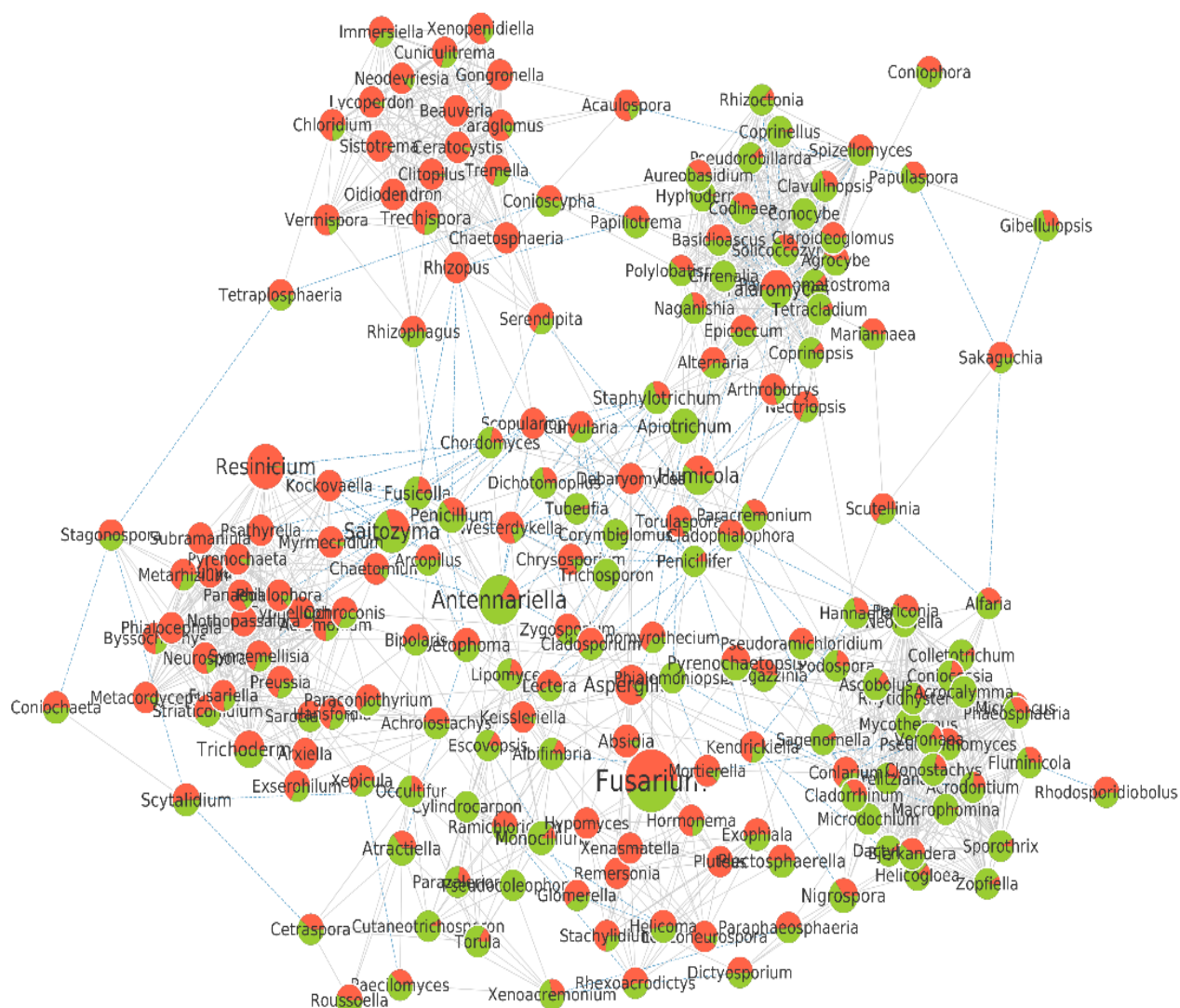


Figura 15: Redes de coocorrência dos gêneros fúngicos presentes em sistemas de cultivo convencional e orgânico. Os círculos são proporcionais as somatórias de abundância relativa de cada gênero. A coloração indica a abundância relativa em cultivo convencional (vermelho) e orgânico (verde). Linhas cinzas são indicativas de conexões com correlação positiva entre os gêneros, enquanto as azuis, conexões com correlação negativa. As medidas de centralidade dos tratamentos foram comparadas estatisticamente, utilizando os parâmetros de correlação mínima = $\pm 0,5$ e p-valor = 0,05

6. DISCUSSÃO

O principal objetivo desse estudo foi a realização de uma análise comparativa e investigativa de comunidades microbianas presentes em dois ambientes rizosféricos de cana-de-açúcar, orgânico e convencional, sob a perspectiva de se entender a dinâmica ecológica em termos de composição e diversidade de espécies. As amostras

de solos rizosféricos dos dois tipos de cultivos se diferenciam entre si pelas práticas utilizadas, através da adição de suplementos nutricionais e o controle de patógenos, porém apresentam grande proximidade entre os locais amostrados. Os pontos de coletas dos talhões das fazendas São José e São Sebastião se separam entre si por uma distância mínima de aproximadamente 230 metros, o que resulta em poucas variações nas análises físico-químicas presentes nas amostras (Tabela 4). Parte dessas diferenças encontradas se referem à parâmetros de acidez do solo (pH, potencial de acidez, soma e saturação de bases). No entanto, tais diferenças não foram suficientes para alterarem a composição (Figuras 3 e 4) e a diversidade microbiana (Figura 5) entre os sistemas, apesar do pH do solo ter uma forte correlação com a diversidade e composição geral da comunidade microbiana e ser um fator direto de influência na abundância relativa de grupos taxonômicos individuais (Shen et al., 2013; Yun et al., 2016; Wu et al., 2017). A pequena variação em acidez no solo convencional foi possivelmente causada pela aplicação de insumos agroquímicos e uso intensivo de adubação nitrogenada (Li et al., 2012). No entanto, no cultivo orgânico, a decomposição da matéria orgânica pode ter contribuído para o aumento nos valores de acidez, levando a maior similaridade de pH entre os cultivos, através da produção de ácidos orgânicos e pela presença de nitrogênio em formas reduzidas que levam a processos de oxidação e mineralização e consequentemente produção de H^+ e acidez (Fageria e Nascente, 2014; Francioli et al., 2016). Nota-se assim, que os parâmetros físicos e químicos dos solos referentes a acidez não foram determinantes, ao menos de forma isolada, não sendo correlacionados com variações entre os sistemas.

Os índices de diversidade alfa em bactérias e fungos não apresentaram diferenças significativas entre os sistemas de cultivos (considerando-se um p-valor $\leq 0,1$), exceto no caso da diversidade fúngica fornecida pelo índice de Gini-Simpson, que se mostrou maior em cultivo convencional (Figura 5). Para a beta diversidade, a análise de variância permutacional multivariada (PERMANOVA), demonstrou que há diferenças significativas composicionais (considerando-se um p-valor $\leq 0,1$) quando se avalia apenas o tratamento (convencional ou orgânico) como fator descritivo da heterogeneidade entre ambos os cultivos (Figuras 6 e 7). O efeito positivo da

agricultura orgânica é frequentemente relatado, demonstrando que a composição bacteriana e fúngica apresenta maior riqueza, diversidade e heterogeneidade (Wang et al., 2016; Francioli et al., 2016; Lupatini et al., 2017). Os resultados encontrados demonstram que os efeitos advindos dos sistemas de cultivos podem ocorrer em táxons microbianos específicos não determinados pela diversidade total da comunidade, onde variações em certos grupos de microrganismos podem ser compensadas por variações em outros grupos, não evidenciando diferenças em diversidade (Bill et al., 2021). A alta diversidade fúngica em cultivo convencional sugere o potencial de uma planta em selecionar no ambiente rizosférico comunidades fúngicas através da composição de seus exsudatos radiculares (Semenov et al., 2022). As coletas de material rizosférico em cada cultivo foram realizadas no final do período de crescimento vegetativo (11 meses) e início da maturação do canavial, podendo inferir que diferentes estágios de crescimento da planta podem determinar sua composição, quantidade de rizodepósitos presentes e o seu microbioma associado (Wang et al., 2020; Semenov et al., 2022). Ao longo do crescimento da planta, inúmeros processos de sucessões ecológicas podem ocorrer, ocasionando novos habitats e aumento de amplitude de nichos (Gdanetz e Trail, 2017).

Mudanças ambientais podem ocorrer não só por ações antropogênicas, incluindo o tipo de manejo empregado, mais pelos próprios microrganismos presentes em um ambiente, que influenciam diretamente a sobrevivência e o crescimento da sua própria espécie e a de outras. Assim, as interações são definidas por como cada metabolismo microbiano altera o ambiente e reage a essas mudanças, podendo levar a crescimentos sucessivos, mortes celulares e estabilizações em populações de microrganismos, acarretando em modificações na dinâmica ecológica (Ratzke e Gore, 2018).

A diversidade estrutural e funcional dos microrganismos da rizosfera em sistemas agrícolas ou naturais podem ser alterados pelo cultivar, tipo de solo, fatores ambientais e fenologia, assim como pelas complexas interações entre o genótipo da planta e a fertilização (Aira et al., 2010; Paungfoo-Lonhienne et al., 2015).

Conforme visto por De Souza et al. (2016) microrganismos centrais da cana-de-açúcar independente da fertilização empregada podem trazer benefícios e

vitalidade vegetal (Figuras 8 e 9). Nossos resultados evidenciaram no microbioma essencial rizosférico, a alta prevalência de microrganismos conhecidos como promotores de crescimento de plantas, inibidores de fitopatógenos e participativos no processo de ciclagem de nutrientes no solo (Leys et al., 2004; Yin et al., 2013; Stewart e Hill, 2014; Shen et al., 2014; Banerjee et al., 2016; Avontuur et al., 2019; Asaf et al., 2020; Lazcano et al., 2021). Dentre os táxons microbianos compartilhados entre os cultivos orgânico e convencional destacam-se *Sphingomonas*, *Gemmatimonas*, *Gaiella*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium* e *Trichoderma*. O mesmo é visto para *Antennariella placitae* e *Saitozyma podzolica*, espécies fúngicas pouco relatadas e que já demonstram mecanismos potenciais de controle biológico em outras culturas como plantas de arroz e maçãs (Andargie et al., 2017; Orrù et al., 2021).

A estruturação das comunidades microbianas mesmo em ambientes com semelhanças climáticas e tipo de solo como no presente trabalho, podem variar com o tipo de prática agrícola empregada, selecionando microrganismos específicos (Van der Heijden e Hartmann, 2016). Em cultivo convencional foram encontradas bactérias diferencialmente abundantes (Figura 10) como o gênero *Flavobacterium*, que realiza desnitrificação heterotrófica (Wang et al., 2016) e degradação de diversos pesticidas através de inúmeras maneiras (Ortiz-Hernández et al., 2003; Silva et al., 2007; Upadhyay e Dutt, 2017), fazendo uso em seu crescimento e desenvolvimento como fonte química de energia (Nayariseri et al., 2015). O gênero *Devosia* é frequentemente encontrado em ambientes contaminados com pesticidas de hidrocarbonetos e hexaclorociclohexano (HCH), muito utilizados na agricultura como um agente de biodetoxificação (Hassan et al., 2014; Talwar et al., 2020). Assim como, realiza a biodegradação em ambientes ricos em micotoxinas, sendo muito encontrados em plantações contaminadas por *Fusarium* (Wang et al., 2019) gênero encontrado em alta abundância no presente trabalho. Um agroquímico pode favorecer a multiplicação e a dominância de populações microbianas específicas com genes responsáveis pela degradação e eliminação de um composto. Dentre as estratégias utilizadas, diminuem ou eliminam o agrotóxico do ambiente em uma reação catabólica, utilizando-o como fonte de nutrientes e de energia, através da adsorção e quebra do

substrato, levando ao aumento da biomassa microbiana (Melo, 2001; Moreira e Siqueira, 2006; Demichelli, 2016).

