

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

**INVESTIGAÇÃO SOBRE OS EFEITOS DA *Spirulina maxima*
NO DESENVOLVIMENTO DE *Solanum lycopersicum* E NA
COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA**

Carlos Daniel Nazareno Ferrão

Engenheiro Ambiental

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

**INVESTIGAÇÃO SOBRE OS EFEITOS DA *Spirulina maxima*
NO DESENVOLVIMENTO DE *Solanum lycopersicum* E NA
COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA**

**Discente: Carlos Daniel Nazareno Ferrão
Orientador: Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro**

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

F373i

Ferrão, Carlos Daniel Nazareno

Investigação sobre os efeitos da *Spirulina maxima* no desenvolvimento de *Solanum lycopersicum* e na composição da microbiota rizosférica / Carlos Daniel Nazareno Ferrão. -- Jaboticabal, 2025
81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal
Orientador: Daniel Guariz Pinheiro

1. Metataxonômica. 2. Bioinformática. 3. Cianobactéria. 4. Tomate. 5. Agricultura sustentável. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INVESTIGAÇÃO SOBRE OS EFEITOS DA *Spirulina maxima* NO DESENVOLVIMENTO DE *Solanum lycopersicum* E NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA

AUTOR: CARLOS DANIEL NAZARENO FERRÃO

ORIENTADOR: DANIEL GUARIZ PINHEIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
DANIEL GUARIZ PINHEIRO
Data: 06/03/2025 17:38:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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



Documento assinado digitalmente
ANA TERESA LOMBARDI
Data: 06/03/2025 17:25:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. ANA TERESA LOMBARDI (Participação Virtual)
Departamento de Botânica / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - UFSCar - São Carlos



Documento assinado digitalmente
EVERLON CID RIGOBELLO
Data: 06/03/2025 17:35:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Presencial)
Departamento de Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 06 de março de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Carlos Daniel Nazareno Ferrão, nascido em 20 de março de 2000, no município de Balsas, Maranhão, filho de Elizabeth Barros Nazareno e Valmor Luiz Ferrão. Graduou-se como Bacharel em Ciência e Tecnologia (2017-2020) pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – Câmpus de Balsas, onde, sob a orientação do Prof. Dr. Anderson Alles de Jesus, desenvolveu o trabalho de conclusão de curso (TCC) intitulado “Visão Computacional Aplicada à Classificação de Espécies Vegetais Nativas do Cerrado”. Posteriormente, formou-se em Engenharia Ambiental (2020-2022), também pela UFMA, com o TCC intitulado “Uso Potencial do Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* na Remediação Ambiental de Fungos”, sob a orientação da Profa. Dra. Débora Batista Pinheiro Sousa. Atualmente, é mestrando no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), sob a orientação do Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro. Desde março de 2023, desenvolve o projeto de pesquisa intitulado “Investigação sobre os efeitos da *Spirulina maxima* no desenvolvimento de *Solanum lycopersicum* e na composição da microbiota rizosférica”, que culmina na elaboração deste documento.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Elizabeth, à minha irmã, Tayara, e ao meu namorado, Adrian, por estarem sempre ao meu lado, oferecendo apoio, motivação e força nos momentos mais desafiadores desta trajetória.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/Unesp), pelo acolhimento e pela estrutura que contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro, pela orientação atenta, pelos conhecimentos compartilhados e por confiar no meu potencial durante todo o percurso.

Aos colegas do Laboratório de Bioinformática, Lucas, Michelli, Felipe, Andrea e Gabriela, pela colaboração nas análises e pela convivência agradável, que tornaram este período mais leve.

Aos professores e colaboradores do Departamento de Biotecnologia, que estiveram sempre dispostos a auxiliar nas necessidades que surgiram ao longo desta pesquisa.

Meus sinceros agradecimentos!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Portanto, agradeço-os pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS GERAIS	4
2.1. Objetivos específicos	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1. Características Gerais, Perfil Bioquímico e Aplicações da <i>Spirulina</i>	5
3.1.1. Perfil Bioquímico da <i>Spirulina</i>	6
3.1.2. Aplicações da Biomassa da <i>Spirulina</i>	8
3.2. Características Gerais do Tomate	9
3.3. Microrganismos Associados ao Solo	11
3.4. Abordagem Metataxonômica	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Material vegetal e desenho experimental	17
4.2. Informações dos tratamentos	18
4.3. Determinação dos parâmetros biométricos das plantas	21
4.4. Extração e sequenciamento de amplicons do gene 16S rRNA	21
4.5. Processamento dos dados de sequenciamento	22
4.5.1. Controle de qualidade	23
4.5.2. Fusão dos pares das leituras	24
4.5.3. Obtenção de Variantes de Sequências de Amplicons (ASVs)	24
4.5.4. Designação taxonômica e filtragem de ASVs	25
4.6. Análise do microbioma	25
4.6.1. Diversidade e táxons diferenciais	25
4.6.2. Análise de correlação e redes de coocorrência	26
4.6.3. Predição funcional	27
4.7. Análise estatística	27
5. RESULTADOS	28
5.1. Parâmetros biométricos e pigmentos	28
5.2. Processamento dos dados de sequenciamento	31
5.3. Perfis taxonômicos	31

5.4. Diversidade microbiana	35
5.5. Abundância diferencial.....	37
5.6. Estrutura das redes de coocorrência	39
5.7. Perfis funcionais	41
6. DISCUSSÃO	44
7. CONCLUSÕES	49
8. REFERÊNCIAS	51
APÊNDICES.....	62

INVESTIGAÇÃO SOBRE OS EFEITOS DA *Spirulina maxima* NO DESENVOLVIMENTO DE *Solanum lycopersicum* E NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA

RESUMO – A microbiota associada às plantas desempenha um papel crucial no crescimento das plantas e na tolerância ao estresse através de interações simbióticas. No entanto, as práticas agrícolas convencionais, com uso excessivo de agroquímicos, têm impactado essa microbiota, destacando a necessidade de alternativas sustentáveis. Nesse contexto, a biomassa de cianobactérias surge como uma solução em potencial, oferecendo compostos bioativos e nutrientes que beneficiam a agricultura. Este estudo avalia os efeitos da biomassa de *Spirulina maxima* como um bioestimulante sustentável no crescimento de plantas de tomate e nas comunidades microbianas da rizosfera. Um experimento em casa de vegetação foi conduzido usando três concentrações de *Spirulina maxima* ($0,5 \text{ g L}^{-1}$, $1,0 \text{ g L}^{-1}$ e $2,0 \text{ g L}^{-1}$), juntamente com um grupo controle. Parâmetros biométricos, pigmentos fotossintéticos, propriedades químicas do solo e diversidade microbiana foram avaliados através do sequenciamento de nova geração de amplicons do gene 16S rRNA (região V4). Os resultados demonstraram um aumento significativo dependente da dose nos parâmetros de crescimento das plantas, com o tratamento de $2,0 \text{ g L}^{-1}$ proporcionando os maiores aumentos na biomassa da parte aérea e das raízes, número de folhas e níveis de pigmentos. A biomassa de *S. maxima* em altas concentrações aumentou a conectividade das redes bacterianas, favorecendo interações positivas e maior resiliência. No entanto, reduziu a diversidade de ASVs e suprimiu algumas famílias bacterianas. Esses efeitos indicam que a biomassa da cianobactéria favoreceu o crescimento das plantas por meio do incremento nutricional do meio, que estimulou a formação de uma rede microbiana mais bem conectada e menos centrada em poucos membros. Estudos adicionais são necessários, incluindo maior cobertura do gene 16S, uso do ITS para fungos e sequenciamentos mais extensos. Apesar do potencial como bioestimulante, sua aplicação exige cautela e mais pesquisas para otimizar seu uso e mitigar impactos ecológicos.

Palavras-chave: Bioestimulante, biomassa de cianobactéria, 16s, crescimento de tomate, microbioma do solo, agricultura sustentável

INVESTIGATION ON THE EFFECTS OF *Spirulina maxima* ON THE GROWTH OF *Solanum lycopersicum* AND THE COMPOSITION OF THE RHIZOSPHERE MICROBIOTA

ABSTRACT – The plant-associated microbiota plays a crucial role in plant growth and stress tolerance through symbiotic interactions. However, conventional agricultural practices, with excessive agrochemical use, have impacted this microbiota, highlighting the need for sustainable alternatives. In this context, cyanobacterial biomass emerges as a potential solution, offering bioactive compounds and nutrients that benefit agriculture. This study evaluates the effects of *Spirulina maxima* biomass as a sustainable biostimulant on tomato plant growth and rhizosphere microbial communities. A greenhouse experiment was conducted using three concentrations of *Spirulina maxima* (0.5 g L⁻¹, 1.0 g L⁻¹, and 2.0 g L⁻¹), along with a control group. Biometric parameters, photosynthetic pigments, soil chemical properties, and microbial diversity were assessed through next-generation sequencing of 16S rRNA gene amplicons (V4 region). The results showed a significant dose-dependent increase in plant growth parameters, with the 2.0 g L⁻¹ treatment providing the highest increases in shoot and root biomass, leaf number, and pigment levels. High concentrations of *S. maxima* biomass enhanced bacterial network connectivity, promoting positive interactions and greater resilience. However, it reduced ASV diversity and suppressed some bacterial families. These effects indicate that the cyanobacterial biomass promoted plant growth by enhancing the nutrient content of the environment, which stimulated the formation of a better-connected microbial network that was less centered on a few members. Additional studies are needed, including greater coverage of the 16S gene, the use of ITS for fungi, and more extensive sequencing. Despite its potential as a biostimulant, its application requires caution and further research to optimize its use and mitigate ecological impacts.

Keywords: Biostimulant, cyanobacterial biomass, 16s, tomato growth, soil microbiome, sustainable agriculture

LISTA DE ABREVIATURAS

16S rRNA	Menor subunidade ribossomal
ITS	"Internal Transcribed Spacer"; Espaçadores Internos Transcritos
ASV	"Amplicon Sequence Variant"; Variantes de Sequências de Amplicons
OTU	"Operational Taxonomic Unit"; Unidade Taxonômica Operacional
NGS	"Next Generation Sequencing"; Sequenciamento de Nova Geração
MAA	Aminoácidos semelhantes à micosporina
NRPS	Sintases peptídicas não ribossômicas
PKS	Sintases de policetídeos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
PCR	"Polymerase Chain Reaction"; Reação em Cadeia da Polimerase
CCS	Sequenciamento de consenso circular
CTRL	Controle; Ausência de <i>Spirulina maxima</i>
SM05	Tratamento que recebeu 0,5 g L ⁻¹ de <i>Spirulina maxima</i>
SM10	Tratamento que recebeu 1,0 g L ⁻¹ de <i>Spirulina maxima</i>
SM20	Tratamento que recebeu 2,0 g L ⁻¹ de <i>Spirulina maxima</i>
ChlA	Clorofila a
ChlB	Clorofila b
Car	Carotenóide
ShootFW	Peso fresco da parte aérea
ShootDW	Peso seco da parte aérea
RootFW	Peso fresco da raiz
RootDW	Peso seco da raiz
ShootL	Comprimento da parte aérea
RootL	Comprimento da raiz
PCA	"Principal Component Analysis"; Análise de Componentes Principais
PCoA	"Principal Coordinates Analysis"; Análise de Coordenadas Principais
PGPT	"Plant Growth Promotion Traits"; Traços de Promoção de Crescimento Vegetal