A abundância aumentada de táxons bacterianos específicos possivelmente ocasionada pela fertilização orgânica de longo prazo demonstra ligação direta com os nutrientes do solo (Li et al., 2017) conforme visto em cultivo orgânico (Figura 10). Nele, os gêneros bacterianos diferencialmente abundantes (*Pseudonocardia*, *Pelomonas* e *Jatrophihabitans*) são taxonomicamente classificados em *Actinobacteria* (*Pseudonocardia* e *Jatrophihabitans*) e *Betaproteobacteria* (*Pelomonas*), que ecologicamente possuem uma estratégia de vida copiotrófica, com rápido crescimento em solos com grande disponibilidade nutricional (Li et al., 2012; Ho et al., 2017). Foi relatado que comunidades microbianas associadas a práticas de manejo orgânico são importantes fontes de matéria orgânica ativa, levando ao desenvolvimento de microrganismos copiotróficos pela alta concentração de nutrientes, maior disponibilidade e aproveitamento de nitrogênio e carbono orgânico (Lupatini et al., 2017; Semenov et al., 2019; Wang et al., 2021). As quantidades adicionais de carbono podem ser amplamente fornecidas pelos fertilizantes orgânicos (Aira et al., 2010). Complementarmente, solos orgânicos são grandes fontes de carbono recalcitrante (Fliessbach et al., 2007), o que explica a presença significativa de *Actinobacteria* nesse cultivo, filo conhecido pela sua importância no ciclo global de carbono e na decomposição desse elemento (Lewin et al., 2016; Karanja et al., 2020). Com isso, confirma-se que as classificações em altos níveis taxonômicos (filos) podem responder de forma previsível a variáveis ambientais, acarretando em alta coerência ecológica (Li et al., 2017). A coerência ecológica demonstra que a abundância de certos filos bacterianos pode se alterar direcionalmente ao tipo de fertilização de longo prazo empregada (Li et al., 2017).

Nos táxons fúngicos diferencialmente abundantes em cultivo orgânico (Figura 11), sete dentre as oito espécies encontradas pertencem ao filo *Ascomycota* (*Torula hollandica*, *Mycothermus thermophilus*, *Monocillium indicum*, *Hypoderma nudicephalum*, *Acremonium furcatum*, *Tubeufia dictyospora*, *Clonostachys rosea*) predominantemente saprotrófico (Paungfoo-Lonhienne et al., 2015), o que confirma a

grande abundância desse filo nesse ambiente e seu papel na decomposição de substratos orgânicos (Francioli et al., 2016). Todavia contrariamente ao relatado por Lupatini et al. (2017), esses resultados demonstram maior similaridade taxonômica e funcional na comunidade microbiana em cultivo orgânico, indicando homogeneização biótica.

O cultivo convencional (Figura 11) demonstra-se mais heterogêneo com resultados aparentes mesmo em nível de filo, com espécies fúngicas classificadas taxonomicamente em *Ascomycota* (*Metarhizium marquandii*, *Acremonium cavaeaeum*, *Talaromyces diversus* e *Westerdykella ornata*), *Basidiomycota* (*Resinicium saccharicola* e *Pluteus albobipitatus*) e *Mucoromycota/Zygomycota* (*Gongronella butleri*, *Absidia repens*, *Rhizopus arhizus* e *Mortierella wolfii*). Conforme visto por Paungfoo-Lonhienne et al (2015), o uso de fertilizante NPK tem sido associado a presença e aumento de biomassa de fungos em rizosfera de cana-de-açúcar, podendo levar a modificações na composição das comunidades fúngicas. Assim, a fertilização nitrogenada pode ter ocasionado um leve efeito na diversidade de fungos na rizosfera em sistema convencional (Semenov et al., 2022), levando ao aumento na taxa de crescimento fúngico (Aira et al., 2010).

A aplicação por longos prazos de fertilizantes minerais fornecem grandes quantidades de nutrientes ao solo. Estes nutrientes introduzidos podem aumentar a exsudação e alterarem a comunidade de fungos presentes (Semenov et al., 2022). Isso porque a fertilização influencia diretamente o estado fisiológico da planta e favorece a liberação desses exsudatos (Aira et al., 2010).

O uso de nitrogênio inorgânico pode reduzir a dependência de comunidades da rizosfera na utilização do carbono derivado das plantas e ativar muitas espécies de fungos dormentes (Semenov et al., 2022). Isso se aplica ao fato da maioria dos fungos serem heterótrofos e com alta dependência de carbono exógeno para seu crescimento (Ma et al., 2018). A liberação de exsudatos da raiz pode diminuir gradativamente ou cessar, conforme a planta amadurece e atinge a senescência e os microrganismos passam a obter seus nutrientes do solo (Aira et al., 2010).

Todavia, os efeitos dos sistemas de fertilização sobre as comunidades fúngicas do solo ainda não é totalmente compreendido, sendo possível encontrar resultados diversos (Wang et al., 2018). As variações em abundâncias relativas populacionais

em resposta às doses de nitrogênio abrangem uma série de táxons fúngicos, podendo incluir gêneros que influenciam diretamente a saúde das plantas (Paungfoo-Lonhienne et al., 2015).

O microbioma associado a rizosfera da cana de açúcar orgânica e convencional foi analisado através de uma análise de enriquecimento de vias metabólicas (Figuras 12 e 13). As vias enriquecidas encontradas nos manejos possuem somente relação com processos estruturais e biológicos dos microbiomas, não demonstrando associação direta ao tipo de cultivo empregado. Nas vias metabólicas bacterianas, identifica-se como enriquecidas para o sistema de cultivo orgânico, principalmente vias do metabolismo de aminoácidos, destacando vias de biossíntese de arginina. Este aminoácido é responsável pelo transporte e armazenamento de nitrogênio orgânico (Winter et al., 2015), sendo essencial para a ciclagem de nitrogênio nas plantas (Slocum, 2005).

Confirme visto por Schmidt et al. (2019) o tipo de manejo empregado pode determinar a presença de táxons na rede e suas interações, levando a importantes inferências ecológicas e agrícolas. As análises de redes de coocorrência (Figuras 14 e 15) demonstram padrões diferentes em estrutura e composição quando se analisa a presença de gêneros bacterianos e fúngicos em cada sistema de cultivo, observando diferentes identidades, abundâncias relativas e as correlações ocasionadas.

Sugestivamente o tipo de cultivo empregado e as sútis variações advindas através das diferenças composicionais (diversidade beta) (Figuras 6 e 7) e a constatação de microrganismos diferencialmente abundantes (Figuras 10 e 11), podem influenciar a presença e abundância de determinados táxons em cada sistema de cultivo e levar a modificações em toda a comunidade microbiana. Essas redes consistem em interações parasitárias, amensalistas, comensalistas, sinérgicas ou mutualísticas que influem em cada um de seus constituintes e que podem gerar efeitos na saúde das plantas e na fertilidade do solo (Van der Heijden e Hartmann, 2016). Através da análise de redes de coocorrência é possível quantificar e conceituar a importância das espécies, ou classificá-las como táxons-chaves, que são

componentes essenciais nas teias ecológicas. Essa importância é dada a uma espécie medindo sua centralidade, pois um nó central pode ter influência sobre outros na rede e ter efeitos diretos nas intermediações que está envolvido (Lai et al., 2012). Pontuar através da centralidade de intermediação distingue módulos que se destacam e são de extrema importância para a conectividade de uma rede ecológica, sendo usualmente tida como forma de identificação de espécies-chaves (Li et al., 2017). A centralidade de intermediação, embora seja uma métrica usualmente descrita como uma possível indicação de táxons chaves, é validada apenas através de validação experimental (Schmidt et al., 2019).

Nossos resultados sugerem através de altos valores de centralidade de intermediação, a presença de táxons chaves interconectados na rede que são altamente importantes para a formação da comunidade microbiana, controlando ou favorecendo a colonização de outros microrganismos, demonstrando que estes cultivos possuem grupos que variam consideravelmente e influem em toda a rede (Agler et al., 2016). Os táxons ou espécies-chaves, independente de sua abundância exercem um efeito grande no ecossistema e impulsionam a composição e função da comunidade (Berry e Widder, 2014; Banerjee et al., 2018). A maior centralidade de intermediação na rede bacteriana foi representada pelo gênero *Nitrosospira*, reconhecido como oxidantes de amônia (AOB), presente em alta abundância em cultivo convencional (Lin et al., 2018). Foi relatado a grande abundância de *Nitrosospira* em solos que recebem fertilização nitrogenada, podendo levar ao aumento significativo no processo de nitrificação do solo em comparação ao tratamento orgânico (CHU et al., 2007). Essa função metabólica especializada presente em *Nitrosospira* pode ser primordial para a estabilidade do microbioma do solo (XUN et al., 2021). Na rede fúngica, *Rhizopus* (*Mucoromycota*) presente exclusivamente em cultivo convencional foi considerado táxon chave, com o maior valor de centralidade de intermediação. Esse gênero pode ter tido sua abundância favorecida em sistema convencional pela fertilização nitrogenada utilizada, que sugestivamente levou ao aumento na diversidade fúngica nesse sistema. A maior diversidade pode ter sido impulsionada pelo alto incremento nutricional e pela exsudação rizosférica estimulada pela fertilização inorgânica nitrogenada empregada (Aira et al., 2010; Paungfoo-Lonhienne et al., 2015; Semenov et al., 2022).

7. CONCLUSÕES

Através desse estudo fomos capazes de identificar pequenas variações no microbioma rizosférico de plantas de cana-de-açúcar advindos da comparação dos sistemas de cultivos orgânico e convencional.

As práticas de manejos não evidenciaram variações nos parâmetros físico-químicos do solo, não demonstrando relação direta com a composição e diversidade microbiana nos cultivos em comunidades bacterianas e fúngicas.

Os resultados demonstram que há diferenças composicionais entre os sistemas de cultivos (diversidade beta) quando ambos são comparados. Porém, tais diferenças não foram suficientes para alterarem significativamente índices locais de diversidade (diversidade alfa) e de composição taxonômica entre os cultivos.

O microbioma essencial, ou seja, microrganismos presentes na rizosfera de cana-de-açúcar que independe do tipo de manejo empregado, evidencia a presença de táxons conhecidos como promotores de crescimento de plantas. Inúmeros gêneros microbianos essenciais apresentam traços que trazem benefícios vegetal e ação antagônica contra patógenos.

Os diferentes sistemas de manejos sugestivamente podem ter influenciado a presença de táxons diferencialmente abundantes, que demonstram mecanismos ecológicos e funcionais associados ao tipo de cultivo, como a relação adaptativa a agroquímicos e modo estratégico de vida, indícios que podem estar associados diretamente ao tipo de manejo empregado e que levam a alterações nas relações ecológicas, estruturais e composicionais.