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas da mistura de solo orgânico com vermiculita utilizada nas bandejas e vasos experimentais.....	18
Tabela 2. Características químicas da biomassa seca da cianobactéria <i>Spirulina maxima</i> utilizada no experimento.....	19
Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros biométricos e pigmentos dos tratamentos aplicados às mudas de tomate.	28
Tabela 4. Contagens de leituras antes e após o pipeline de processamento (Dados Brutos e Processados), ASVs totais obtidas e Filtradas para o controle (CTRL) e tratamentos com <i>Spirulina maxima</i> (SM05, SM10 e SM20).	31
Tabela 5. Métricas de diversidade alfa (Richness, Shannon e Gini-Simpson) para o controle (CTRL) e tratamentos com <i>Spirulina maxima</i> (SM05, SM10 e SM20). Letras sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	35
Tabela 6. Resultados do teste post-hoc pareado de PERMANOVA, usando a métrica de dissimilaridade Weighted UniFrac. Comparações com $p < 0,05$ indicam diferenças significativas entre os tratamentos: controle (CTRL) e <i>Spirulina maxima</i> (SM05, SM10 e SM20).	36
Tabela 7. Métricas topológicas das redes de coocorrência microbiana na rizosfera de plantas de tomate para os tratamentos CTRL, SM05, SM10 e SM20. Letras sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do fluxo de trabalho do experimento.	20
Figura 2. Fluxograma das etapas de processamento de dados.	23
Figura 3. (A) Heatmap mostrando a variação dos parâmetros biométricos e pigmentos entre os tratamentos. O dendrograma foi gerado utilizando o método de Ward. (B) Imagens das mudas de tomate representativas após 21 dias sob diferentes tratamentos: (i) SM20, (ii) SM10, (iii) SM05 e (iv) CTRL. (C) Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando a distribuição dos tratamentos com base nos parâmetros medidos.	30
Figura 4. (A) Heatmap mostrando a variação dos parâmetros biométricos e pigmentos entre os tratamentos. (B) Imagens das mudas de tomate representativas após 21 dias sob diferentes tratamentos: (i) SM20, (ii) SM10, (iii) SM05 e (iv) CTRL. Os dendrogramas foram gerados utilizando o método de Ward. (C) Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando a distribuição dos tratamentos com base nos parâmetros medidos.	33
Figura 5. Heatmap de correlação de Pearson (r) entre os (A) 10 filos mais abundantes e (B) 50 famílias bacterianas mais abundantes com parâmetros biométricos e pigmentos. Asteriscos indicam correlações significativas ($p < 0,05$).	34
Figura 6. (A) Índices Richness e diversidade de Shannon e Gini-Simpson. (B) Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada nas distâncias UniFrac ponderadas e dispersão beta, representando a variabilidade entre os tratamentos.....	36
Figura 7. Gráficos de abundância diferencial destacando as principais famílias bacterianas alteradas em cada tratamento com <i>Spirulina maxima</i> em comparação com o controle (CTRL). (A) Comparação entre SM05 ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) e controle. (B) Comparação entre SM10 ($1,0 \text{ g L}^{-1}$) e controle. (C) Comparação entre SM20 ($2,0 \text{ g L}^{-1}$) e controle.	38
Figura 8. (A) Redes de coocorrência das famílias bacterianas para os tratamentos CTRL, SM05, SM10 e SM20. Os nós são coloridos por filo, e as linhas indicam correlações positivas (vermelho) ou negativas (azul). Além disso os asteriscos indicam táxons-chave. (B) Métricas topológicas das redes (<i>Degree</i> , <i>Betweenness</i> e <i>Closeness</i>) entre os tratamentos, com diferenças significativas avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).	40
Figura 9. (A) Análise de expressão diferencial de ortólogos KEGG sob condições de controle e tratadas com diferentes concentrações de <i>Spirulina maxima</i> (SM05, SM10, SM20). (B) Distribuição funcional de ortólogos relacionados a características promotoras de crescimento de plantas (PGPTs) identificadas pelo PLaBase.....	43

1. INTRODUÇÃO

As cianobactérias têm desempenhado um papel crucial no ecossistema global por milhões de anos, sendo um dos mais antigos grupos de organismos fotoautotróficos produtores de oxigênio. Sua capacidade de enfrentar mudanças constantes e, por vezes, severas no ambiente levou-as a desenvolver um perfil bioquímico notavelmente variado (de Moraes *et al.*, 2015). Como resultado, seus extratos contêm uma ampla gama de compostos bioativos, moléculas sinalizadoras, macronutrientes e micronutrientes (Mógor *et al.*, 2018). Sua multifuncionalidade tem trazido benefícios diretos e indiretos para humanos, animais e plantas cultivadas (Hachicha *et al.*, 2022; Supraja *et al.*, 2020).

Fenólicos, terpenoides, ácidos graxos livres, polissacarídeos, vitaminas e fitormônios compõem o extenso perfil bioquímico das cianobactérias (Singh *et al.*, 2017) e estão diretamente relacionados aos efeitos positivos observados no crescimento, rendimento e resistência das culturas fertilizadas com sua biomassa, como o tomate (*Solanum lycopersicum*; Mutale-joan *et al.*, 2020), uma das plantas de cultivo mais importantes devido à sua facilidade de propagação e curto ciclo de vida (Goel *et al.*, 2011). Esses metabólitos podem promover processos como respiração, fotossíntese, produção de clorofila, síntese de ácidos nucleicos e absorção de íons, além de aumentar a retenção de água e estimular a formação de antioxidantes (Górka *et al.*, 2018). A *Spirulina*, por exemplo, oferece uma via sustentável para a melhoria da fertilidade do solo. Além de ser prontamente disponível e não tóxica para o meio ambiente (Kumar; Mehta, 2023), podem contribuir de forma relevante como substrato para comunidades microbianas na rizosfera, que ao mineralizar a biomassa suplementada, disponibiliza nutrientes para o crescimento das plantas (Ranjan *et al.*, 2016; Spanoghe *et al.*, 2020).

A introdução de produtos sintéticos, como hidrocarbonetos, pesticidas, solventes, sais e metais pesados no solo, pode alterar a estrutura das comunidades microbianas e reduzir as funções elas exercem no ecossistema (Banerjee *et al.*, 2019; Griffiths; Philippot, 2013), além de comprometer a qualidade e quantidade de matéria orgânica incorporada ao solo (FAO, 2018). Nesse contexto, é essencial implementar estratégias de manejo que promovam sistemas agrícolas sustentáveis. A transição

para alternativas biológicas é uma resposta à necessidade urgente de reduzir o impacto ambiental e os custos econômicos do uso intensivo de fertilizantes químicos, mas determinar os impactos do manejo agrícola na diversidade microbiana é uma tarefa complexa.

Chaudhry *et al.* (2012) observaram que o manejo orgânico, que inclui o uso de insumos biológicos e a redução, ou eliminação, de insumos químicos, está intimamente relacionado a uma maior diversidade. Hartmann *et al.* (2015) relataram que o microbioma de solos manejados convencionalmente apresenta menor riqueza e diversidade de táxons em comparação ao manejo orgânico. Wagg *et al.* (2014) observaram que uma diversidade microbiana maior promove uma funcionalidade ecossistêmica aprimorada ao favorecer interações complexas e positivas entre diferentes níveis tróficos. Isso resulta em uma comunidade estável e em maior capacidade de manter processos essenciais, como o ciclo de nutrientes e a decomposição da matéria orgânica, elementos críticos para o desempenho e a multifuncionalidade do ecossistema.

Com o surgimento de abordagens independentes de cultivo, o acesso às comunidades microbianas tem se ampliado. Tecnologias de sequenciamento de alto rendimento, como o *Next-Generation Sequencing* (NGS), têm se mostrado ferramentas eficazes na investigação dessas comunidades (Turner; James; Poole, 2013). A metataxonômica, uma abordagem da metagenômica voltada à caracterização da diversidade microbiana, permite o estudo de comunidades microbianas por meio da extração, amplificação e sequenciamento de regiões gênicas conservadas, conhecidas como marcadores filogenéticos (Deiner *et al.*, 2017; Shokralla *et al.*, 2012). Essa abordagem elimina a necessidade de isolar microrganismos e revela uma diversidade superior à esperada em amostras edáficas e rizosféricas (Lagos *et al.*, 2015). O avanço das tecnologias NGS tem proporcionado um aumento significativo na qualidade e na quantidade dos dados sobre a diversidade taxonômica e funcional dos microrganismos associados às plantas (Heijden; Hartmann, 2016). Com isso, torna-se possível compreender mais profundamente as interações simbióticas que ocorrem entre comunidades microbianas e plantas hospedeiras.

Considerando a importância das cianobactérias, como as do gênero *Spirulina*, exploramos sua aplicação como bioestimulante. Com um perfil bioquímico diversificado e a capacidade de fortalecer a comunidade microbiana do solo, essas cianobactérias podem impactar significativamente a fertilidade do solo e o desenvolvimento das plantas. Diante disso, formulamos a hipótese de que a aplicação da biomassa de *Spirulina maxima* influencia diretamente a diversidade e a funcionalidade das comunidades microbianas do solo, além de promover benefícios ao crescimento do tomate, material vegetal utilizado neste estudo. Para testar essa hipótese, buscamos responder às seguintes questões:

- Qual é o impacto da biomassa seca de *Spirulina maxima* no desenvolvimento do tomate?
- Que alterações esse insumo causa na composição e a diversidade taxonômica da microbiota rizosférica em comparação aos solos controle?
- Quais grupos microbianos específicos são mais influenciados pela aplicação dessa biomassa?
- Como as mudanças na microbiota rizosférica se correlacionam com os parâmetros de crescimento do tomate?
- A aplicação da biomassa dessa cianobactéria impacta os processos funcionais da microbiota?

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo teve como objetivo investigar como diferentes concentrações da biomassa da cianobactéria *Spirulina maxima* podem influenciar a composição e a dinâmica da comunidade microbiana associada à rizosfera do tomate (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), por meio da abordagem metataxonômica baseada no sequenciamento do marcador taxonômico 16S rRNA (região V4), além do desenvolvimento das plantas.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar o potencial da biomassa seca da *Spirulina maxima* no crescimento de plantas de tomate, considerando parâmetros biométricos (e.g., comprimento, peso e quantidade de folhas) e teores de pigmentos;
- Avaliar a composição da comunidade microbiana associada à rizosfera do tomate após sua fertilização, pela *Spirulina*, por meio da análise do gene marcador taxonômico 16S rRNA (região V4);
- Analisar as variações em riqueza e diversidade microbiana em função dos tratamentos;
- Identificar táxons diferencialmente abundantes entre os tratamentos;
- Verificar como as relações dentro da comunidade microbiana foram modificadas em função da concentração dessa biomassa;
- Verificar, entre os grupos microbianos encontrados, o enriquecimento ou depleção de características promotoras de crescimento vegetal.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Características Gerais, Perfil Bioquímico e Aplicações da *Spirulina*

As cianobactérias, entre os primeiros organismos fotossintéticos da Terra, são caracterizadas por sua estrutura procariótica, desprovida de organelas delimitadas por membranas. Sua morfologia varia de formas unicelulares a filamentosas, com algumas espécies exibindo células especializadas como heterocistos para fixação de nitrogênio. O gênero *Spirulina*, também conhecido como *Arthrospira*, distingue-se por seus tricomas helicoidais, que são filamentos multicelulares dispostos em uma espiral apertada. Esses tricomas, tipicamente com 200-500 µm de comprimento, não possuem bainhas e exibem motilidade deslizante, permitindo otimizar a absorção de luz em ambientes aquáticos (Ciferri, 1983). A morfologia helicoidal da *Spirulina* não é meramente estrutural, mas também uma adaptação ecológica, reduzindo a sedimentação e aumentando a flutuabilidade nas colunas de água.

As cianobactérias pertencem ao domínio Bacteria, filo Cyanobacteria, com a *Spirulina* historicamente classificada na família *Oscillatoriaceae*. No entanto, análises filogenéticas moleculares esclareceram seu posicionamento dentro do gênero *Arthrospira*, embora o termo *Spirulina* permaneça amplamente utilizado em contextos comerciais e ecológicos. A reclassificação foi impulsionada por diferenças genéticas e estruturais, como a presença de vacúolos de gás e perfurações nas paredes transversais em *Arthrospira*, que a distinguem de gêneros relacionados (Komárek *et al.*, 2014).