As análises de predições funcionais não manifestaram diferenças correlacionadas aos tipos de manejos empregados, uma vez que, as vias metabólicas enriquecidas possuem relação somente com processos estruturais e biológicos dos microbiomas e obtiveram médias proporcionais semelhantes entre ambos os cultivos.

A estrutura e abundância relativa de gêneros bacterianos e fúngicos nos microbiomas através das redes de coocorrência demonstram diferentes padrões composicionais entre os diferentes cultivos. Assim como, os táxons considerados chaves, através de altos valores de centralidade de intermediação, demonstram suposta associação direta com os tipos de cultivos utilizados. Consequentemente, os

diferentes gêneros e suas abundâncias (táxons chaves e os diferencialmente abundantes em cada sistema de cultivo) estabelecem correlações positivas e negativas que afetam diretamente a dinâmica da rede ecológica do sistema de cultivo orgânico e convencional, influenciando assim, nas interações e na estrutura do microbioma associado a cada prática de manejo.

A rizosfera, ambiente de interface da planta com o solo envolve diferentes tipos de interações entre os microrganismos, através de seus exsudatos radiculares que podem moldar a estrutura e grande parte da composição e atividades das comunidades microbianas. Em especial, no caso dos fungos, podemos observar claramente diferenças em sua estruturação devido às alterações na abundância de certos gêneros e aumento de diversidade ocasionados pelo sistema de cultivo convencional, que conseqüentemente levam a alterações nas relações ecológicas.

No experimento considerado é possível notar que os sistemas contrastantes possuem traços composicionais próprios em determinados aspectos, supostamente ocasionados pelo sistema de fertilização utilizado. Porém, tais diferenças não são capazes de alterar significativamente parâmetros gerais de composição e diversidade quando ambos os sistemas são comparados. Com isso, podemos presumir que as práticas agrícolas podem modular e causar variações pontuais na microbiota da rizosfera, mas não o suficiente para ocasionar grande heterogeneidade nas práticas contrastantes.

A grande diversificação de fatores que envolvem e alteram a composição e a estrutura de comunidades, além do tipo de prática agrícola, leva a necessidade de análises mais profundas. Assim, os tipos de regimes empregados e seus efeitos na comunidade microbiana devem ser analisados de forma mais abrangente, através de abordagens moleculares e identificando com mais exatidão a proporção destas variações pontuais. Isso significa que não podemos descartar a possibilidade de haver diferenças mais expressivas considerando outras condições, por exemplo, outras plantas, solos, climas, manejos, coletas, preparos, produtos utilizados, rotação de cultura, número de colheitas consecutivas (cortes), em especial o tempo de conversão para o sistema orgânico. Muitos estudos comparativos encontram problemas metodológicos, limitando sua capacidade de tirar conclusões quantitativas. Dessa

forma, mais pesquisas são necessárias para investigar o impacto de cada um desses fatores considerando sistemas agrícolas de longo prazo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGLER, M. T. et al. Microbial Hub Taxa Link Host and Abiotic Factors to Plant Microbiome Variation. **PLOS Biology**, v. 14, n. 1, p. e1002352, 2016.

AIRA, M. et al. Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 12, p. 2276–2281, 1 dez. 2010.

ALBERDI, A. et al. Scrutinizing key steps for reliable metabarcoding of environmental samples. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 134–147, 2018.

ALVES, L. DE F. et al. Metagenomic Approaches for Understanding New Concepts in Microbial Science. **International Journal of Genomics**, v. 2018, p. e2312987, 23 ago. 2018.

AMARAL, A. L.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, G. V. S. **Denominação de cultivares de cana-de-açúcar como suporte à documentação e utilização do germoplasma conservado**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos 196, p. 1-31, 2015.

ANDARGIE, M. et al. Identification and evaluation of potential bio-control fungal endophytes against *Ustilagoidea virens* on rice plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 120, 2017.

ASAF, S. et al. Sphingomonas: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 2, p. 138–152, 2020.

AVONTUUR, J. R. et al. Genome-informed *Bradyrhizobium* taxonomy: where to from here? **Systematic and Applied Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 427–439, 2019.

BAKKER, P.A., BERENDSEN, R. L., DOORNBOS, R.F., WINTERMANS, P.C., PIETERSE, C.M. The rhizosphere revisited: root microbiomics. **Frontiers in plant science**, 4, 165, 2013.

BANERJEE, S. et al. Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 97, p. 188–198, 2016.

BANERJEE, S.; SCHLAEPPI, K.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 9, p. 567–576, set. 2018.

BARBOSA, L. A. **Impacto de Sistema de Cultivo Orgânico e Convencional na cana de açúcar nos atributos do solo**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília, 80 p., Dissertação de Mestrado, 2010.

BENDER, S. F.; WAGG, C.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 31, n. 6, p. 440–452, 1 jun. 2016.

BERENDSEN, R.L., PIETERSE, C.M., BAKKER, P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in plant science**, 17(8), 478-486, 2012.

BERG, G. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, n. 1, p. 103, 30 jun. 2020.

BERRY, D.; WIDDER, S. Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014.

BILL, M. et al. Bacterial community dynamics and functional profiling of soils from conventional and organic cropping systems. **Applied Soil Ecology**, v. 157, p. 103734, 2021.

BOGINO, P. et al. Water-limiting conditions alter the structure and biofilm-forming ability of bacterial multispecies communities in the alfalfa rhizosphere. **PloS One**, v. 8, n. 11, p. e79614, 2013.

BONASSA, G. et al. Subprodutos Gerados na Produção de Bioetanol: Bagaço, Torta de Filtro, água de Lavagem e Palhagem. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 4, 25 nov. 2015.

BORDONAL, R. DE O. et al. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, n. 2, p. 13, 27 fev. 2018.

BOSQUEIRO, A. S.; BIZARRIA JÚNIOR, R.; ROSA-MAGRI, M. M. Potential of *Trichosporon asahii* Against *Alternaria* sp. and mechanisms of actions. **Summa Phytopathologica**, v. 46, p. 20–25, 2020.

BRASIL. DECRETO nº 6323 de 27 de dezembro de 2007, regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências, Brasília, DF, 2007.

BRASIL. LEI ORDINÁRIA n.º 10.831, de 23 de dezembro de 2003, dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial da União, 24/12/2003, Brasília, DF, 2003.

BRINK, S. C. Unlocking the Secrets of the Rhizosphere. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 169–170, 1 mar. 2016.

BUSBY, P. E., SOMAN, C., WAGNER, M. R., FRIESEN, M. L., KREMER, J., BENNETT, A., et al. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. **PLOS Biol.** 15:e2001793, 2017.

CALLAHAN, B. J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, n. 7, p. 581–583, jul. 2016.

CASPI, R. MetaCyc: a multiorganism database of metabolic pathways and enzymes. **Nucleic Acids Research**, v. 34, n. 90001, p. D511–D516, 2006.

CHAGAS, F. DAS et al. Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). **Ciência e Natura**, v. 38, n. 2, p. 637–647, 2016.

CHAPELLE, E., MENDES, R., BAKKER, PAHM, RAAIJMAKERS, J.M. Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. **ISME J** 10: 265–268, 2016.

CHIALVA, M.; LANFRANCO, L.; BONFANTE, P. The plant microbiota: composition, functions, and engineering. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 73, p. 135–142, 1 fev. 2022.

CHO, S.-J.; KIM, M.-H.; LEE, Y.-O. Effect of pH on soil bacterial diversity. **Journal of Ecology and Environment**, v. 40, n. 1, p. 10, 24 out. 2016.

CHU, H. et al. Community Structure of Ammonia-Oxidizing Bacteria under Long-Term Application of Mineral Fertilizer and Organic Manure in a Sandy Loam Soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 2, p. 485–491, 15 jan. 2007.

COISSAC, E.; RIAZ, T.; PUILLANDRE, N. Bioinformatic challenges for DNA metabarcoding of plants and animals. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1834–1847, 2012.

COLE, J. R. et al. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. Database issue, p. D633–D642, 2014.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control. **Official Journal of the European Communities**, v. 51, n. 250, p. 1–84, 18 set. 2008.

COSTA, D. P. DA. **Descrição da comunidade microbiana associada à rizosfera de cana-de-açúcar**. Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas—Piracicaba: Universidade de São Paulo, 24 jan. 2013.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council Regulation (EC) No 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing Regulation (EEC) No 2092/91. **Official Journal of the European Communities**, L. v. 50, n. 189, p. 1–23, 20 jul. 2007.

CREER, S. et al. The Ecologist's Field Guide to Sequence-Based Identification of Biodiversity. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 9, p. 1008–1018, set. 2016.

DAKORA, F. D.; MATIRU, V. N.; KANU, A. S. Rhizosphere ecology of lumichrome and riboflavin, two bacterial signal molecules eliciting developmental changes in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 700, 2015.

DALY, A. J.; BAETENS, J. M.; DE BAETS, B. Ecological Diversity: Measuring the Unmeasurable. **Mathematics**, v. 6, n. 7, p. 119, 2018.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D. J. (Ed.). Sugarcane improvement through breeding. Amsterdam: **Elsevier**, 1987.

DANTAS, P. C. et al. Preferências da população da Região Metropolitana da Grande Aracaju (SE), sobre o consumo de produtos apícolas. **Scientia Plena**, v. 5, n. 12, 2009.

DE SOUZA, R. S. C. et al. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. **Scientific Reports**, v. 6, p. 28774, 2016.

DEANGELIS, K. M. et al. Selective progressive response of soil microbial community to wild oat roots. **The ISME Journal**, v. 3, n. 2, p. 168–178, fev. 2009.

DEMICHELLI, F. N. **Isolamento, Seleção e Avaliação do Potencial de Biodegradação de Glifosato (N-(Fosfonometil) Glicina) por microrganismos isolados de solo de lavoura, em Laranjeiras do Sul- PR**. Universidade Federal da Fronteira do Sul, Campus Laranjeiras do Sul. Programa de Pós Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável. Dissertação de Mestrado, 91 p., 2016.

DESSAUX, Y.; GRANDCLÉMENT, C.; FAURE, D. Engineering the Rhizosphere. **Trends in Plant Science**, v.21, n. 3, p. 266-278, 2016.

DEVI, R. et al. Beneficial fungal communities from different habitats and their roles in plant growth promotion and soil health. **Microbial Biosystems**, v. 5, p. 21–47, 2020.

DHARIWAL, Achal et al. MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W180–W188, 2017.

DONAGEMA, G. K. et al. **Manual de métodos de análise de solo**. 2ª ed. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa (INFOTECA-E), 2009.

DOUGLAS, Gavin M. et al. PICRUST2: An improved and extensible approach for metagenome inference, **Bioinformatics**, preprint, 2019.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, p. 2460–2461, 2010.

EL-MARAGHY, S. S.; TOHAMY, T. A.; HUSSEIN, K. A. Expression of SidD gene and physiological characterization of the rhizosphere plant growth-promoting yeasts. **Heliyon**, v. 6, n. 7, p. e04384, 2020.

FADROSH, D. W. et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. **Microbiome**, v. 2, p. 6, 2014.

FAGERIA, N. K.; NASCENTE, A. S. Chapter Six - Management of Soil Acidity of South American Soils for Sustainable Crop Production. Em: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. Academic Press, v. 128p. 221–275, 2014.