A origem evolutiva das cianobactérias remonta a aproximadamente 2,7-3,5 bilhões de anos, com evidências fósseis de estromatólitos indicando seu papel na oxigenação da atmosfera terrestre. A linhagem da *Spirulina* provavelmente divergiu posteriormente, adaptando-se a ambientes extremos como lagos alcalinos. Estudos genômicos sugerem que eventos de transferência gênica horizontal contribuíram para sua versatilidade metabólica, incluindo genes para transportadores de bicarbonato e proteínas responsivas ao estresse, facilitando a colonização de habitats com alto pH (Schirmer *et al.*, 2013).

A *Spirulina* prospera em ambientes com alto pH (9-11) e salinos, empregando bicarbonato como sua fonte principal de carbono através de mecanismos de concentração de carbono. Seu aparato fotossintético inclui ficobilissomos ricos em ficocianina, um pigmento azul que maximiza a captação de luz em condições de baixa intensidade. A fixação de nitrogênio ocorre em ambientes limitados em nitrogênio, embora a *Spirulina* prefira assimilar nitrato ou amônio quando disponíveis (Vonshak, 1997).

Fatores ambientais como intensidade luminosa, temperatura e disponibilidade de nutrientes influenciam profundamente o crescimento da *Spirulina*. O crescimento ótimo ocorre entre 35-37 °C e intensidades de luz de 20-30 μmol fótons/ m^2/s , embora apresente fotoinibição em níveis mais elevados. Concentrações elevadas de bicarbonato ($\geq 0,2$ M) são essenciais para manter sua morfologia espiral e prevenir o endireitamento dos filamentos, uma resposta ao estresse observada sob limitação de nutrientes (Belay, 2007).

O cultivo da *Spirulina* geralmente utiliza tanques abertos com agitação por roda de pás para garantir mistura e exposição à luz. Os meios de crescimento são alcalinos (pH ~9,5) e enriquecidos com bicarbonato de sódio, nitrato e metais traço. A produtividade pode alcançar 10-20 $\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ em condições ideais, embora a contaminação por algas ou predadores exija gerenciamento cuidadoso (Habib *et al.*, 2008). Avanços recentes no design de fotobiorreatores aumentaram o rendimento de biomassa e a consistência bioquímica, especialmente para aplicações farmacêuticas (Costa; Collado; Filho, 2004).

3.1.1. Perfil Bioquímico da *Spirulina*

As espécies de *Spirulina* destacam-se por sua diversidade de pigmentos, proteínas, lipídios e metabólitos secundários. A clorofila a é o pigmento fotossintético primário, com concentrações que variam de 0,8 a 1,5% do peso seco, enquanto pigmentos acessórios incluem ficocianina (8-15% do peso seco) e aloficocianina, que contribuem para sua coloração azul-esverdeada distintiva (Belay, 2007). Carotenoides como β -caroteno, zeaxantina e echinenona também estão presentes, embora em quantidades menores (0,2-0,5% do peso seco), e atuam principalmente na

fotoproteção e na captura de luz. O alto teor de ficocianina, uma ficobiliproteína exclusiva das cianobactérias, é estabilizado por resíduos de cisteína ligados a cromóforos e serve tanto como complexo coletor de luz quanto como composto de armazenamento de nitrogênio (Rastogi; Sinha, 2009),

O conteúdo proteico da *Spirulina* é substancial, constituindo 60-70% de sua biomassa seca, com um perfil de aminoácidos que inclui todos os aminoácidos essenciais (Belay, 2007). As principais proteínas incluem ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (RuBisCO), uma enzima-chave no ciclo de Calvin, e ficocianina. A composição de aminoácidos é dominada por ácido glutâmico (12-15% dos aminoácidos totais), ácido aspártico (8-10%) e leucina (7-9%), enquanto aminoácidos contendo enxofre, como metionina e cisteína, estão presentes em proporções menores (<2%). O teor de lipídios é relativamente baixo (5-10% do peso seco), com glicolipídeos e fosfolipídeos como principais constituintes das membranas (Cohen; Vonshak, 1991). O perfil de ácidos graxos é dominado por ácido γ -linolênico, ácido palmítico e ácido linoleico, com ácidos graxos insaturados compondo 40-50% dos lipídios totais.

Os carboidratos na *Spirulina* representam 15-25% da biomassa seca e consistem principalmente em polissacarídeos semelhantes ao glicogênio e componentes estruturais, como ramnose, glucosamina e ácido murâmico na parede celular (Belay, 2007). Os polissacarídeos extracelulares, que incluem açúcares sulfatados, apresentam alto peso molecular e solubilidade, contribuindo para a bainha mucilagínosa do organismo. A *Spirulina* também sintetiza vitaminas, incluindo B₁₂ (cobalamina), embora persistam debates sobre sua biodisponibilidade devido à presença de análogos da pseudovitamina B₁₂ (Watanabe *et al.*, 2002). O teor mineral varia com as condições de cultivo, mas tipicamente inclui ferro (50-100 mg/100 g), cálcio (70-150 mg/100 g) e magnésio (200-400 mg/100 g), acumulados via transportadores de íons regulados pela disponibilidade ambiental.

Os metabólitos secundários da *Spirulina* englobam uma variedade de compostos bioativos, incluindo aminoácidos do tipo micosporina (MAAs), como shinorina e porphyra-334, que absorvem radiação UV e mitigam o estresse oxidativo (Rastogi; Sinha, 2009). A scytonemina, um alcaloide indólico dimérico, é sintetizada

sob alta exposição a UV, aprimorando ainda mais a fotoproteção. O genoma da *Spirulina* codifica sintases de peptídeos não ribossomais (NRPS) e sintases de policetídeos (PKS), permitindo a produção de peptídeos cíclicos e policetídeos, embora seus papéis ecológicos permaneçam pouco estudados. Notavelmente, a *Spirulina* não possui heterócitos e não fixa nitrogênio atmosférico, dependendo da assimilação de nitrato e amônio através das vias da glutamina sintetase e da nitrato redutase (Vonshak, 1997).

3.1.2. Aplicações da Biomassa da *Spirulina*

A *Spirulina*, uma cianobactéria filamentosa, tem atraído significativa atenção na pesquisa agrícola por seu potencial como biofertilizante. Sua aplicação na agricultura baseia-se em sua rica composição de macronutrientes, micronutrientes e compostos bioativos, que contribuem para a saúde do solo e o crescimento das plantas. Estudos demonstraram que a biomassa de *Spirulina*, quando aplicada ao solo ou como pulverização foliar, aumenta a disponibilidade de nutrientes, particularmente nitrogênio e fósforo, que são críticos para o desenvolvimento das plantas (Garcia-Gonzalez; Sommerfeld, 2016).

Além do fornecimento de nutrientes, a *Spirulina* melhora a estrutura do solo e a atividade microbiana. Sua matriz extracelular rica em polissacarídeos atua como condicionador do solo, e pode aumentar a retenção de água e a agregação, especialmente em solos degradados ou áridos (Rossi *et al.*, 2017). Isso é crucial na mitigação da erosão do solo e no aumento da resiliência das culturas à seca. Além disso, os exopolissacarídeos da *Spirulina* estimulam microrganismos benéficos do solo, ao fomentar relações simbióticas que melhoram a ciclagem de nutrientes e a decomposição da matéria orgânica (Prasanna *et al.*, 2013).

A *Spirulina* também pode desempenhar um papel na mitigação do estresse abiótico em plantas. Aplicações de extratos de *Spirulina* demonstraram reduzir o estresse e melhorar a produção do feijoeiro cultivado em solo salino contaminado com metais pesados (Rady *et al.*, 2023). Essas propriedades de alívio do estresse são atribuídas a compostos bioativos como ficobiliproteínas e betaínas, que neutralizam espécies reativas de oxigênio e estabilizam membranas celulares (El Habbasha,

2014). Adicionalmente, o conteúdo de ferro e zinco da *Spirulina* pode abordar deficiências de micronutrientes em plantas cultivadas em solos pobres, o que melhora indiretamente a qualidade das culturas sem a necessidade de modificação genética (Garcia-Gonzalez; Sommerfeld, 2016).

A integração da *Spirulina* em sistemas agrícolas está alinhada com os princípios da economia circular, pois pode ser cultivada utilizando águas residuais ou emissões industriais de CO₂, reduzindo os custos de produção e o impacto ambiental (Markou *et al.*, 2018). Ensaio de campo em regiões semiáridas destacaram sua viabilidade como biofertilizante de baixo custo, com aumentos de produtividade comparáveis aos fertilizantes convencionais, mas com impactos ecológicos reduzidos (Koru, 2012). No entanto, desafios relacionados à escalabilidade, incluindo custos de produção de biomassa e padronização de aplicações, requerem pesquisas adicionais para otimizar seu uso agrícola (Markou *et al.*, 2018).

3.2. Características Gerais do Tomate

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das culturas hortícolas mais cultivadas e consumidas globalmente, valorizado por seu conteúdo nutricional e versatilidade culinária. A planta do tomate é uma perene herbácea tipicamente cultivada como anual, caracterizada por um sistema de brotos composto com um caule principal, folhas compostas dispostas em espiral e um sistema radicular fibroso (Knapp; Peralta, 2016). A planta tem hábitos de crescimento determinado ou indeterminado, o primeiro cessa o crescimento após a floração e o último, continua o crescimento vegetativo ao longo da estação. Suas flores são tipicamente amarelas, pentâmeras e autopolinizantes, desenvolvem-se em bagas carnudas (botanicamente classificadas como frutos) que podem variar em tamanho, forma e cor – desde tomates cereja até variedades tipo "coração de boi", com o vermelho sendo o mais comum devido ao acúmulo de licopeno (Rao; Rao, 2007).

Os tomates pertencem à família *Solanaceae*, que inclui espécies economicamente importantes como batatas, pimentões e berinjelas. Historicamente classificados sob o gênero *Lycopersicon*, estudos filogenéticos moleculares reclassificaram os tomates sob *Solanum*, o que enfatiza sua estreita relação genética

com outras solanáceas (Peralta; Spooner, 2001). O nome da espécie *lycopersicum* reflete sua etimologia "pêssego-do-lobo", ligada às percepções europeias iniciais da planta. A evolução e domesticação dos tomates remontam aos ancestrais selvagens na região andina da América do Sul, particularmente *Solanum pimpinellifolium*, um parente silvestre de fruto vermelho (Blanca *et al.*, 2015). A domesticação provavelmente ocorreu na Mesoamérica há cerca de 2.500 anos, onde houve seleção para frutos maiores e mais doces.

Análises genômicas revelam que as cultivares modernas passaram por gargalos significativos, o que ocasionou a perda da diversidade genética em comparação com os parentes selvagens – um desafio para programas de melhoramento que abordam a resiliência climática (Bai; Lindhout, 2007). Os tomates são diploides, com 12 cromossomos, e seu genoma, totalmente sequenciado em 2012, facilitou avanços no mapeamento de características, aprimoramento da resistência a doenças e a qualidade dos frutos (Sato *et al.*, 2012). Genes-chave, como RIN (inibidor do amadurecimento) e SUN (controlador da forma do fruto), têm sido fundamentais na compreensão da regulação do desenvolvimento (Xiao *et al.*, 2008).

Os tomates realizam fotossíntese C3, com eficiência metabólica influenciada pela arquitetura foliar e condutância estomática. A absorção de nutrientes, particularmente nitrogênio e potássio, é crítica para o desenvolvimento dos frutos, enquanto a regulação hormonal – especialmente a biossíntese de etileno – “orquestra” o amadurecimento (Klee; Giovannoni, 2011). O crescimento ideal ocorre entre 20-30 °C (temperaturas acima de 35 °C podem prejudicar a viabilidade do pólen), e a exposição à luz solar, 6-8 horas diárias (Abdelmageed; Gruda; Geyer, 2004). A disponibilidade de água deve equilibrar o estresse hídrico, que reduz o rendimento, e o excesso de irrigação, que promove doenças radiculares; estudos destacam a eficácia da irrigação por gotejamento em melhorar a eficiência do uso da água sob variabilidade climática (Zegbe-Domínguez *et al.*, 2004).