FIGUEIREDO, E.A.P. de. Pecuária e agroecologia no Brasil. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**. Brasília, v. 19, n. 2, p. 235-265, 2002.

FLIESSBACH, A. et al. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 118, n. 1, p. 273–284, 2007.

FOSTER, Z. S. L.; SHARPTON, T. J.; GRÜNWALD, N. J. Metacoder: An R package for visualization and manipulation of community taxonomic diversity data. **PLOS Computational Biology**, v. 13, n. 2, p. e1005404, 21 fev. 2017.

FRANCIOLI, D. et al. DNA Metabarcoding for the Characterization of Terrestrial Microbiota-Pitfalls and Solutions. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 361, fev. 2021.

FRANCIOLI, D. et al. Mineral vs. Organic Amendments: Microbial Community Structure, Activity and Abundance of Agriculturally Relevant Microbes Are Driven by Long-Term Fertilization Strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1446, 2016.

GAO, X. et al. Rhizosphere Bacterial Community Characteristics over Different Years of Sugarcane Ratooning in Consecutive Monoculture. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 4943150, 2019.

GARRIDO-OTER, R. et al. Modular Traits of the *Rhizobiales* Root Microbiota and Their Evolutionary Relationship with Symbiotic Rhizobia. **Cell Host & Microbe**, v. 24, n. 1, p. 155- 167.e5, 2018.

GDANETZ, K.; TRAIL, F. The Wheat Microbiome Under Four Management Strategies and Potential for Endophytes in Disease Protection. **Phytobiomes Journal**, v. 1, n. 3, p. 158–168, 2017.

GLIESSMAN, S.R.; GUADARRAMA-ZUGASTI, C.; MENDEZ, E.; TRUJILLO, L.; BACON, C.; COHEN, R. **Agroecología: um enfoque sustentable de la agricultura ecológica**. Universidad Internacional de Andalucía, Sevilla, Spain, 2004.

GOEL, R., SUYAL, D. C., DASH, B., SONI, R. Soil Metagenomics: A Tool for Sustainable Agriculture. In Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics (pp. 217-225). **Springer**, Singapore, 2017.

GOES, T. **A energia que vem da cana-de-açúcar**. Empresa Brasileira de Tecnologia Agropecuária. p. 3, 2008. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/854460/a-energia-que-vem-da-cana-de-acucar>> Acesso em 11 de fev de 2022.

HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 4, p. 669–685, 1 dez. 2004.

HARDOIM, P. R. et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR**, v. 79, n. 3, p. 293–320, 1 jul. 2015.

HARTMAN, K. et al. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 14, 2018.

HARTMANN, M. et al. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. **The ISME Journal**, v. 9, n. 5, p. 1177–1194, maio 2015.

HASSAN, Y. I. et al. Draft Genome Sequences of Devosia sp. Strain 17-2-E-8 and Devosia riboflavina Strain IFO13584. **Genome Announcements**, v. 2, n. 5, p. e00994-14, 2014.

HASSANI, M. A.; DURÁN, P.; HACQUARD, S. Microbial interactions within the plant holobiont. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 58, 2018.

HENNERON, L. et al. Fourteen years of evidence for positive effects of conservation agriculture and organic farming on soil life. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 169–181, 2015.

HO, A.; DI LONARDO, D. P.; BODELIER, P. L. E. Revisiting life strategy concepts in environmental microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 3, 2017.

HOWARD, A. An agricultural testament. Oxford: **Oxford University Press**. 1943.

IFOAM - International Federation of Organic Agriculture Movements e FIBL - Research Institute of Organic Agriculture. Organic world. Global organic farming

statistics and news. Data tables FiBL-IFOAM, 2014. Disponível em: <https://www.ifoam.bio/about-us> . Acesso em 04 fev. 2021.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. 16S RRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 9, p. 2761–2764, 1 set. 2007.

JERONIMO, E. M. **Produção de açúcar mascavo, rapadura e melado no âmbito da agricultura familiar e sua importância na alimentação humana**. Programa Educativo e Social JC na Escola: Ciência Alimentando o Brasil. São Paulo, p. 111-120, 2018.

KAMINSKY, L. M.; TREXLER, R. V.; MALIK, R. J.; HOCKETT, K. L.; BELL, T. H. The Inherent Conflicts in Developing Soil Microbial Inoculants. **Trends in Biotechnology**, xx, 1– 12, 2018.

KARANJA, E. N. et al. Diversity and structure of prokaryotic communities within organic and conventional farming systems in central highlands of Kenya. **PLOS ONE**, v. 15, n. 8, p. e0236574, 2020.

KASSAM, A. et al. The spread of Conservation Agriculture: justification, sustainability and uptake. **International Journal of Agricultural Sustainability**, v. 7, n. 4, p. 292–320, 1 nov. 2009.

KASSAMBARA, A. ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>, 2020.

KAVAMURA, V. N. et al. Wheat dwarfing influences selection of the rhizosphere microbiome. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1452, 29 jan. 2020.

KEPLER, R. M.; MAUL, J. E.; REHNER, S. A. Managing the plant microbiome for biocontrol fungi: examples from *Hypocreales*. **Current Opinion in Microbiology**, Environmental microbiology * CRISPRcas9. v. 37, p. 48–53, 1 jun. 2017.

KNAPP, S.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. A global meta-analysis of yield stability in organic and conservation agriculture. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 3632, 7 set. 2018.

KOHL, Michael; WIESE, Sebastian; WARSCHEID, Bettina. Cytoscape: Software for Visualization and Analysis of Biological Networks. *In*: HAMACHER, Michael; EISENACHER, Martin; STEPHAN, Christian (Eds), Data Mining in

Proteomics. Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa, NJ, v. 696, p. 291–303, 2011.

KOSKELLA, B., TAYLOR, T.B. Multifaceted impacts of bacteriophages in the plant microbiome Annu. **Rev. Phytopathol.**, 56, pp. 361-380, 2018a.

KOSKELLA, B.; TAYLOR, T.B. The Potential Role of Bacteriophages in Shaping Plant-Bacterial Interactions. **Annu Rev Phytopathol** 56: 361-380, 2018b.

KUMAR, A.; PRAKASH, A.; JOHRI, B.N. *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. In: MAHESHWARI, D.K.K. (Ed.). Bacteria in agrobiolgy: crop system. Heidelberg: **Springer- Verlag**, chap. 2, p. 37-59, 2011.

LAGOS, L. et al. Current overview on the study of bacteria in the rhizosphere by modern molecular techniques: a mini-review. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 15, n. 2, p. 504–523, jun. 2015.

LAHTI, Leo; SHETTY, Sudarshan. **Microbiome R package**, 2012.

LAI, S.-M.; LIU, W.-C.; JORDÁN, F. On the centrality and uniqueness of species from the network perspective. **Biology Letters**, v. 8, n. 4, p. 570–573, 23 ago. 2012.

LAZCANO, C. et al. The rhizosphere microbiome plays a role in the resistance to soil-borne pathogens and nutrient uptake of strawberry cultivars under field conditions. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 3188, 2021.

LEACH, J. E. et al. Communication in the Phytobiome. **Cell**, v. 169, n. 4, p. 587–596, 4 maio 2017.

LEVY, A. et al. Genomic features of bacterial adaptation to plants. **Nature Genetics**, v. 50, n. 1, p. 138–150, jan. 2018.

LEWIN, G. R. et al. Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. **Annual Review of Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 235–254, 2016.

LEYS, N. M. et al. Occurrence and Phylogenetic Diversity of Sphingomonas Strains in Soils Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 1944–1955, 2004.

LI R.; KHAFIPOUR E.; KRAUSE D.O.; ENTZ M.H.; DE KIEVIT T.R.; DILANTHA FERNANDO W.G. Pyrosequencing reveals the influence of organic and conventional farming systems on bacterial communities. **Plos One**, v.7, p.1-6, 2012.

LI, F. et al. Bacterial Community Structure after Long-term Organic and Inorganic Fertilization Reveals Important Associations between Soil Nutrients and Specific Taxa Involved in Nutrient Transformations. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 187, 2017.

LIN, Y. et al. Nitrosospira Cluster 8a Plays a Predominant Role in the Nitrification Process of a Subtropical Ultisol under Long-Term Inorganic and Organic Fertilization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 18, p. e01031-18, 2018.

LIU, J. et al. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 70, p. 113–122, 2014.

LOVE, Michael I; HUBER, Wolfgang; ANDERS, Simon. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 550, 2014.

LUNDBERG, D. S. et al. Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. **Nature Methods**, v. 10, n. 10, p. 999–1002, 2013.

LUPATINI, M. et al. Long-term farming systems modulate multi-trophic responses. **Science of The Total Environment**, v. 646, p. 480–490, 1 jan. 2019.

LUPATINI, M. et al. Soil Microbiome Is More Heterogeneous in Organic Than in Conventional Farming System. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2017.

MA, M. et al. Responses of fungal community composition to long-term chemical and organic fertilization strategies in Chinese Mollisols. **MicrobiologyOpen**, v. 7, n. 5, p. e00597, 2018.

MACEDO, M.R.P., BORSUK, S., MULLER, G. Breve revisão sobre o uso dos marcadores moleculares de DNA ribossômico e DNA mitocondrial da caracterização genética de parasitos. **The Biologist**, ISSN-e 1816-0719, Vol. 10, Nº. Extra 2, 2012.

MALVIYA, M. K. et al. 7 - Sugarcane microbiome: role in sustainable production. Em: SOLANKI, M. K. et al. (Eds.). **Microbiomes and Plant Health**. Academic Press, p. 225–242, 2021.

MARCHESI, J. R.; RAVEL, J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. **Microbiome**, v. 3, n. 1, p. 31, 2015.

MATSUOKA, S. et al. Bioenergia da Cana. **Cana-de-açúcar: Bioenergia, Açúcar e Álcool**. Volume 1. Edited by: Santos F., Borém A., Caldas C., UFV, Viçosa, 2012.

MATSUOKA, S. et al. Energy Cane: Its Concept, Development, Characteristics, and Prospects. **Advances in Botany**, v. 2014, p. e597275, 30 set. 2014.

MCMURDIE, Paul J.; HOLMES, Susan. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.

MEGHANA, M.; SHASTRI, Y. Sustainable valorization of sugar industry waste: Status, opportunities, and challenges. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122929, 2020.

MEHNAZ, S. Microbes – friends and foes of sugarcane. **Journal of Basic Microbiology**, v. 53, n. 12, p. 954–971, 2013.

MELO, I. S. De. Risorremediação. In: MELO, I.S.; SILVA, C.M.M.S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. (Ed.). **Biodegradação**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001, p. 29-33. Contribuição do II Workshop sobre Biodegradação, Campinas, SP, Brasil, 18-20 de Junho de 2001.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews | Oxford Academic** v. 37, p. 634–663, 2013.

MITTER, B., PFAFFENBICHLER, N., SESSITSCH, A. Plant–microbe partnerships in 2020. **Microbial Biotechnology**, 9:635-640. 51, 2020.

MORAIS, L. K.; AGUIAR, M. S.; SILVA, P. A.; CÂMARA, T. M. M.; CURSI, D. E.; FERNANDES JUNIOR, A. R.; CHAPOLA, R. G.; CARNEIRO, M. S.; BESPALHOK FILHO, J. C. Breeding of Sugarcane, In: CRUZ, V. M. V.; DIERIG, D. A. (Ed.). Industrial Crops: breeding for bioenergy and bioproducts. New York, USA: **Springer**, 444p., 2015.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 626 p., 2002.