As práticas de cultivo variam de sistemas em campo aberto a ambientes controlados de cultivo hidropônico, com propagação principalmente por sementes, embora a enxertia em porta-enxertos resistentes a doenças seja cada vez mais comum (Lee *et al.*, 2010). O desenvolvimento do tomateiro progride através da

germinação (5-10 dias após a semeadura), crescimento vegetativo (4-6 semanas), floração (desencadeada pelo fotoperíodo e temperatura), frutificação e maturação. O amadurecimento dos frutos envolve a transição de cloroplastos para cromoplastos, degradação da clorofila e acúmulo de carotenoides, modulados por fatores ambientais e genéticos (Barry; Giovannoni, 2007). Compreender essas fases auxilia na agricultura de precisão, otimizando o tempo de colheita e a alocação de recursos.

3.3. Microrganismos Associados ao Solo

Os microrganismos do solo formam uma das comunidades mais complexas e diversificadas do planeta, desempenhando um papel essencial na manutenção dos ecossistemas terrestres. Sua distribuição e diversidade são influenciadas por gradientes ambientais, localização geográfica e pela heterogeneidade dos microhabitats. Estudos indicam que comunidades bacterianas e fúngicas seguem padrões biogeográficos distintos, com fatores como pH, temperatura e disponibilidade de carbono orgânico sendo os principais reguladores da diversidade microbiana (Fierer; Jackson, 2006). Análises metagenômicas mostram que um único grama de solo pode conter milhares de espécies microbianas, incluindo bactérias, arqueias, fungos e protistas, que coexistem em redes ecológicas altamente complexas (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018). Essa diversidade não é aleatória, mas resultado de processos evolutivos que levaram à especialização metabólica e genética. A transferência horizontal de genes e a adaptação a nichos específicos permitiram que esses microrganismos prosperassem em ambientes extremos, conferindo-lhes versatilidade em processos como fixação de carbono, ciclagem de nitrogênio e resistência ao estresse (Torsvik; Øvreås, 2002).

A composição dos microrganismos do solo varia amplamente entre os ecossistemas, sendo as bactérias geralmente predominantes em biomassa e atividade. Entre os filos bacterianos mais abundantes estão Proteobacteria, Actinobacteria e Acidobacteria, enquanto os fungos são representados principalmente por Ascomycota e Basidiomycota (Lynch; Neufeld, 2015). Embora menos abundantes, as arqueias têm um papel crucial na oxidação da amônia em muitos solos (Lehtovirta-Morley, 2018). Apesar dos avanços em técnicas de sequenciamento, uma grande

parcela dos microrganismos do solo ainda não pode ser cultivada em laboratório, com estimativas sugerindo que menos de 1% das espécies microbianas podem ser isoladas com métodos tradicionais (Amann; Ludwig; Schleifer, 1995). Esse fenômeno, conhecido como a "grande anomalia da contagem em placa", evidencia as limitações das técnicas de cultura convencionais e destaca a necessidade de abordagens inovadoras, como a metagenômica, para explorar essa "matéria escura microbiana" (Steen *et al.*, 2019).

O potencial biotecnológico dos microrganismos do solo abrange desde a produção de antibióticos até a descoberta de novas enzimas e aplicações em biorremediação. Espécies do gênero *Streptomyces*, por exemplo, são responsáveis por mais de dois terços dos antibióticos utilizados na medicina, enquanto microrganismos extremófilos fornecem enzimas estáveis sob condições industriais rigorosas (Berdy *et al.*, 2017). Ecologicamente, os microrganismos do solo desempenham funções essenciais como decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e sequestro de carbono. Fungos micorrízicos aumentam a absorção de fósforo pelas plantas, enquanto bactérias fixadoras de nitrogênio reduzem a dependência de fertilizantes sintéticos (Philippot *et al.*, 2013). Essas funções estão intimamente ligadas às características físico-químicas do solo: o pH afeta a atividade enzimática, a disponibilidade de nutrientes influencia a composição microbiana e a textura do solo regula a disponibilidade de oxigênio e água (Fierer, 2017). Por exemplo, solos ácidos tendem a favorecer Acidobacteria, enquanto condições alcalinas promovem a predominância de Nitrospirae (Rousk *et al.*, 2010).

A vegetação também tem um impacto significativo sobre as comunidades microbianas do solo, influenciando-as por meio de exsudatos radiculares, qualidade da serapilheira e modificação do microclima. Florestas dominadas por árvores ectomicorrízicas sustentam comunidades fúngicas distintas daquelas encontradas em pastagens, onde prevalecem micorrizas arbusculares (Wardle *et al.*, 2004). Essas interações entre plantas e microrganismos sustentam relações simbióticas fundamentais, como a fixação de nitrogênio por rizóbios em leguminosas e a troca de nutrientes promovida por fungos micorrízicos, o que fortalece a resiliência dos ecossistemas (van der Heijden; Bardgett; van Straalen, 2008). Além disso, os microrganismos do solo desempenham um papel essencial na proteção das plantas

contra estresses ambientais, como secas e ataques de patógenos, por meio da indução de resistência sistêmica e da modulação de fitohormônios (Bakker; Pieterse; van Loon, 2007).

3.4. Abordagem Metataxonômica

O NGS revolucionou a análise de comunidades microbianas, com a abordagem metataxonômica emergindo como fundamental para o perfil da biodiversidade. A metataxonômica refere-se ao sequenciamento direcionado de genes marcadores filogenéticos, como o gene 16S rRNA em bactérias ou a região ITS em fungos, para caracterizar comunidades microbianas sem requerer o sequenciamento de genomas completos (Johnson *et al.*, 2019). Essa metodologia equilibra eficácia de custo com resolução taxonômica, permitindo estudos em larga escala de amostras ambientais, associadas a hospedeiros ou clínicas. Ao focar em regiões genômicas conservadas flanqueadas por sequências hipervariáveis, a metataxonômica permite aos pesquisadores inferirem relações filogenéticas e quantificar a diversidade microbiana entre amostras.

A coleta e o processamento de amostras são etapas iniciais críticas para garantir a precisão dos dados. Variações nos métodos de coleta – como swabs, filtros ou biópsias de tecido – introduzem vieses, tornando necessários protocolos padronizados adaptados ao tipo de amostra. Por exemplo, temperaturas inadequadas de armazenamento ou atrasos na estabilização podem alterar a composição microbiana. A homogeneização e remoção de detritos do hospedeiro ou do ambiente são igualmente vitais, especialmente em estudos associados a hospedeiros onde a biomassa microbiana pode ser baixa. Documentação rigorosa de variáveis pré-analíticas, incluindo conservantes e ciclos de congelamento e descongelamento, minimiza efeitos de confusão (Salter *et al.*, 2014).

A extração e purificação do DNA metagenômico devem acomodar diversas matrizes de amostras, como solo, água ou material fecal, cada uma apresentando desafios únicos na lise de células microbianas e na inibição de contaminantes. Kits comerciais otimizados para tipos específicos de amostras melhoram o rendimento e a pureza, embora persistam compromissos entre a quantidade e a qualidade do DNA.

Métodos de lise enzimática ou mecânica são frequentemente combinados para romper paredes celulares resistentes, como em bactérias Gram-positivas ou esporos. Inibidores como ácidos húmicos ou proteínas do hospedeiro exigem remoção por meio de colunas de sílica ou esferas magnéticas para garantir compatibilidade com aplicações subsequentes (Costea *et al.*, 2017).

A amplificação por PCR gera bibliotecas de amplicons direcionadas a regiões conservadas, porém a seleção de primers influencia profundamente os resultados. Primers universais para regiões como V4 ou V3-V4 do 16S rRNA visam maximizar a cobertura taxonômica, embora possam surgir vieses devido a incompatibilidades nos sítios de ligação dos primers. A fidelidade da polimerase e as condições de amplificação – como número de ciclos e temperatura de anelamento – influenciam a formação de quimeras e a amplificação preferencial de táxons dominantes. A incorporação de identificadores moleculares únicos (UMIs) e o uso de polimerases de alta fidelidade mitigam esses problemas, aumentando a reprodutibilidade (Bik *et al.*, 2012).

Marcadores filogenéticos como 16S rRNA (bactérias), ITS (fungos) ou 18S rRNA (eucariotos) servem como "códigos de barras" taxonômicos devido à sua estrutura conservada com domínios variáveis. O gene 16S rRNA permanece o padrão-ouro para estudos bacterianos, com suas nove regiões hipervariáveis oferecendo resolução em níveis de gênero ou espécie. Comunidades fúngicas dependem da região ITS, que evolui rapidamente, mas apresenta maior variabilidade de comprimento, complicando os fluxos de trabalho de sequenciamento. A escolha do marcador depende do escopo do estudo, pois nenhum gene único resolve universalmente todos os táxons (Hugerth; Andersson, 2017).

A seleção de regiões hipervariáveis, como a região V4 do 16S rRNA, impacta diretamente a resolução taxonômica e o sucesso do sequenciamento. Regiões mais curtas, como V4 (aproximadamente 250 pares de bases), são preferidas para plataformas Illumina® devido às limitações de extensão de leitura, enquanto fragmentos mais longos (por exemplo, V1-V9) requerem sequenciamento PacBio ou Oxford Nanopore.

As plataformas de sequenciamento variam em rendimento, extensão de leitura e perfis de erro. O MiSeq da Illumina® dominam os fluxos de trabalho metataxonômicos devido à alta precisão e escalabilidade, enquanto plataformas como Ion Torrent oferecem resultados rápidos para projetos menores. Tecnologias emergentes, como o sequenciamento de consenso circular (CCS) da PacBio® e o sequenciamento em tempo real da Oxford Nanopore®, permitem análises de 16S rRNA de comprimento total, mas enfrentam taxas de erro mais elevadas. A escolha da plataforma depende do equilíbrio entre resolução, custo e volume de dados (Benítez-Páez; Sanz, 2017).

O processamento computacional dos dados começa com filtragem de qualidade, remoção de adaptadores e redução de ruído (denoising) para corrigir erros de sequenciamento. Ferramentas como QIIME 2, mothur e DADA2 empregam algoritmos distintos: agrupamento baseado em referência (como OTUs) versus variantes de sequência de amplicon (ASVs) corrigidas por erro. Pipelines de denoising como DADA2 ou UNOISE3 modelam e removem o ruído técnico, melhorando a resolução ao reter variantes biológicas reais. Etapas subsequentes incluem remoção de quimeras e rarefação para normalizar a profundidade de sequenciamento (Callahan *et al.*, 2016).

Estratégias de agrupamento de sequências, como Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) e ASVs, definem unidades taxonômicas de maneiras diferentes. OTUs, agrupadas com 97% de similaridade em categorias que aproximam distinções em nível de espécie. Em contraste, ASVs representam sequências exatas resolvidas por meio de correção de erro, oferecendo maior reprodutibilidade e granularidade taxonômica. Enquanto OTUs reduzem a carga computacional, ASVs evitam limiares arbitrários e capturam melhor táxons raros (Edgar, 2013, 2016).

A atribuição taxonômica depende de bancos de dados curados como SILVA, RDP, Greengenes e UNITE, que fornecem sequências de referência e classificadores treinados. O alinhamento abrangente e a taxonomia controlada por qualidade do SILVA o tornam uma escolha preferida para estudos de 16S rRNA e 18S rRNA, enquanto o UNITE é especializado em sequências ITS de fungos. A escolha do banco de dados afeta a precisão, já que referências desatualizadas ou incompletas podem

classificar erroneamente táxons novos. Abordagens híbridas, combinando alinhamento baseado em referência com agrupamento *de novo*, melhoram as atribuições em ecossistemas pouco estudados (Kõljalg *et al.*, 2013; Quast *et al.*, 2013).

A abordagem metataxonômica transformou indiscutivelmente nosso entendimento dos ecossistemas microbianos, permitindo que pesquisadores decifrem interações complexas de comunidades em ambientes diversos – desde alimentos fermentados até habitats extremos (Bernardes *et al.*, 2025; Ceccon *et al.*, 2019). À medida que as tecnologias de sequenciamento evoluem – priorizando leituras mais longas e maior precisão –, o campo está preparado para revelar resoluções taxonômicas mais refinadas e táxons raros previamente indetectáveis, conectando finalmente a diversidade microbiana à funcionalidade dos ecossistemas (Flores *et al.*, 2025).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal e desenho experimental

O material vegetal utilizado neste estudo foi o tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). A germinação e cultivo desse material seguiram a metodologia adaptada de Jorge *et al.* (2019) e Ministério da Agricultura (2009). As sementes foram previamente esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos. A germinação foi realizada em placas de Petri de poliestireno descartável forradas com papel Germitest®, de gramatura 65 g m⁻². Em cada placa, foram distribuídas aleatoriamente 7 sementes de tomate-cereja, e posteriormente, um volume de 5 ml de água ultrapura foi adicionado de maneira uniforme. As placas foram cobertas com filme de PVC e acondicionadas em câmara de crescimento com temperatura constante de 25 °C, umidade de 60% e ciclo fotoperiódico de 16h de luz e 8h de escuro.

Após 7 dias de germinação, as plântulas foram transferidas para bandejas contendo 50 células (com capacidade de 136 cm³ por célula). Cada célula foi preenchida com solo orgânico misturado com vermiculita (na proporção de 9 partes de solo orgânico por 1 parte de vermiculita), cujas características físico-químicas são apresentadas na Tabela 1, e distribuído uniformemente entre as células, com leve pressão. As bandejas foram acondicionadas na casa de vegetação do Departamento de Biotecnologia e irrigadas duas vezes ao dia, com um volume total de água de 100 ml por dia. Após desenvolverem duas folhas verdadeiras, mudas uniformes foram selecionadas e transplantadas para vasos de 400 ml, preenchidos com o mesmo tipo de substrato utilizado nas bandejas. Devido à maior demanda hídrica das mudas, o regime de irrigação foi aumentado para três vezes ao dia, totalizando 200 ml de água.

Tabela 1. Características físico-químicas da mistura de solo orgânico com vermiculita utilizada nas bandejas e vasos experimentais.

	Parâmetro	Valor
	Matéria orgânica (g dm ⁻³)	106,00
Acidez	pH	6,90
	Acidez potencial H+Al (mmolc dm ⁻³)	13,00
	Soma de bases (mmolc dm ⁻³)	117,70
	Capacidade de troca catiônica (mmolc dm ⁻³)	131,00
	Saturação de bases (V%)	90,00
Macro e micronutrientes	Boro (mg dm ⁻³)	0,17
	Cálcio (mmolc dm ⁻³)	81,00
	Cobre (mg dm ⁻³)	1,10
	Ferro (mg dm ⁻³)	71,00
	Potássio (mmolc dm ⁻³)	10,50
	Magnésio (mmolc dm ⁻³)	26,00
	Manganês (mg dm ⁻³)	6,00
	Fósforo (mg dm ⁻³)	156,00
	Enxofre (mg dm ⁻³)	82,00
	Zinco (mg dm ⁻³)	8,30
Granulometria	Argila (%)	17,00
	Silte (%)	22,00
	Areia (%)	60,00
	Areia grossa (%)	41,00
	Areia fina (%)	19,00

4.2. Informações dos tratamentos

A biomassa seca de *Spirulina maxima* foi fornecida pela empresa Zona Cerealista Ltda. Na Tabela 2 encontram-se as características químicas dessa biomassa. As soluções foram preparadas em três concentrações distintas, baseando-se na metodologia adaptada de El-Sayed *et al.* (2024). Para o preparo, a biomassa seca foi pesada em balança analítica e dissolvida em água ultrapura, para garantir a homogeneização completa, foi agitada durante 10 minutos. Os tratamentos foram denominados SM05, SM10 e SM20, correspondendo às concentrações de 0,5 g L⁻¹, 1,0 g L⁻¹ e 2,0 g L⁻¹, respectivamente.

Tabela 2. Características químicas da biomassa seca da cianobactéria *Spirulina maxima* utilizada no experimento.

Parâmetro	Valor
pH	6,70
Densidade (g cm ⁻³)	0,99
Condutividade (mS cm ⁻³)	1,00
Proteínas (%)	62,00
Clorofila (mg g ⁻¹)	11,30
Carotenóide (mg g ⁻¹)	4,15
Nitrogênio (g dm ⁻³)	0,19
Cálcio (g dm ⁻³)	0,13
Óxido de potássio (K ₂ O) (g dm ⁻³)	0,05
Magnésio (g dm ⁻³)	0,05
Pentóxido de fósforo (P ₂ O ₅) (g dm ⁻³)	0,03
Enxofre (g dm ⁻³)	0,32

Cada vaso experimental recebeu 200 ml da solução preparada, aplicada diretamente no solo ao redor da planta. O controle (CTRL) recebeu apenas 200 ml de água, sem adição da biomassa. Os vasos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com 12 repetições por tratamento, totalizando 48 unidades experimentais, que posteriormente foram agrupadas aleatoriamente (dentro dos tratamentos) em *pools* de 2 amostras e representadas pelo número seguido da sigla do tratamento (e.g., SM05.1, que se refere ao agrupamento amostral 1 do tratamento SM05).

Os tratamentos foram aplicados duas vezes ao longo do experimento, com um intervalo de sete dias entre as aplicações, seguindo o mesmo intervalo de tempo estabelecido por Puglisi *et al.* (2022). A primeira aplicação ocorreu no 7º dia de cultivo, logo após o período de aclimação das mudas, para garantir que as plantas estivessem adaptadas às condições de cultivo antes da introdução dos tratamentos, e a segunda aplicação foi realizada no 14º dia de cultivo. Ao final do período experimental, no 21º dia, as plantas foram coletadas para avaliação dos parâmetros biométricos, que incluiu comprimento da parte aérea e da raiz, número de folhas, peso fresco e peso seco, além dos teores de pigmentos fotossintéticos. Amostras de solo rizosférico foram coletadas em um ambiente fechado e esterilizado, com uma espátula

apenas a porção de solo aderida às raízes foi retirada e armazenada em tubos Falcon® estéreis a -80 °C até a extração de DNA para análise do microbioma.

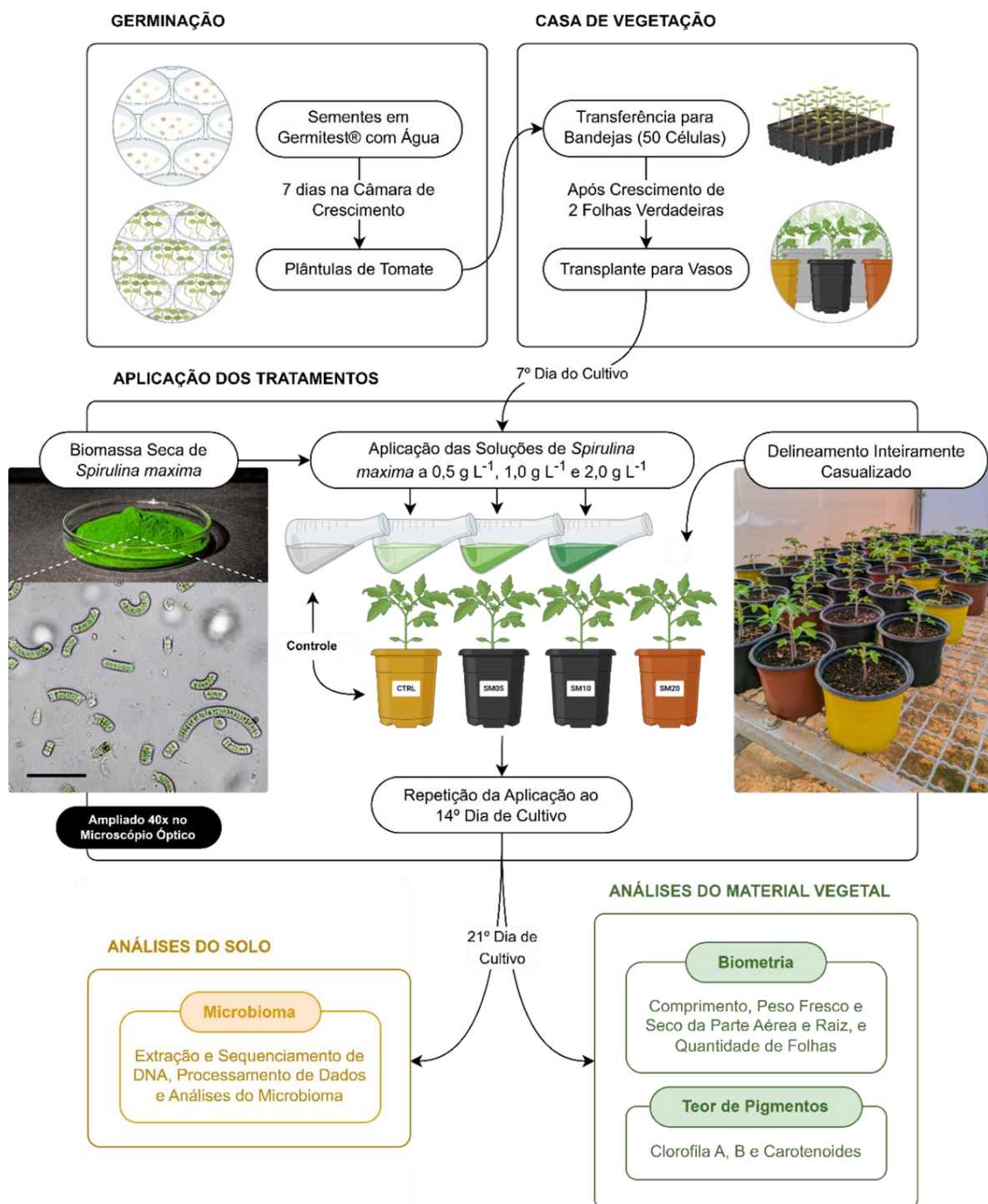


Figura 1. Representação do fluxo de trabalho do experimento.

4.3. Determinação dos parâmetros biométricos das plantas

Depois de coletadas, as plantas foram divididas em porções de parte aérea e raiz. Os comprimentos de ambas as partes foram medidos usando um paquímetro, e o número de folhas verdadeiras foi contado manualmente. O peso fresco foi medido em uma balança semianalítica e, posteriormente, cada porção foi acondicionada em sacos de papel identificados e colocada em uma estufa de circulação de ar forçada a 65 °C. O material permaneceu na estufa até a remoção completa da umidade, para a determinação do peso seco.

Para a análise de pigmentos, discos foliares de 10 mm de diâmetro foram coletadas da parte central de cada planta, garantindo uniformidade no tamanho e coloração. Cada disco foi homogeneizado em 5 ml de acetona a 80% (v/v) em tubos Falcon® e centrifugadas a 10.000 rpm e 4 °C por 45 minutos, até que todos os discos foliares ficassem despigmentados. Os níveis de clorofila-a (ChlA), clorofila-b (ChlB) e carotenoides (Car) foram quantificados por espectrofotometria usando os comprimentos de onda específicos: 663,2 nm para ChlA, 646,8 nm para ChlB e 470 nm para Car. As concentrações dos pigmentos, expressas em mg g⁻¹, foram determinadas pelas Equações 1, 2 e 3, conforme descrito por Lichtenthaler (1987):

$$\text{ChlA} = 12,25A_{663,2} - 2,79A_{646,8} \quad (1)$$

$$\text{ChlB} = 21,50A_{646,8} - 5,10A_{663,2} \quad (2)$$

$$\text{Car} = (1000A_{470} - 1,85\text{ChlA} - 85,02\text{ChlB}) / 198 \quad (3)$$

4.4. Extração e sequenciamento de amplicons do gene 16S rRNA

O DNA do solo foi extraído das amostras usando o Extracta® Soil DNA Kit (MSSD-PU16-B), seguindo as instruções do fabricante. A concentração de cada amostra de DNA foi determinada usando um espectrofluorímetro (Qubit 2.0, Thermo Scientific®), garantindo qualidade para as etapas de amplificação. O DNA extraído foi armazenado a -20 °C até o uso posterior. Para amplificar a região V4 do gene 16S rRNA, foram utilizados 5 µL de cada amostra de DNA (50 ng µL⁻¹). Um protocolo de PCR em duas etapas foi realizado usando o kit Nextera XT index (Illumina®), seguindo as recomendações do fabricante. Na primeira etapa (PCR1), a região de interesse foi

amplificada usando o par de primers 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (Caporaso *et al.*, 2011). Na segunda etapa (PCR2), adaptadores de sequenciamento e códigos de barras da Illumina® foram anexados aos amplicons. Os produtos amplificados foram sequenciados usando a plataforma MiSeq (Illumina®) via MiSeq Reagent Micro Kit v2 de 300 ciclos, em um layout paired-end de 2x150 bp.