MUÑOZ, C. M. G. et al. Normativa de Produção Orgânica no Brasil: a percepção dos agricultores familiares do assentamento da Chapadinha, Sobradinho (DF). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 54, p. 361–376, jun. 2016.

NACHILUK, K. Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. 2021, p. 1-5.

NANNIPIERI, P. et al. Effects of root exudates in microbial diversity and activity in rhizosphere soils. In: Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence. **Springer Berlin Heidelberg**, p. 339-365, 2008.

NASCIMENTO, K. DE O. DO et al. A importância do estímulo à certificação de produtos orgânicos. **Acta Tecnológica**, v. 7, n. 2, p. 55–64, 19 fev. 2013.

NAYARISSERI, A. et al. Identification and Characterization of a Pesticide Degrading Flavobacterium Species EMBS0145 by 16S rRNA Gene Sequencing. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, v. 7, n. 2, p. 93–99, 2015.

NELSON, Michael C. et al. Analysis, optimization and verification of Illumina-generated 16S rRNA gene amplicon surveys. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e94249, 2014.

NERKAR G.; PURANKAR, M.; SHEELAVANTMATH, S.; DEVARUMATH, R. Biotechnological approaches, a new dimension for sugarcane improvement. In: Biotechnology to Enhance Sugarcane Productivity and Stress Tolerance. **CRC Press**. cap. 1, 2017.

NILSSON, R. H. et al. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D259–D264, 2019.

OFAIM, S., OFEK- LALZAR, M., SELA, N., JINAG, J., KASHI, Y., MINZ, D., FREILICH, S. Analysis of microbial functions in the rhizosphere using a metabolic-network based framework for metagenomics interpretation. **Frontiers in Microbiology**, 8(AUG), 1–14, 2017.

OKSANEN, J., BLANCHET, F.G., FRIENDLY M., KINDT, R., LEGENDRE P., McGLINN D., MINCHIN, P.R., O'HARA R.B., SIMPSON G.L., SOLYMOS P., STEVENS M.H.H., SZOECs, E., WAGNER, H. Vegan: **Community Ecology Package**. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, 2019.

ORMOND, José Geraldo Pacheco et al. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

ORR, C. H. et al. Effect of crop management and sample year on abundance of soil bacterial communities in organic and conventional cropping systems. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 1, p. 208–214, 2015.

ORRÙ, L. et al. How Tillage and Crop Rotation Change the Distribution Pattern of Fungi. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1469, 2011.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, M. L. et al. Study of the mechanism of *Flavobacterium* sp. for hydrolyzing organophosphate pesticides. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 17, n. 6, p. 717–723, 2003.

PARKS, Donovan H. et al. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, v. 30, n. 21, p. 3123–3124, 2014.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C. et al. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 8678, 2015.

PERITO, B.; CAVALIERI, D. Innovative metagenomic approaches for detection of microbial communities involved in biodeterioration of cultural heritage. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 364, p. 012074, 2018.

PINHO, G. A. DE et al. A agricultura orgânica como nicho de atividades para a agricultura familiar no Brasil: dificuldades e possibilidades. **Revista Iniciativa Econômica**, v. 2, n. 1, 2015.

PIPERIDIS, N.; PIPERIDIS, G.; D'HONT, A. Molecular cytogenetics. In: HENRY, R. J; KOLE, C. (Eds.) Genetics, genomics and breeding of sugarcane. New York: **Science Publishers**, p. 9-18, 2010.

PISA, G. et al. Diversity of 16S rRNA genes from bacteria of sugarcane rhizosphere soil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 1215–1221, 2011.

POSSEBON, I. F.; POLLI, H. Q. Cultivo orgânico da Cana de Açúcar. **Revista Interface Tecnológica**, v. 17, n. 1, p. 517–529, 2020.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, E-book, 2020.

RAIJ, B. VAN. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001.

RAJENDHRAN, J.; GUNASEKARAN, P. Strategies for accessing soil metagenome for desired applications. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 26, n. 6, p. 576-590, 2008.

RATZKE, C.; GORE, J. Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. **PLOS Biology**, v. 16, n. 3, p. e2004248, 14 mar. 2018.

RENAUD, G. et al. deML: robust demultiplexing of Illumina sequences using a likelihood-based approach. **Bioinformatics**, v. 31, n. 5, p. 770–772, 2015.

SANDHU, H. S; WRATTEN, S. D.; CULLEN, R. Review: organic agriculture and ecosystem services. **Environmental Science & Policy**, v. 1, n. 3, p. 1-7, 2010.

SCHIPANSKI, M. E. et al. Balancing multiple objectives in organic feed and forage cropping systems. **Agro-Ecosystems**, v. 239, p. 219–227, 2017.

SCHLOSS, P. D. Amplicon Sequence Variants Artificially Split Bacterial Genomes into Separate Clusters. **mSphere**, 2021.

SCHLOSS, P.D.; HANDELSMAN, J. Biotechnological prospect from metagenomics. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 14, p. 303-310, 2003.

SCHMIDT, J. E. et al. Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. **Microbiome**, v. 7, n. 1, p. 146, 2019.

SCHOCH, C. L. et al. Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region as a Universal DNA Barcode Marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 2012.

SEGATA, Nicola et al. Computational meta9omics for microbial community studies. **Molecular systems biology**, v. 9, n. 1, p. 666, 2013.

SEMENOV, M. V. et al. Mineral and Organic Fertilizers Distinctly Affect Fungal Communities in the Crop Rhizosphere. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, p. 251, 2022.

SEMENOV, M. V. et al. The Structure of Bacterial and Fungal Communities in the Rhizosphere and Root-Free Loci of Gray Forest Soil. **Eurasian Soil Science**, v. 52, n. 3, p. 319–332, 2019.

SHARMA, P. et al. Rhizosphere, Rhizosphere Biology, and Rhizospheric Engineering. In: MOHAMED, H. I.; EL-BELTAGI, H. E.-D. S.; ABD-ELSALAM, K. A.

(Eds.). Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Biotic and Abiotic Stress Management. Cham: **Springer International Publishing**, p. 577–624, 2021.

SHEN, C. et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 204–211, 1 fev. 2013.

SHEN, Z. et al. Deep 16S rRNA Pyrosequencing Reveals a Bacterial Community Associated with Banana Fusarium Wilt Disease Suppression Induced by Bio-Organic Fertilizer Application. **PLOS ONE**, v. 9, n. 5, p. e98420, 2014.

SILVA, D. L. G. et al. Cana-de-açúcar: Aspectos econômicos, sociais, ambientais, subprodutos e sustentabilidade. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e44410714163, 2021.

SILVA, T. M. et al. Degradation of 2,4-D herbicide by microorganisms isolated from Brazilian contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 522–525, 2007.

SILVA, U. C. et al. Long-Term Rock Phosphate Fertilization Impacts the Microbial Communities of Maize Rhizosphere. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

SINGH, B. K.; QUINCE, C.; MACDONALD, C. A.; KHACHANE, A.; THOMAS, N.; AL-SOUD, W. A. et al. Loss of microbial diversity in soils is coincident with reductions in some specialized functions. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 8, p. 2408 – 2420, 2014.

SLOCUM, R. D. Genes, enzymes and regulation of arginine biosynthesis in plants. **Plant physiology and biochemistry: PPB**, v. 43, n. 8, p. 729–745, ago. 2005.

STEWART, A.; HILL, R. Chapter 31 - Applications of Trichoderma in Plant Growth Promotion. In: GUPTA, V. K. et al. (Eds.), **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Amsterdam: Elsevier, p. 415–428, 2014.

SUN, J-Q.; XU, L.; LIU, X-Y.; ZHAO, G-F.; CAI, H.; NIE, Y.; WU X-L. Functional genetic diversity and culturability of petroleum-degrading bacteria isolated from oil-contaminated soils. **Frontiers in Microbiology** 9:1332, 2018.

TALWAR, C. et al. Defining the Environmental Adaptations of Genus *Devosia*: Insights into its Expansive Short Peptide Transport System and Positively Selected Genes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1151, 2020.

TIPTON, L. et al. Hawaiian Fungal Amplicon Sequence Variants Reveal Otherwise Hidden Biogeography. **Microbial Ecology**, 20 mar. 2021.

TURNBAUGH, Peter J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480, 2009.

TURNER, T.R.; JAMES, E.K.; POOLE, P.S. The plant microbiome. **Genome Biol.**, 14, 209, 2013.

UPADHYAY, L. S. B.; DUTT, A. Microbial Detoxification of Residual Organophosphate Pesticides in Agricultural Practices. In: PATRA, J. K.; VISHNUPRASAD, C. N.; DAS, G. (Eds.). *Microbial Biotechnology: Volume 1. Applications in Agriculture and Environment*. Singapore: **Springer**, p. 225–242, 2017.

USDA, 2000. National Organic Program. US Department of Agriculture, Washington, DC. Organic Production/Organic Food: Information Access Tools. Disponível em: <<https://www.nal.usda.gov/legacy/afsic/organic-productionorganic-food-information-access-tools>> Acesso em 11 fev. 2022.

USDA, 2021. US Department of Agriculture, Washington, DC. Rules e Regulations/Organic Regulations. Disponível em: <<https://www.ams.usda.gov/rules-regulations/organic>> Acesso em: 11 fev. 2022.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; HARTMANN, M. Networking in the Plant Microbiome. **PLoS biology**, v. 14, n. 2, p. e1002378, fev. 2016.

VENTURINI-FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. Editora Blucher, 2018.

VIEITES, J.M., GUAZZARONI, M.E., BELOQUI, A., GOLYSHIN, P.N., FERRER, M. Molecular methods to study complex microbial communities. **Methods Mol Biol** 668:1-37, 2010.

WANG, G. et al. Biodegradation of deoxynivalenol and its derivatives by *Devosia insulae* A16. **Food Chemistry**, v. 276, p. 436–442, 2019.

WANG, H. et al. Eight years of manure fertilization favor copiotrophic traits in paddy soil microbiomes. **European Journal of Soil Biology**, v. 106, p. 103352, 1 set. 2021.

WANG, Q. et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 16, p. 5261–5267, ago. 2007.

WANG, W. et al. Consistent responses of the microbial community structure to organic farming along the middle and lower reaches of the Yangtze River. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35046, 2016.

WANG, Y. et al. Different Selectivity in Fungal Communities Between Manure and Mineral Fertilizers: A Study in an Alkaline Soil After 30 Years Fertilization. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

WANG, Z. et al. Tillage practices with different soil disturbance shape the rhizosphere bacterial community throughout crop growth. **Soil and Tillage Research**, v. 197, p. 104501, 1 mar. 2020.

WHITE, R. A. et al. The State of Rhizospheric Science in the Era of Multi-Omics: A Practical Guide to Omics Technologies. **Rhizosphere**, v. 3, p. 212–221, jun. 2017.

WINTER, G. et al. Physiological implications of arginine metabolism in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 534, 2015.

WU, Y. et al. pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 40093, 2017.

XUN, W. et al. Specialized metabolic functions of keystone taxa sustain soil microbiome stability. **Microbiome**, v. 9, n. 1, p. 35, 31 jan. 2021.