4.5. Processamento dos dados de sequenciamento

As leituras foram obtidas utilizando o software CASAVA da Illumina®, versão 1.8.2. Neste software, foram realizados o reconhecimento dos índices e o procedimento de demultiplexação. O resumo das etapas realizadas na análise dos dados de amplicons pode ser visualizado no fluxograma da Figura 2.

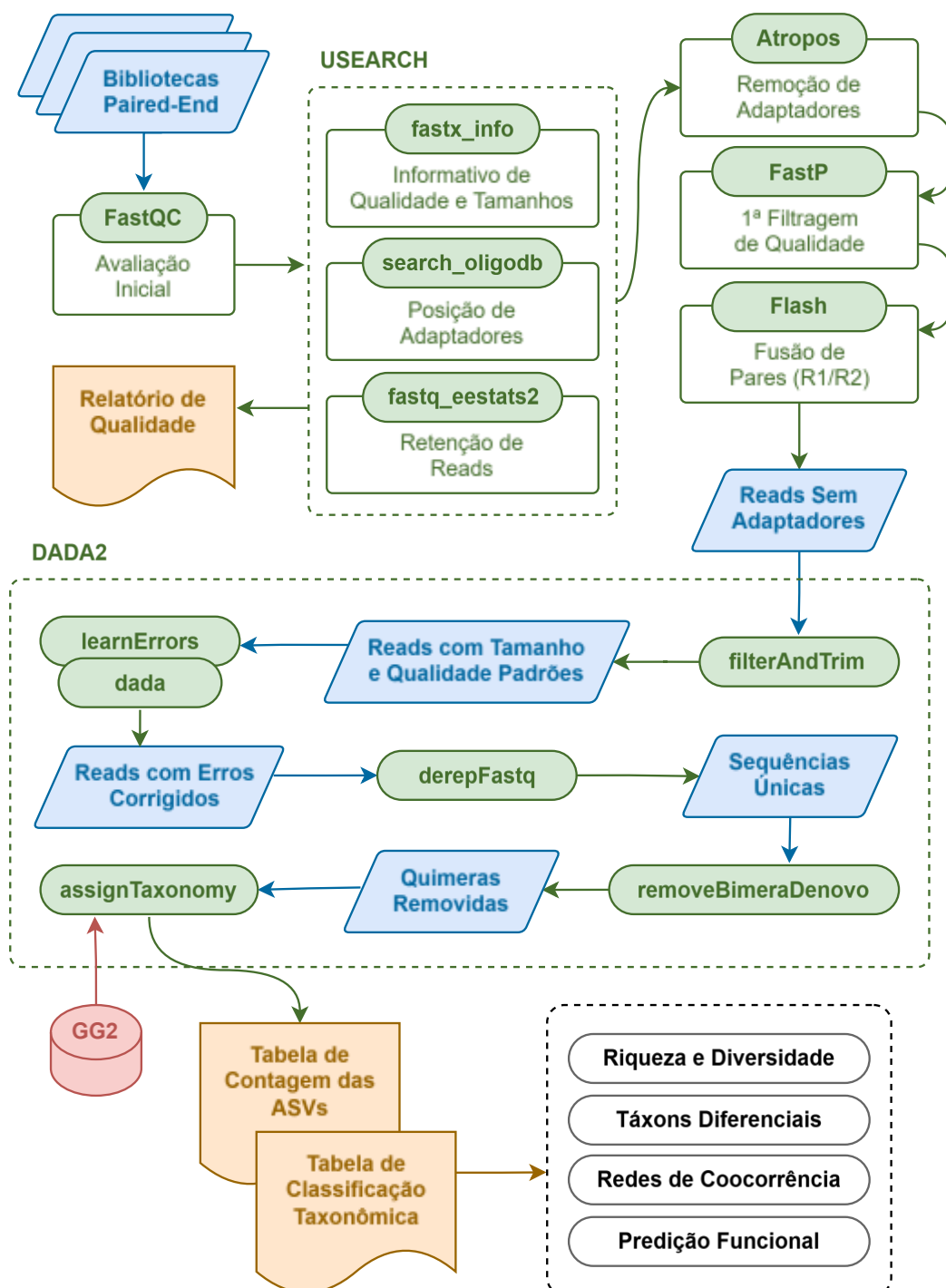


Figura 2. Fluxograma das etapas de processamento de dados.

4.5.1. Controle de qualidade

A avaliação inicial da qualidade dos dados foi realizada usando FastQC (v.0.11.9; Andrews, 2010). Também foram utilizadas funções do pacote USEARCH

(v.11.0; Edgar, 2010) para auxílio no estabelecimento de parâmetros de corte parâmetros de corte usados posteriormente no processamento. A função “fastx_info” gerou um resumo das qualidades e erros esperados (EE) por biblioteca; “search_oligodb” identificou a posição dos primers nas sequências, enquanto “fastq_eestats2” estimou a perda de leituras com base em diferentes valores de corte para tamanho e qualidade máximos permitidos.

As sequências dos primers foram removidas usando Atropos (v.1.1.31; Didion; Martin; Collins, 2017). As bibliotecas forward (R1) e reverse (R2), juntamente com seus respectivos primers, foram utilizadas como entrada. Para o processamento, aplicamos os parâmetros “--minimum length = 120” para definir o tamanho mínimo das sequências, “--pair-filter = any” para excluir leituras sem pares, e “--discard-untrimmed” para remover sequências que não continham adaptadores. Para melhorar a qualidade da biblioteca, leituras com uma pontuação média de Phred abaixo de 25 foram excluídas usando o parâmetro --average_qual 25 do FastP (v.0.24; Chen *et al.*, 2018).

4.5.2. Fusão dos pares das leituras

As leituras emparelhadas foram unidas usando o “Flash” (v.1.2.11; Magoc; Salzberg, 2011). Como entrada, foram inseridos os pares de arquivos FASTQ (R1 e R2 de cada amostra), que foram fundidas a partir de uma sobreposição mínima de 4 bases. Sequências fundidas com tamanho menor que 240 pb e maior que 260 pb foram descartadas (-length_cutoffs 240, 260, 2).

4.5.3. Obtenção de Variantes de Sequências de Amplicons (ASVs)

As leituras unidas foram processadas usando o pipeline DADA2 (v.1.22.0; Callahan *et al.*, 2016) implementado em R (v.4.1.2; R Core Team, 2023). O controle de qualidade foi realizado pela função “filterAndTrim”, que descartou sequências com mais de quatro erros esperados (maxEE = 4). Também foi aplicado o filtro para remover sequências de controle da Illumina® (rm.phix = TRUE). As sequências processadas passaram pelo algoritmo de aprendizado de taxa de erros com a função “learnErrors” e tiveram sua redundância eliminada usando “derepFastq”. Em seguida,

os erros das sequências foram corrigidos com base nos modelos gerados previamente pela função “dada”. As variáveis de sequências de amplicons (ASVs) foram inferidas para cada amostra e posteriormente filtradas para remover sequências possivelmente quiméricas usando a função “removeBimeraDenovo”.

4.5.4. Designação taxonômica e filtragem de ASVs

A atribuição taxonômica das ASVs foi realizada de forma integrada ao processamento do “DADA2”, utilizando a função “assignTaxonomy”. Para isso, além das sequências, foram fornecidos bancos de dados contendo sequências de referência. O banco de dados “Greengenes2” (GG2) (v.2024.09; McDonald *et al.*, 2024) foi empregado como referência principal. Contudo, essas ASVs também foram comparadas com os bancos: RDP (v.18), GTDB (v.2.02), e SILVA (v.138.1), que serviram como apoio para identificar e excluir possíveis sequências contaminantes.

4.6. Análise do microbioma

A eficiência da amostragem foi avaliada usando curvas de rarefação geradas com a função “amp_rarecurve” do pacote ampvis2 R (v.2.7.17; Andersen *et al.*, 2018). As amostras foram rarefeitas para a biblioteca com o menor número de sequências (46.011 leituras), e todas as análises subsequentes foram realizadas com base nos dados rarefeitos. As contagens de ASV e as anotações taxonômicas foram exportadas no formato phyloseq (pacote R phyloseq; v.1.38.0; McMurdie; Holmes, 2013). Para padronizar o conjunto de dados para análises de microbioma, o objeto phyloseq foi transformado em dados composicionais usando a função “phyloseq_standardize_otu_abundance” do pacote R metagMisc (v.0.5.0; Mikryukov, 2022).

4.6.1. Diversidade e táxons diferenciais

A diversidade alfa foi calculada para medir a riqueza observada (Richness) e os índices de diversidade Shannon e Gini-Simpson usando a função alpha do pacote R microbiome (v.1.16.0; Lahti; Shetty, 2012). A diversidade beta foi analisada

calculando-se as distâncias evolutivas de UniFrac (Weighted) entre as amostras usando a função “distance” do pacote phyloseq. As distâncias evolutivas entre ASVs foram inferidas usando o algoritmo Neighbor-Joining com a função NJ no pacote phangorn (v.2.10.0; Schliep, 2011). O suporte estatístico para a árvore filogenética foi avaliado usando o método “bootstrap” com a função “bootstrap.pml”, empregando 100 réplicas bootstrap. A dispersão das amostras dentro de cada grupo de tratamento também foi avaliada para verificar a variação entre os grupos através da função “betadisper” do pacote R vegan (v.2.6-4; Oksanen *et al.*, 2019).

Diversidade alfa, dispersão beta e abundâncias relativas nos níveis taxonômicos de filo e família, foram analisadas usando o teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 95%. Quando diferenças significativas foram observadas ($p < 0,05$), comparações pareadas foram realizadas utilizando o teste de rank-sum de Wilcoxon para determinar diferenças específicas entre os grupos. Diferenças na diversidade beta entre os grupos foram avaliadas por meio da Análise de Variância Multivariada Perceptual (PERMANOVA), com a função “adonis2” do pacote R vegan. Comparações pareadas post-hoc foram conduzidas utilizando a função “pairwise.adonis” do pacote R pairwiseAdonis (v.0.4; Arbizu, 2017). As distâncias multidimensionais foram visualizadas por meio da Análise de Coordenadas Principais (PCoA).

4.6.2. Análise de correlação e redes de coocorrência

A correlação entre os dados biométricos das plantas de tomate e a microbiota foi analisada nos níveis taxonômicos de filo e família. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson entre cada táxon e variável medida nas plantas, utilizando a função “corr.test” do pacote R psych (v.2.4.3; Revelle, 2022). Apenas correlações com coeficiente de Pearson maior que 0,5 ou menor que -0,5 e $p \leq 0,05$ foram consideradas significativas. As análises de redes de coocorrência foram realizadas pelo método Sparse Correlations for Compositional Data (SparCC), implementado por meio do pacote R SpiecEasi (v.1.1.2; Kurtz *et al.*, 2015). As tabelas de dados taxonômicos, agregadas ao nível de família, foram usadas para calcular a matriz de correlação. Coeficientes de correlação com valores maiores que 0,5 ou

menores que -0,5 e $p \leq 0,05$ foram retidos. A construção de redes de coocorrência e o cálculo de características topológicas, como grau de nó, centralidade de proximidade e centralidade de intermediação, foram realizados utilizando o pacote R *igraph* (v.2.0.3; Csardi; Nepusz, 2006).