YIN, C. et al. Role of Bacterial Communities in the Natural Suppression of *Rhizoctonia solani* Bare Patch Disease of Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 23, p. 7428–7438, 2013.

YORK, L. M.; CARMINATI, A.; MOONEY, S. J.; RITZ, K.; BENNETT, M. J. The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 12, p. 3629–3643, 2016.

YUN, Y. et al. The Relationship between pH and Bacterial Communities in a Single Karst Ecosystem and Its Implication for Soil Acidification. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1955, 16 dez. 2016.

ZHANG, J. et al. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. **Bioinformatics** (Oxford, England), v. 30, n. 5, p. 614–620, 2014.

ZHOU, J. et al. Reproducibility and quantitation of amplicon sequencing-based detection. **The ISME Journal**, v. 5, n. 8, p. 1303–1313, ago. 2011.

APÊNDICES

Apêndice A: Táxons bacterianos diferencialmente abundantes obtidos por meio da abordagem “DESeq2”. Apenas os táxons com constatação estatística significativa (p-valor $\leq 0,01$) através do teste Wald foram considerados. O logFc representa o número de vezes que um táxon específico está em maior abundância em um cultivo, onde os valores negativos indicam abundância maior em cultivo orgânico e valores positivos em cultivo convencional.

Táxon	logFC	pvalor	Cultivo	Nível taxonômico
<i>Ca. Saccharibacteria</i>	3,917	0,00028755	CRZ	Filo
<i>Flavobacteriia</i>	7,221	0,00041266	CRZ	Classe
<i>Flavobacteriales</i>	7,027	0,0021675	CRZ	Ordem
<i>Cryptosporangiaceae</i>	-8,593	0,00000005634	ORZ	Família
<i>Erythrobacteraceae</i>	8,060	0.000000109	CRZ	Família
<i>Pseudonocardiaceae</i>	-1,082	0,00065106	ORZ	Família
<i>Flavobacteriaceae</i>	6,772	0,0010334	CRZ	Família
<i>Labilitrachaceae</i>	- 8,099	0,00619	ORZ	Família
<i>Jatrophihabitans</i>	- 8,622	0,00000097754	ORZ	Gênero
<i>Pelomonas</i>	-7,224	0,0015465	ORZ	Gênero
<i>Flavobacterium</i>	6,827	0,0023872	CRZ	Gênero
<i>Devosia</i>	0,954	0,0047914	CRZ	Gênero
<i>Pseudonocardia</i>	-1,020	0,006646	ORZ	Gênero
<i>Segetibacter</i>	6,146	0,0085566	CRZ	Gênero

Apêndice B: Táxons fúngicos diferencialmente abundantes obtidos por meio da abordagem “DESeq2”. Apenas os táxons com constatação estatística significativa (p-valor $\leq 0,01$) através do teste Wald foram considerados. O logFc representa o número de vezes que um táxon específico está em maior abundância em um cultivo, onde os valores negativos indicam abundância maior em cultivo orgânico e valores positivos em cultivo convencional.

Táxon	logFC	pvalor	Cultivo	Nível taxonômico
<i>Mucoromycota</i>	2,124	0,0085892	CRZ	Filo
<i>Saccharomycetes</i>	-3,184	0,000067317	ORZ	Classe
<i>Mucoromycetes</i>	3,162	0,0041382	CRZ	Classe
<i>Leotiomyces</i>	3,155	0,0048362	CRZ	Classe
<i>Trichosporonales</i>	-11,694	0,00000000000129	ORZ	Ordem
<i>Hymenochaetales</i>	8,122	0,000000701	CRZ	Ordem
<i>Helotiales</i>	4,213	0,0008455	CRZ	Ordem
<i>Mucorales</i>	3,822	0,0008509	CRZ	Ordem
<i>Myrmecridiales</i>	4,200	0,0013124	CRZ	Ordem
<i>Saccharomycetales</i>	-2,696	0,0053982	ORZ	Ordem
<i>Trichosporonaceae</i>	-12,031	0,00000000000398	ORZ	Família
<i>Hymenochaetales fam. inc. sed.</i>	7,858	0,00000244	CRZ	Família
<i>Dipodascaceae</i>	-9,005	0,0000312	ORZ	Família
<i>Testudinaceae</i>	-4,471	0,0000443	ORZ	Família
<i>Agaricaceae</i>	7,371	0,0000853	CRZ	Família
<i>Myxotrichaceae</i>	7,971	0,00014973	CRZ	Família
<i>Hyphodermataceae</i>	-6,963	0,00017137	ORZ	Família
<i>Cunninghamellaceae</i>	4,020	0,00053504	CRZ	Família
<i>Myrmecridiaceae</i>	4,083	0,0017247	CRZ	Família
<i>Microdochiaceae</i>	-6,851	0,0020056	ORZ	Família
<i>Morosphaeriaceae</i>	-6,666	0,0029415	ORZ	Família
<i>Pluteaceae</i>	4,99	0,0037745	CRZ	Família
<i>Stephanosporaceae</i>	5,326	0,0041618	CRZ	Família
<i>Lycoperdaceae</i>	3,947	0,0075384	CRZ	Família
<i>Rhizopodaceae</i>	5,672	0,0089539	CRZ	Família
<i>Apiotrichum</i>	-12,539	0,0000000000023	ORZ	Gênero
<i>Trichosporon</i>	-11,231	0,000000000040	ORZ	Gênero
<i>Resinicium</i>	7,873	0,0000033728	CRZ	Gênero
<i>Chaetosphaeria</i>	7,398	0,0000916	CRZ	Gênero
<i>Oidiodendron</i>	7,997	0,00017153	CRZ	Gênero
<i>Hyphoderma</i>	-7,037	0,00019751	ORZ	Gênero
<i>Absidia</i>	3,951	0,00077466	CRZ	Gênero
<i>Mycothermus</i>	-8,128	0,0008203	ORZ	Gênero
<i>Gongronella</i>	6,219	0,0011342	CRZ	Gênero
<i>Tubeufia</i>	-4,502	0,0017037	ORZ	Gênero
<i>Myrmecridium</i>	4,094	0,0021673	CRZ	Gênero
<i>Microdochium</i>	-6,804	0,0027048	ORZ	Gênero

Táxon	logFC	pvalor	Cultivo	Nível taxonômico
<i>Acrocalymma</i>	-6,596	0,0037935	ORZ	Gênero
<i>Pluteus</i>	4,968	0,0045733	CRZ	Gênero
<i>Aspergillus</i>	2,740	0,0082547	CRZ	Gênero
<i>Chaetomium</i>	3,082	0,0087012	CRZ	Gênero
<i>Lycoperdon</i>	3,930	0,0092539	CRZ	Gênero
<i>Resinicium saccharicola</i>	8,102	0,000007778	CRZ	Espécie
<i>Monocillium indicum</i>	-7,426	0,0000118	ORZ	Espécie
<i>Absidia repens</i>	6,154	0,0000510	CRZ	Espécie
<i>Acremonium cavaraeaeum</i>	5,565	0,00017659	CRZ	Espécie
<i>Torula hollandica</i>	-8,805	0,00041137	ORZ	Espécie
<i>Apiotrichum lignicola</i>	-8,872	0,00051378	ORZ	Espécie
<i>Gongronella butleri</i>	6,532	0,0006302	CRZ	Espécie
<i>Talaromyces diversus</i>	4,446	0,00073952	CRZ	Espécie
<i>Hyphoderma nudicephalum</i>	-6,820	0,00079557	ORZ	Espécie
<i>Metarhizium marquandii</i>	6,634	0,0021396	CRZ	Espécie
<i>Westerdykella ornata</i>	2,494	0,0023099	CRZ	Espécie
<i>Mycothermus thermophilus</i>	-7,805	0,0026126	ORZ	Espécie
<i>Tubeufia dictyospora</i>	-5,553	0,0026951	ORZ	Espécie
<i>Pluteus albobipitatus</i>	5,070	0,0037628	CRZ	Espécie
<i>Rhizopus arrhizus</i>	5,968	0,0045955	CRZ	Espécie
<i>Mortierella wolfii</i>	4,488	0,0081048	CRZ	Espécie
<i>Clonostachys rosea</i>	-3,670	0,0086781	ORZ	Espécie
<i>Acremonium furcatum</i>	-5,831	0,0091101	ORZ	Espécie

Apêndice C: Gêneros bacterianos identificados através da correlação de Pearson e utilizados como entrada para o programa Cytoscape onde, além das representações visuais, foram obtidas medidas de centralidade de intermediação de rede (*Betweenness centrality*).

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Nitrosospora</i>	0,0848
<i>Ktedonobacter</i>	0,0754
<i>Kribbella</i>	0,0735
<i>Burkholderia</i>	0,0662
<i>Nitrospira</i>	0,0624

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Phenylobacterium</i>	0,0610
<i>Skermanella</i>	0,0607
<i>Parasegetibacter</i>	0,0545
<i>Jatrophihabitans</i>	0,0543
<i>Aquicella</i>	0,0527

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Conexibacter</i>	0,0508
<i>Mesorhizobium</i>	0,0494
<i>Dactylosporangium</i>	0,0479
<i>Povalibacter</i>	0,0478
<i>Sandaracinus</i>	0,0460
<i>Pseudonocardia</i>	0,0441
<i>Segetibacter</i>	0,0411
<i>Bacillus</i>	0,0405
<i>Arenimonas</i>	0,0384
<i>Tumebacillus</i>	0,0374
<i>Mycobacterium</i>	0,0373
<i>Solirubrobacter</i>	0,0359
<i>Nakamurella</i>	0,0358
<i>Kitasatospora</i>	0,0342
<i>Devosia</i>	0,0327
<i>Phaselicystis</i>	0,0325
<i>Hyphomicrobium</i>	0,0319
<i>Acinetobacter</i>	0,0319
<i>Gaiella</i>	0,0304
<i>Rubellimicrobium</i>	0,0304
<i>Pelomonas</i>	0,0303
<i>Massilia</i>	0,0299
<i>Pedomicrobium</i>	0,0287
<i>Lysobacter</i>	0,0287
<i>Phycococcus</i>	0,0286
<i>Microvirga</i>	0,0264
<i>Roseiarcus</i>	0,0259
<i>Marmoricola</i>	0,0250
<i>Kaistia</i>	0,0249
<i>Myxococcus</i>	0,0247
<i>Polyangium</i>	0,0245
<i>Flavobacterium</i>	0,0243
<i>Domibacillus</i>	0,0243
<i>Niastella</i>	0,0231
<i>Methylobacterium</i>	0,0217

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Paenibacillus</i>	0,0208
<i>Rhizobium</i>	0,0195
<i>Flavisolibacter</i>	0,0194
<i>Janibacter</i>	0,0188
<i>Duganella</i>	0,0188
<i>Sorangium</i>	0,0182
<i>Opitutus</i>	0,0181
<i>Aggregicoccus</i>	0,0177
<i>Nocardioides</i>	0,0173
<i>Terrimonas</i>	0,0171
<i>Pseudomonas</i>	0,0156
<i>Alicyclobacillus</i>	0,0155
<i>Catenulispora</i>	0,0154
<i>Variovorax</i>	0,0145
<i>Intrasporangium</i>	0,0143
<i>Amycolatopsis</i>	0,0143
<i>Geodermatophilus</i>	0,0137
<i>Herminiimonas</i>	0,0135
<i>Anaeromyxobacter</i>	0,0134
<i>Stenotrophomonas</i>	0,0132
<i>Labrys</i>	0,0132
<i>Sphingomonas</i>	0,0131
<i>Leifsonia</i>	0,0131
<i>Angustibacter</i>	0,0131
<i>Cupriavidus</i>	0,0128
<i>Clostridium_sensu_stricto</i>	0,0121
<i>Luteimonas</i>	0,0121
<i>Dongia</i>	0,0120
<i>Luteolibacter</i>	0,0111
<i>Flavitalea</i>	0,0093
<i>Mucilaginibacter</i>	0,0092
<i>Luteibacter</i>	0,0092
<i>Micromonospora</i>	0,0087
<i>Streptomyces</i>	0,0085
<i>Dokdonella</i>	0,0084