4.6.3. Predição funcional

O software PICRUSt2 (v.2.5.2; Douglas *et al.*, 2019) foi empregado para inferir a capacidade gênica funcional do conjunto de microrganismos presentes nas amostras de solo. Os genes preditos foram representados por identificadores KOs (KEGG Orthologs) (Kanehisa; Goto, 2000). Essas funções preditas foram, posteriormente, comparadas com a base de dados “PLaBAs” (PLant-associated BActeria; v.1.0; Patz *et al.*, 2021) para identificar funções bacterianas associadas a características promotoras do crescimento de plantas (PGPTs). Diferenças nas características funcionais entre os tratamentos foram analisadas utilizando o método DESeq2 (v.1.34.0; Love; Huber; Anders, 2014). Características funcionais com log2 Fold-Change maior que 1 ou menor que -1 e $p \leq 0,05$ foram consideradas significativamente diferentes entre os tratamentos.

4.7. Análise estatística

As características biométricas das plantas também foram avaliadas por meio do teste de Kruskal-Wallis, adotando um intervalo de confiança de 95%. Para identificar diferenças específicas entre os grupos, foram realizadas comparações individuais utilizando o teste de Wilcoxon, sempre que valores de p menores que 0,05 indicaram significância estatística. Representações gráficas foram criadas utilizando o pacote R *ggplot2* (v.3.5.1; Wickham, 2016). Heatmaps de dados taxonômicos e funcionais foram gerados utilizando o pacote R *ComplexHeatmap* (v.2.1.0; Gu; Eils; Schlesner, 2016).

5. RESULTADOS

5.1. Parâmetros biométricos e pigmentos

A fertilização com biomassa de *Spirulina maxima* teve efeitos positivos em todas as características morfológicas das mudas de tomate aos 21 dias após o plantio (Tabela 3). Notavelmente, o tratamento SM20 promoveu aumentos significativos no comprimento da parte aérea (148%) e no comprimento da raiz (74,97%), além de um aumento de 128,87% no número de folhas em comparação com o controle. No ganho de biomassa, houve aumentos de 568,75% e 100% no peso fresco e seco da parte aérea, respectivamente, e de 607,14% e 418,18% no peso da raiz. Além disso, o aumento máximo nos teores de clorofila-a, clorofila-b e carotenoides foi de 294,27%, 356,71% e 214,29%, respectivamente, novamente observado no tratamento SM20.

Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros biométricos e pigmentos dos tratamentos aplicados às mudas de tomate.

Parâmetro	Tratamento			
	CTRL	SM05	SM10	SM20
ShootFW (g)	0,16 ($\pm$ 0,05) ^d	0,28 ($\pm$ 0,06) ^c	0,46 ($\pm$ 0,13) ^b	1,07 ($\pm$ 0,22) ^a
ShootDW (g)	0,10 ($\pm$ 0,02) ^c	0,12 ($\pm$ 0,02) ^b	0,14 ($\pm$ 0,03) ^b	0,20 ($\pm$ 0,03) ^a
RootFW (g)	0,14 ($\pm$ 0,06) ^d	0,26 ($\pm$ 0,04) ^c	0,30 ($\pm$ 0,05) ^b	0,99 ($\pm$ 0,17) ^a
RootDW (g)	0,11 ($\pm$ 0,04) ^c	0,17 ($\pm$ 0,02) ^b	0,19 ($\pm$ 0,03) ^b	0,57 ($\pm$ 0,11) ^a
Leaves (n)	11,50 ($\pm$ 0,45) ^d	14,00 ($\pm$ 0,89) ^c	20,25 ($\pm$ 0,61) ^b	26,33 ($\pm$ 0,98) ^a
ShootL (cm)	4,19 ($\pm$ 0,23) ^d	5,32 ($\pm$ 0,37) ^c	8,04 ($\pm$ 0,73) ^b	10,39 ($\pm$ 0,44) ^a
RootL (cm)	9,74 ($\pm$ 0,23) ^d	12,03 ($\pm$ 0,71) ^c	13,90 ($\pm$ 1,08) ^b	17,05 ($\pm$ 1,51) ^a
ChlA (mg g ⁻¹)	3,13 ($\pm$ 0,19) ^d	3,46 ($\pm$ 0,22) ^c	5,16 ($\pm$ 0,61) ^b	12,35 ($\pm$ 2,01) ^a
ChlB (mg g ⁻¹)	1,64 ($\pm$ 0,22) ^c	1,80 ($\pm$ 0,38) ^c	2,20 ($\pm$ 0,16) ^b	7,49 ($\pm$ 1,94) ^a
Car (mg g ⁻¹)	0,63 ($\pm$ 0,09) ^c	0,80 ($\pm$ 0,17) ^c	1,06 ($\pm$ 0,15) ^b	1,98 ($\pm$ 0,33) ^a

ShootFW = Peso Fresco da Parte Aérea; ShootDW = Peso Seco da Parte Aérea; RootFW = Peso Fresco da Raiz; RootDW = Peso Seco da Raiz; Leaves = Quantidade de Folhas; ShootL = Comprimento da Parte Aérea; RootL = Comprimento da Raiz. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, conforme o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).

Os maiores valores de pigmentação e biomassa estão associados às amostras SM20, que formam um grupo bem definido e se distanciam dos outros tratamentos (Figura 3.A). Níveis mais elevados de pigmentos são observados em SM20.1, SM20.2

e SM20.3; comprimentos de raízes e parte aérea em SM20.4 e SM20.5, que, junto com SM20.1 e SM20.6, também mostraram os maiores valores de biomassa. As amostras SM10 exibem menor intensidade em parâmetros relacionados à pigmentação e biomassa em comparação com SM20, mas ainda se destacam em relação ao controle e SM05, apresentando valores biométricos acima da média. O tratamento SM05 mostra um comportamento mais próximo do controle (CTRL), com valores próximos ou abaixo da média. Por último, o CTRL apresenta os menores valores em todos os parâmetros.

As mudas representativas corroboram esses resultados, demonstrando maior vigor e crescimento na Figura 3.B.i sob o tratamento SM20, diminuindo à medida que se aproxima do controle. Os parâmetros analisados estão fortemente correlacionados positivamente com o tratamento SM20 (Figura 3.C). Em contraste, o controle e SM05 mostram tendências opostas. Os parâmetros ChlA e ShootFW contribuem mais para explicar a variância total, sendo essenciais para discriminar o efeito da cianobactéria.

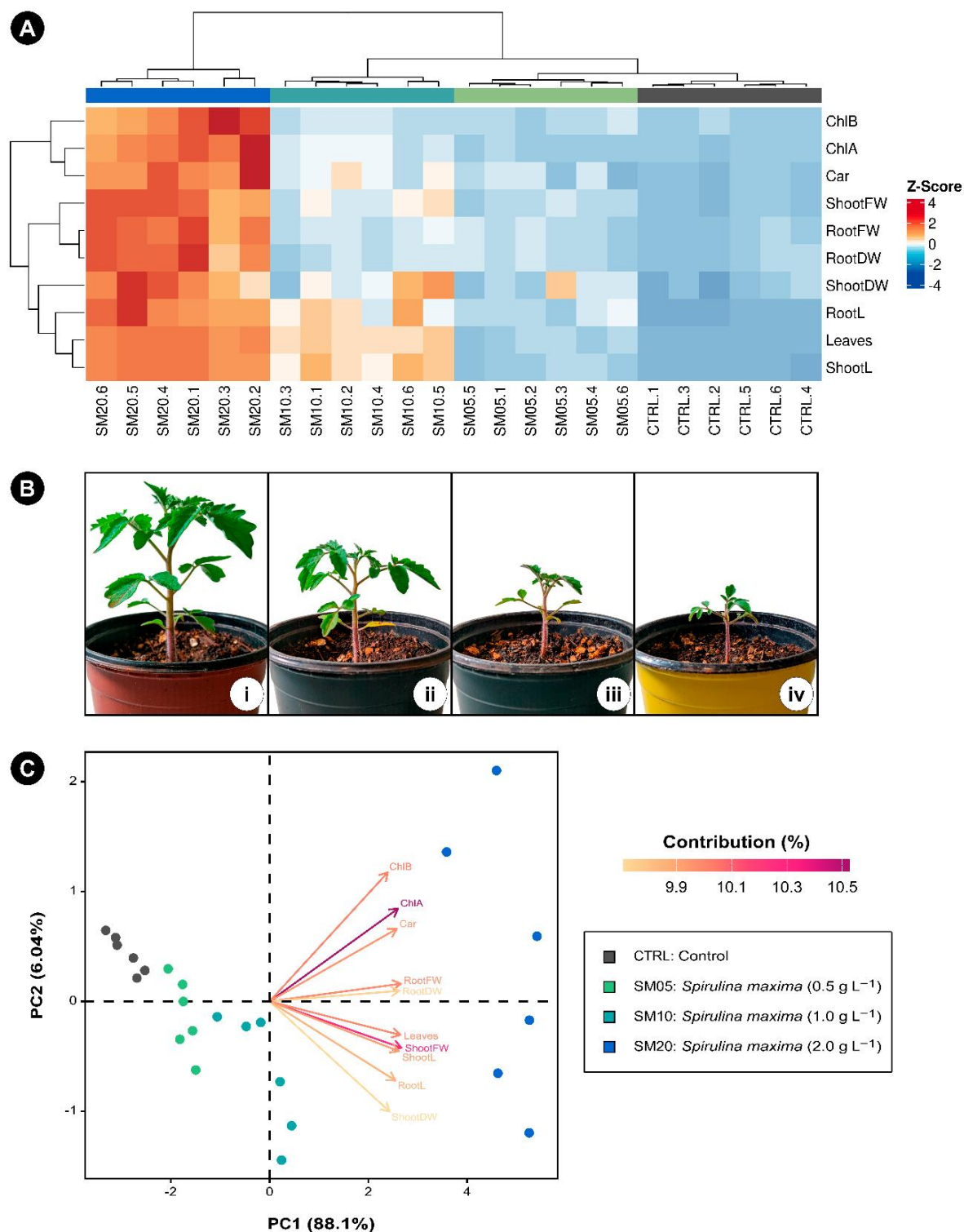


Figura 3. (A) Heatmap mostrando a variação dos parâmetros biométricos e pigmentos entre os tratamentos. O dendrograma foi gerado utilizando o método de Ward. (B) Imagens das mudas de tomate representativas após 21 dias sob diferentes tratamentos: (i) SM20, (ii) SM10, (iii) SM05 e (iv) CTRL. (C) Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando a distribuição dos tratamentos com base nos parâmetros medidos.

5.2. Processamento dos dados de sequenciamento

O sequenciamento de alto desempenho do solo rizosférico de plantas de tomate, realizado utilizando o instrumento Illumina® MiSeq, resultou em um total de 1.712.518 leituras pareadas do gene 16S rRNA (região V4), com uma média aproximada de 71.355 pares por biblioteca (Tabela 4). Destas, cerca de 1.441.876 (84,19%) foram designadas com sucesso como ASVs. No Apêndice A encontra-se uma contagem de leituras mais detalhada, para cada agrupamento amostral e com mais etapas do pipeline de processamento.

Tabela 4. Contagens de leituras antes e após o pipeline de processamento (Dados Brutos e Processados), ASVs totais obtidas e Filtradas para o controle (CTRL) e tratamentos com *Spirulina maxima* (SM05, SM10 e SM20).