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Chitinophaga</i>	0,0082
<i>Aciditerrimonas</i>	0,0078
<i>Gemmatimonas</i>	0,0073
<i>Minicystis</i>	0,0069
<i>Nonomuraea</i>	0,0069
<i>Agromyces</i>	0,0066
<i>Bradyrhizobium</i>	0,0061
<i>Sinomonas</i>	0,0055
<i>Ramlibacter</i>	0,0055
<i>Virgisporangium</i>	0,0054
<i>Alsobacter</i>	0,0054
<i>Nannocystis</i>	0,0054
<i>Enterobacter</i>	0,0045
<i>Spirosoma</i>	0,0024
<i>Kofleria</i>	0,0023

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Noviherbaspirillum</i>	0,0021
<i>Rugosimonospora</i>	0,0010
<i>Blastococcus</i>	0,0008
<i>Arthrobacter</i>	0,0007
<i>Labilithrix</i>	0,0001
<i>Porphyrobacter</i>	0
<i>Oxalophagus</i>	0
<i>Terrabacter</i>	0
<i>Ilumatobacter</i>	0
<i>Cystobacter</i>	0
<i>Byssovorax</i>	0
<i>Dyella</i>	0
<i>Actinospica</i>	0
<i>Caldilinea</i>	0

Apêndice D: Gêneros bacterianos identificados através da correlação de Pearson e utilizados como entrada para o programa Cytoscape onde, além das representações visuais foram obtidos os números de correlações (positivas e negativas) estabelecidas entre os gêneros (*degree*).

Táxon	Correlações
<i>Burkholderia</i>	25
<i>Pseudomonas</i>	25
<i>Methylobacterium</i>	24
<i>Stenotrophomonas</i>	24
<i>Labrys</i>	24
<i>Sphingomonas</i>	24
<i>Luteolibacter</i>	24
<i>Kaistia</i>	23
<i>Rhizobium</i>	23
<i>Dokdonella</i>	22
<i>Devosia</i>	21
<i>Leifsonia</i>	21
<i>Angustibacter</i>	21
<i>Bradyrhizobium</i>	21
<i>Enterobacter</i>	20

Táxon	Correlações
<i>Nakamurella</i>	19
<i>Kitasatospora</i>	19
<i>Acinetobacter</i>	19
<i>Cupriavidus</i>	19
<i>Flavobacterium</i>	18
<i>Domibacillus</i>	18
<i>Ktedonobacter</i>	16
<i>Sandaracinus</i>	16
<i>Anaeromyxobacter</i>	16
<i>Dongia</i>	16
<i>Chitinophaga</i>	16
<i>Kribbella</i>	15
<i>Nitrospira</i>	15
<i>Povalibacter</i>	14
<i>Sorangium</i>	14

Táxon	Correlações
<i>Nocardioides</i>	14
<i>Intrasporangium</i>	13
<i>Myxococcus</i>	12
<i>Geodermatophilus</i>	12
<i>Flavitalea</i>	12
<i>Aquicella</i>	11
<i>Mesorhizobium</i>	11
<i>Phaselicystis</i>	11
<i>Rubellimicrobium</i>	11
<i>Phenylobacterium</i>	10
<i>Conexibacter</i>	10
<i>Pelomonas</i>	10
<i>Kofleria</i>	10
<i>Nitrospira</i>	9
<i>Dactylosporangium</i>	9
<i>Arenimonas</i>	9
<i>Hyphomicrobium</i>	9
<i>Phycococcus</i>	9
<i>Roseiarcus</i>	9
<i>Streptomyces</i>	9
<i>Virgisporangium</i>	9
<i>Jatrophihabitans</i>	8
<i>Catenulispora</i>	8
<i>Mucilaginibacter</i>	8
<i>Luteibacter</i>	8
<i>Labilithrix</i>	8
<i>Skermanella</i>	7
<i>Pseudonocardia</i>	7
<i>Segetibacter</i>	7
<i>Massilia</i>	7
<i>Lysobacter</i>	7
<i>Flavisolibacter</i>	7
<i>Aggregicoccus</i>	7
<i>Alicyclobacillus</i>	7
<i>Minicystis</i>	7
<i>Alsobacter</i>	7
<i>Nannocystis</i>	7
<i>Spirosoma</i>	7
<i>Parasegetibacter</i>	6
<i>Tumebacillus</i>	6

Táxon	Correlações
<i>Niastella</i>	6
<i>Opitutus</i>	6
<i>Terrimonas</i>	6
<i>Variovorax</i>	6
<i>Luteimonas</i>	6
<i>Agromyces</i>	6
<i>Noviherbaspirillum</i>	6
<i>Bacillus</i>	5
<i>Solirubrobacter</i>	5
<i>Gaiella</i>	5
<i>Pedomicrobium</i>	5
<i>Herminiimonas</i>	5
<i>Aciditerrimonas</i>	5
<i>Nonomuraea</i>	5
<i>Microvirga</i>	4
<i>Duganella</i>	4
<i>Amycolatopsis</i>	4
<i>Micromonospora</i>	4
<i>Sinomonas</i>	4
<i>Rugosimonospora</i>	4
<i>Dyella</i>	4
<i>Caldilinea</i>	4
<i>Mycobacterium</i>	3
<i>Marmoricola</i>	3
<i>Polyangium</i>	3
<i>Paenibacillus</i>	3
<i>Clostridium_sensu_stricto</i>	3
<i>Ramlibacter</i>	3
<i>Blastococcus</i>	3
<i>Arthrobacter</i>	3
<i>Porphyrobacter</i>	3
<i>Janibacter</i>	2
<i>Gemmatimonas</i>	2
<i>Ilumatobacter</i>	2
<i>Oxalophagus</i>	1
<i>Terrabacter</i>	1
<i>Cystobacter</i>	1
<i>Byssovorax</i>	1
<i>Actinospica</i>	1

Apêndice E: Gêneros fúngicos identificados através da correlação de Pearson e utilizados como entrada para o programa Cytoscape onde, além das representações visuais, foram obtidas medidas de centralidade de intermediação de rede (*Betweenness centrality*).

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Rhizopus</i>	0,0623
<i>Scopulariopsis</i>	0,0471
<i>Podospora</i>	0,0454
<i>Cladophialophora</i>	0,0450
<i>Keissleriella</i>	0,0442
<i>Serendipita</i>	0,0436
<i>Chordomyces</i>	0,0432
<i>Spegazzinia</i>	0,0421
<i>Fusicolla</i>	0,0408
<i>Chaetosphaeria</i>	0,0402
<i>Chaetomium</i>	0,0390
<i>Penicillifer</i>	0,0390
<i>Staphylotrichum</i>	0,0388
<i>Aspergillus</i>	0,0360
<i>Neoidriella</i>	0,0358
<i>Coprinopsis</i>	0,0355
<i>Cladosporium</i>	0,0338
<i>Fusarium</i>	0,0318
<i>Bipolaris</i>	0,0313
<i>Humicola</i>	0,0304
<i>Escovopsis</i>	0,0301
<i>Saitozyma</i>	0,0297
<i>Phialemoniopsis</i>	0,0290
<i>Stagonospora</i>	0,0283
<i>Westerdykella</i>	0,0275
<i>Setophoma</i>	0,0263
<i>Epicoccum</i>	0,0260
<i>Torulaspora</i>	0,0259
<i>Conioscypha</i>	0,0253
<i>Polylobatispora</i>	0,0252
<i>Lectera</i>	0,0249
<i>Achroiestachys</i>	0,0243
<i>Papiliotrema</i>	0,0242
<i>Alfaria</i>	0,0240
<i>Occultifur</i>	0,0239
<i>Debaryomyces</i>	0,0238
<i>Ramichloridium</i>	0,0232

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Apiotrichum</i>	0,0230
<i>Zygosporium</i>	0,0228
<i>Veronaea</i>	0,0223
<i>Atractiella</i>	0,0220
<i>Sagenomella</i>	0,0213
<i>Cladorrhinum</i>	0,0202
<i>Hannaella</i>	0,0199
<i>Pseudoramichloridium</i>	0,0199
<i>Alternaria</i>	0,0194
<i>Rhizophagus</i>	0,0188
<i>Ascobolus</i>	0,0184
<i>Codinaea</i>	0,0183
<i>Psathyrella</i>	0,0179
<i>Xenoacremonium</i>	0,0178
<i>Conlarium</i>	0,0177
<i>Albifimbria</i>	0,0175
<i>Xepicula</i>	0,0172
<i>Penicillium</i>	0,0171
<i>Cuniculitrema</i>	0,0165
<i>Antennariella</i>	0,0165
<i>Panaeolus</i>	0,0165
<i>Tetraplosphaeria</i>	0,0165
<i>Tremella</i>	0,0164
<i>Helicoma</i>	0,0161
<i>Paracremonium</i>	0,0161
<i>Glomerella</i>	0,0160
<i>Bjerkandera</i>	0,0152
<i>Basidioascus</i>	0,0146
<i>Byssochlamys</i>	0,0140
<i>Kendrickiella</i>	0,0138
<i>Scutellinia</i>	0,0136
<i>Strelitziana</i>	0,0132
<i>Ochroconis</i>	0,0130
<i>Arxiella</i>	0,0128
<i>Sakaguchia</i>	0,0126
<i>Resinicium</i>	0,0123
<i>Talaromyces</i>	0,0121

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Tubeufia</i>	0,0119
<i>Acaulospora</i>	0,0118
<i>Agrocybe</i>	0,0117
<i>Dictyosporium</i>	0,0116
<i>Mortierella</i>	0,0116
<i>Lipomyces</i>	0,0114
<i>Fluminicola</i>	0,0112
<i>Chloridium</i>	0,0108
<i>Phaeosphaeria</i>	0,0108
<i>Xenomyrothecium</i>	0,0108
<i>Trichosporon</i>	0,0107
<i>Rhytidhysterion</i>	0,0102
<i>Myrmecridium</i>	0,0099
<i>Pyrenochaetopsis</i>	0,0097
<i>Exophiala</i>	0,0094
<i>Absidia</i>	0,0091
<i>Chrysosporium</i>	0,0091
<i>Scytalidium</i>	0,0088
<i>Paraglomus</i>	0,0087
<i>Monocillium</i>	0,0085
<i>Sarocladium</i>	0,0085
<i>Dichotomopilus</i>	0,0084
<i>Pseudopithomyces</i>	0,0082
<i>Paraphaeosphaeria</i>	0,0082
<i>Paraconiothyrium</i>	0,0081
<i>Tetracladium</i>	0,0078
<i>Coniocessia</i>	0,0077
<i>Kockovaella</i>	0,0076
<i>Ijuhya</i>	0,0074
<i>Cutaneotrichosporon</i>	0,0073
<i>Helicogloea</i>	0,0073
<i>Hypomyces</i>	0,0072
<i>Trechispora</i>	0,0070
<i>Paratrimmatostroma</i>	0,0069
<i>Mariannaea</i>	0,0066
<i>Ceratocystis</i>	0,0066
<i>Corymbiglomus</i>	0,0065
<i>Xenasmatella</i>	0,0065
<i>Remersonia</i>	0,0065
<i>Aureobasidium</i>	0,0065
<i>Metarhizium</i>	0,0064
<i>Preussia</i>	0,0063
<i>Papulaspora</i>	0,0062

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Curvularia</i>	0,0061
<i>Phialocephala</i>	0,0061
<i>Naganishia</i>	0,0061
<i>Microdochium</i>	0,0059
<i>Macrophomina</i>	0,0059
<i>Phialophora</i>	0,0058
<i>Cyphellophora</i>	0,0058
<i>Rhexoacrodictys</i>	0,0056
<i>Paecilomyces</i>	0,0054
<i>Fusariella</i>	0,0051
<i>Nigrospora</i>	0,0050
<i>Exserohilum</i>	0,0050
<i>Clitopilus</i>	0,0049
<i>Beauveria</i>	0,0049
<i>Colletotrichum</i>	0,0049
<i>Synnemellisia</i>	0,0048
<i>Cirrenalia</i>	0,0047
<i>Trichoderma</i>	0,0046
<i>Hormonema</i>	0,0045
<i>Clonostachys</i>	0,0044
<i>Nectriopsis</i>	0,0044
<i>Plectosphaerella</i>	0,0043
<i>Pyrenochaeta</i>	0,0043
<i>Arcopilus</i>	0,0042
<i>Torula</i>	0,0041
<i>Sporothrix</i>	0,0040
<i>Mycothermus</i>	0,0040
<i>Acrocalymma</i>	0,0040
<i>Periconia</i>	0,0037
<i>Dactylella</i>	0,0035
<i>Neurospora</i>	0,0034
<i>Zopfiella</i>	0,0032
<i>Arthrobotrys</i>	0,0031
<i>Cylindrocarpon</i>	0,0031
<i>Pluteus</i>	0,0031
<i>Subramaniula</i>	0,0030
<i>Gongronella</i>	0,0029
<i>Pseudocoleophoma</i>	0,0028
<i>Parazalerion</i>	0,0028
<i>Sistotrema</i>	0,0028
<i>Oidiodendron</i>	0,0028
<i>Striaticonidium</i>	0,0026
<i>Acremonium</i>	0,0026

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Cetraspora</i>	0,0025
<i>Hansfordia</i>	0,0025
<i>Microascus</i>	0,0023
<i>Acrodontium</i>	0,0018
<i>Nothopassalora</i>	0,0016
<i>Vermispora</i>	0,0015
<i>Claroideoglossus</i>	0,0014
<i>Stachylidium</i>	0,0013
<i>Leuconeurospora</i>	0,0013
<i>Metacordyceps</i>	0,0011
<i>Neodevriesia</i>	0,0008
<i>Lycoperdon</i>	0,0008
<i>Spizellomyces</i>	0,0006
<i>Solicoccozyma</i>	0,0006

Táxon	Centralidade de intermediação
<i>Clavulinopsis</i>	0,0006
<i>Rhizoctonia</i>	0,0002
<i>Hyphoderma</i>	0,0002
<i>Coprinellus</i>	0,0002
<i>Xenopenidiella</i>	0,0002
<i>Pseudorobillarda</i>	0,0001
<i>Conocybe</i>	0,0001
<i>Immersiella</i>	0,00009
<i>Gibellulopsis</i>	0
<i>Rhodospiridiobolus</i>	0
<i>Coniochaeta</i>	0
<i>Roussoella</i>	0
<i>Coniophora</i>	0

Apêndice F: Gêneros fúngicos identificados através da correlação de Pearson e utilizados como entrada para o programa Cytoscape onde, além das representações visuais foram obtidos os números de correlações (positivas e negativas) estabelecidas entre os gêneros (*degree*).

Táxon	Correlações
<i>Ascobolus</i>	27
<i>Microdochium</i>	26
<i>Macrophomina</i>	26
<i>Phialophora</i>	25
<i>Cyphellophora</i>	25
<i>Sporothrix</i>	25
<i>Mycothermus</i>	25
<i>Acrocalymma</i>	25
<i>Polylobatispora</i>	24
<i>Basidioascus</i>	24
<i>Coniocessia</i>	24
<i>Ijuhya</i>	24
<i>Preussia</i>	24
<i>Colletotrichum</i>	24
<i>Dactylella</i>	24
<i>Subramaniula</i>	24
<i>Psathyrella</i>	23
<i>Byssochlamys</i>	23

Táxon	Correlações
<i>Strelitziana</i>	23
<i>Talaromyces</i>	23
<i>Agrocybe</i>	23
<i>Phaeosphaeria</i>	23
<i>Pseudopithomyces</i>	23
<i>Tetracladium</i>	23
<i>Phialocephala</i>	23
<i>Fusariella</i>	23
<i>Pyrenochaeta</i>	23
<i>Zopfiella</i>	23
<i>Acremonium</i>	23
<i>Nothopassalora</i>	23
<i>Claroideoglossus</i>	23
<i>Coprinopsis</i>	22
<i>Epicoccum</i>	22
<i>Bjerkandera</i>	22
<i>Paratrimmatostroma</i>	22
<i>Aureobasidium</i>	22

Táxon	Correlações
<i>Synnemellisia</i>	22
<i>Cirrenalia</i>	22
<i>Trichoderma</i>	22
<i>Clonostachys</i>	22
<i>Spizellomyces</i>	22
<i>Solicoccozyma</i>	22
<i>Clavulinopsis</i>	22
<i>Codinaea</i>	21
<i>Naganishia</i>	21
<i>Striaticonidium</i>	21
<i>Microascus</i>	21
<i>Acrodontium</i>	21
<i>Rhizoctonia</i>	21
<i>Hyphoderma</i>	21
<i>Coprinellus</i>	21
<i>Neoidriella</i>	20
<i>Panaeolus</i>	20
<i>Neurospora</i>	20
<i>Pseudorobillarda</i>	20
<i>Conocybe</i>	20
<i>Sagenomella</i>	19
<i>Alternaria</i>	19
<i>Tremella</i>	19
<i>Paraglomus</i>	19
<i>Ceratocystis</i>	19
<i>Metacordyceps</i>	19
<i>Rhizopus</i>	18
<i>Chaetosphaeria</i>	18
<i>Chaetomium</i>	18
<i>Veronaea</i>	18
<i>Ochroconis</i>	18
<i>Rhytidhysterion</i>	18
<i>Trechispora</i>	18
<i>Clitopilus</i>	18
<i>Beauveria</i>	18
<i>Gongronella</i>	18
<i>Sistotrema</i>	18
<i>Oidiodendron</i>	18
<i>Cladorrhinum</i>	17
<i>Resinicium</i>	17
<i>Fluminicola</i>	17
<i>Periconia</i>	17

Táxon	Correlações
<i>Neodevriesia</i>	17
<i>Lycoperdon</i>	17
<i>Podospora</i>	16
<i>Saitozyma</i>	16
<i>Cuniculitrema</i>	16
<i>Myrmecridium</i>	16
<i>Helicogloea</i>	16
<i>Metarhizium</i>	16
<i>Vermispora</i>	16
<i>Staphylotrichum</i>	15
<i>Chloridium</i>	15
<i>Kockovaella</i>	15
<i>Immersiella</i>	15
<i>Scopulariopsis</i>	14
<i>Fusicolla</i>	14
<i>Aspergillus</i>	14
<i>Fusarium</i>	14
<i>Westerdykella</i>	14
<i>Albifimbria</i>	13
<i>Antennariella</i>	13
<i>Xenasmatella</i>	13
<i>Remersonia</i>	13
<i>Xenopenidiella</i>	13
<i>Keissleriella</i>	12
<i>Apiotrichum</i>	12
<i>Penicillium</i>	12
<i>Helicoma</i>	12
<i>Arxiella</i>	12
<i>Sarocladium</i>	12
<i>Hormonema</i>	12
<i>Pluteus</i>	12
<i>Chordomyces</i>	11
<i>Penicillifer</i>	11
<i>Escovopsis</i>	11
<i>Occultifur</i>	11
<i>Conlarium</i>	11
<i>Lipomyces</i>	11
<i>Monocillium</i>	11
<i>Cutaneotrichosporon</i>	11
<i>Hypomyces</i>	11
<i>Curvularia</i>	11
<i>Stachylidium</i>	11

Táxon	Correlações
<i>Leuconeurospora</i>	11
<i>Torulaspora</i>	10
<i>Chrysosporium</i>	10
<i>Paraconiothyrium</i>	10
<i>Rhexoacrodictys</i>	10
<i>Torula</i>	10
<i>Cylindrocarpon</i>	10
<i>Pseudocoleophoma</i>	10
<i>Parazalerion</i>	10
<i>Spegazzinia</i>	9
<i>Humicola</i>	9
<i>Phialemoniopsis</i>	9
<i>Achroiostachys</i>	9
<i>Alfaria</i>	9
<i>Pseudoramichloridium</i>	9
<i>Tubeufia</i>	9
<i>Trichosporon</i>	9
<i>Absidia</i>	9
<i>Cladophialophora</i>	8
<i>Serendipita</i>	8
<i>Bipolaris</i>	8
<i>Stagonospora</i>	8
<i>Debaryomyces</i>	8
<i>Ramichloridium</i>	8
<i>Atractiella</i>	8
<i>Rhizophagus</i>	8
<i>Xenoacremonium</i>	8
<i>Exophiala</i>	8
<i>Dichotomopilus</i>	8
<i>Corymbiglomus</i>	8
<i>Exserohilum</i>	8
<i>Nectriopsis</i>	8
<i>Arthrobotrys</i>	8
<i>Cladosporium</i>	7

Táxon	Correlações
<i>Hannaella</i>	7
<i>Paracremonium</i>	7
<i>Kendrickiella</i>	7
<i>Nigrospora</i>	7
<i>Lectera</i>	6
<i>Xepicula</i>	6
<i>Mortierella</i>	6
<i>Xenomyrothecium</i>	6
<i>Pyrenochaetopsis</i>	6
<i>Cetraspora</i>	6
<i>Setophoma</i>	5
<i>Conioscypha</i>	5
<i>Zygosporium</i>	5
<i>Glomerella</i>	5
<i>Acaulospora</i>	5
<i>Dictyosporium</i>	5
<i>Hansfordia</i>	5
<i>Papiliotrema</i>	4
<i>Scutellinia</i>	4
<i>Sakaguchia</i>	4
<i>Scytalidium</i>	4
<i>Paraphaeosphaeria</i>	4
<i>Plectosphaerella</i>	4
<i>Tetraplosphaeria</i>	3
<i>Papulaspora</i>	3
<i>Paecilomyces</i>	3
<i>Arcopilus</i>	3
<i>Roussoella</i>	3
<i>Mariannaea</i>	2
<i>Gibellulopsis</i>	2
<i>Coniochaeta</i>	2
<i>Rhodosporeidiobolus</i>	1
<i>Coniophora</i>	1