Etapa	Tratamento			
	CTRL	SM05	SM10	SM20
Dados Brutos	73.295,33 (± 11.634,70)	72.648,00 (± 14.984,89)	70.069,33 (± 4.738,28)	69.407,00 (± 4.840,54)
Dados Processados	66.442,00 (± 10.566,40)	66.141,83 (± 13.875,15)	63.652,67 (± 3.785,71)	63.405,33 (± 4.091,21)
ASVs	62.107,50 (± 9.883,55)	61.686,00 (± 12.924,87)	58.995,33 (± 3.610,91)	57.523,83 (± 4.672,23)
ASVs Filtradas	61.935,67 (± 9.831,54)	61.501,50 (± 12.876,66)	58.863,83 (± 3.601,14)	57.374,33 (± 4.641,03)
Dados Utilizáveis (%)	84,51	84,61	84,05	82,52

5.3. Perfis taxonômicos

O perfil taxonômico das amostras revela que, ao nível do filo, o mais abundante é Actinomycetota, seguido pelos filos Pseudomonadota, Chloroflexota, Planctomycetota e Acidobacteriota (Figura 4.A; Apêndice A). A distribuição dos filos bacterianos por tratamento destaca que, em geral, a categoria agregada "Others" corresponde a aproximadamente 7,14% da abundância relativa. Isso indica que, além dos filos dominantes, há uma presença significativa de táxons ou sequências menos conhecidas com evidência insuficiente para definição taxonômica precisa.

Em geral, há uma tendência para que as amostras dos tratamentos SM20 e SM10 se separem das amostras SM05 e controle com base em suas famílias mais abundantes (Figura 4.B). As famílias *Dermatophilaceae*, *Nocardioidaceae*, *Xanthobacteraceae*, *Micrococcaceae* e *Burkholderiaceae* mostram maior abundância nos tratamentos SM10 e SM20, enquanto *Sphingomonadaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Streptomycetaceae*, *Cellulomonadaceae* e *Streptosporangiaceae* são predominantes em CTRL e SM05 (Apêndice B).

No total, o número de filos exclusivos é praticamente nulo, enquanto 46 (95,83%) são compartilhados. Esse cenário muda quando analisamos ao nível de família (Figura 4.C.i), onde 706 (90,28%) famílias compartilhadas foram identificadas entre os tratamentos e o controle, enquanto o número de famílias exclusivas em cada tratamento é bastante pequeno (Figura 4.C.ii). Considerando apenas os solos que receberam o bioestimulante, 18 famílias únicas foram identificadas, enquanto o controle não apresentou nenhuma.

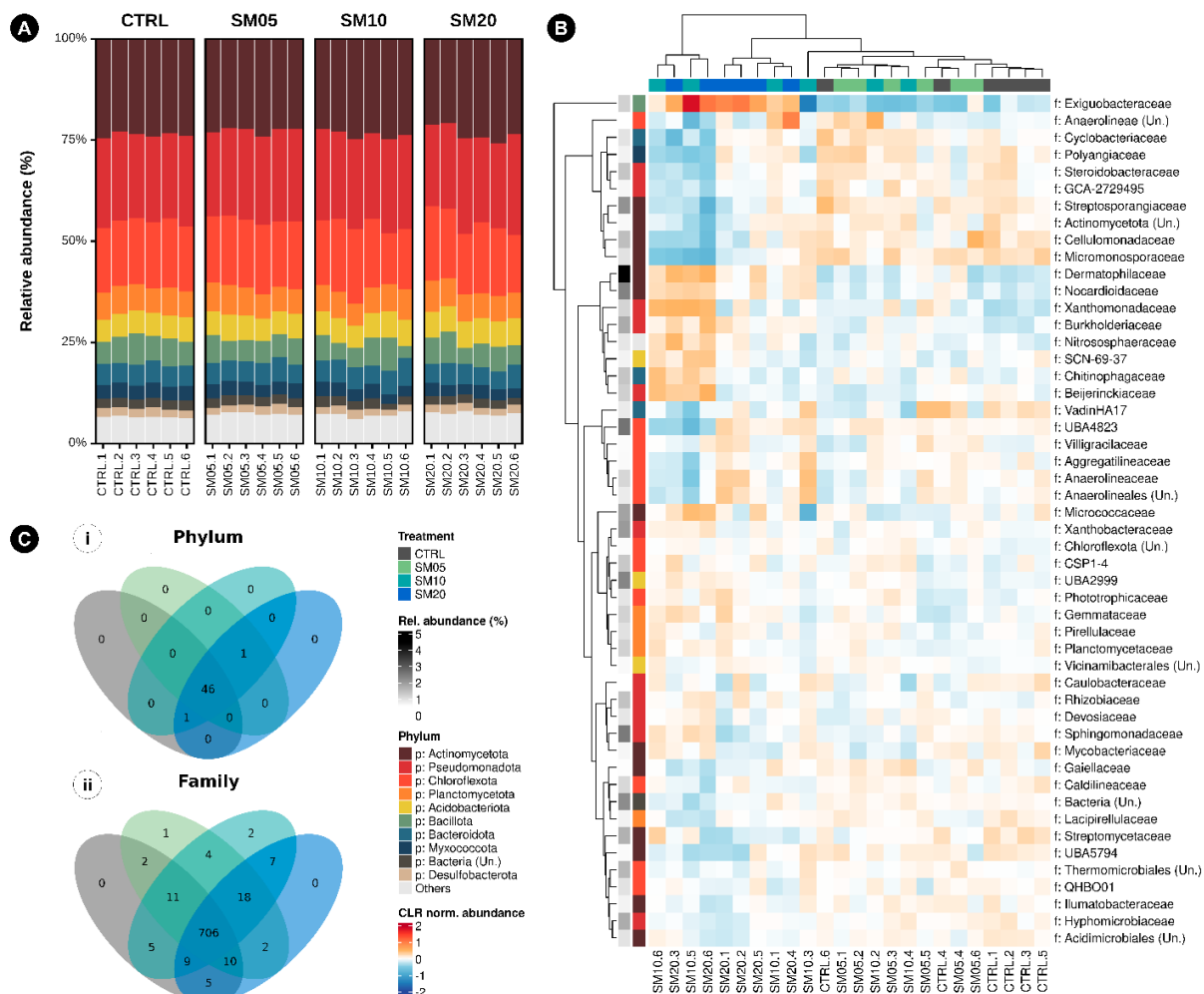


Figura 4. (A) Heatmap mostrando a variação dos parâmetros biométricos e pigmentos entre os tratamentos. (B) Imagens das mudas de tomate representativas após 21 dias sob diferentes tratamentos: (i) SM20, (ii) SM10, (iii) SM05 e (iv) CTRL. Os dendrogramas foram gerados utilizando o método de Ward. (C) Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando a distribuição dos tratamentos com base nos parâmetros medidos.

Entre os 10 filos mais abundantes, apenas três mostraram alguma correlação significativa com as variáveis morfológicas analisadas (Figura 5.A; Apêndice C). Notavelmente, o filo Acidobacteriota exibiu uma forte relação positiva com todas as variáveis biométricas, enquanto Myxococcota mostrou uma correlação negativa com biomassa fresca e seca da parte aérea, comprimento da parte aérea, comprimento das raízes e número de folhas. Entre as 50 famílias mais abundantes, 22 tiveram correlações significativas com os parâmetros das plantas (Figura 5.B). As famílias

Dermatophilaceae, *Nocardoidaceae*, *Burkholderiaceae*, *Phototrophicaceae* e outras cinco exibiram uma forte correlação positiva com algumas ou todas as variáveis. Por outro lado, 13 das famílias observadas mostraram uma forte relação negativa, destacando-se as famílias *Streptosporangiaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Streptomycetaceae* e *Micromonosporaceae*.

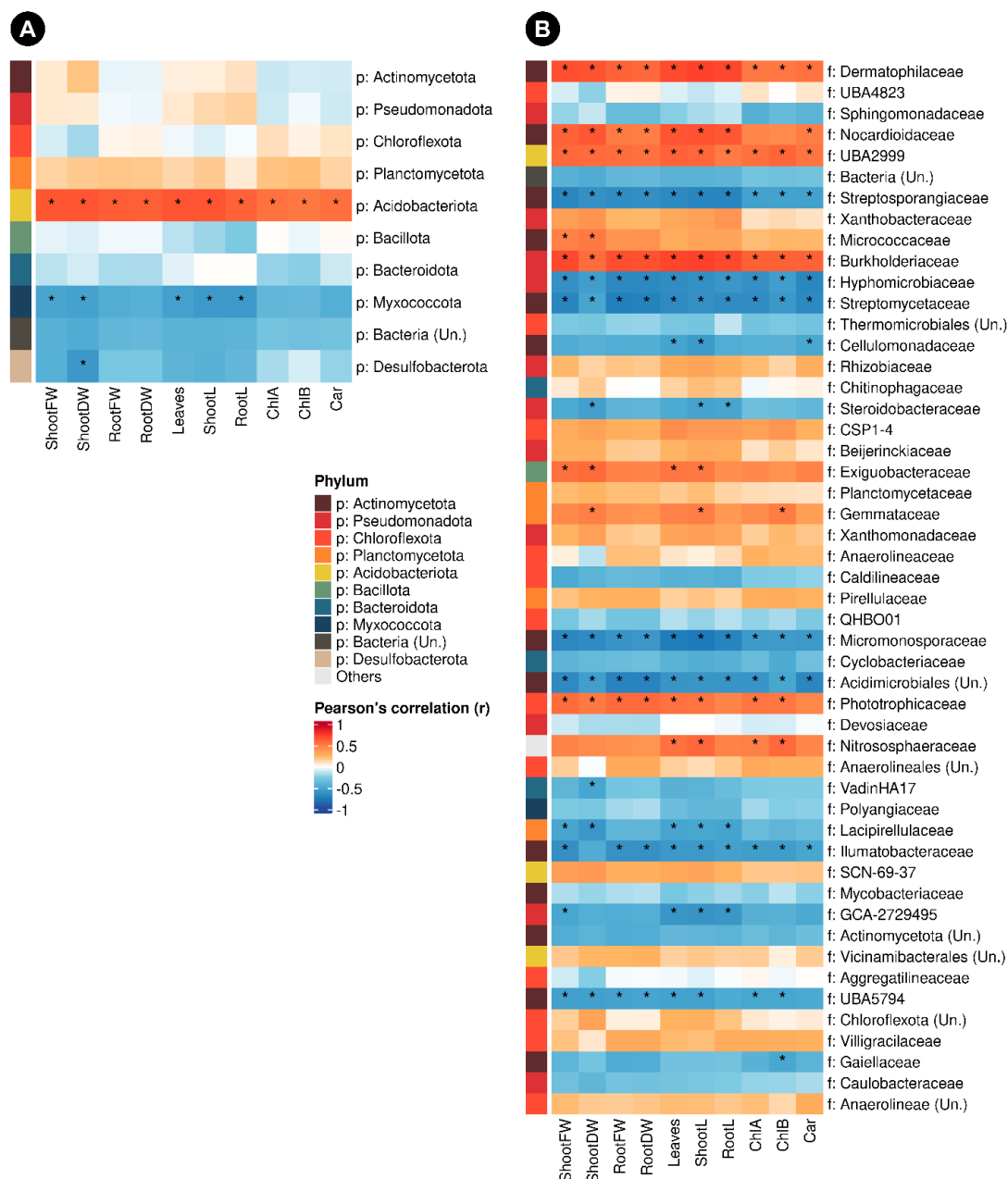


Figura 5. Heatmap de correlação de Pearson (r) entre os (A) 10 filos mais abundantes e (B) 50 famílias bacterianas mais abundantes com parâmetros biométricos e pigmentos. Asteriscos indicam correlações significativas (p < 0,05).

5.4. Diversidade microbiana

Na análise de diversidade alfa, observa-se que, em relação à riqueza de ASVs, embora as diferenças não sejam estatisticamente significativas, há uma tendência de aumento inicial (SM05), seguido de uma queda nos tratamentos de maior concentração (SM10 e SM20). Nos índices de diversidade de Shannon e Gini-Simpson, a mesma tendência é observada, onde diferenças significativas entre os tratamentos, com maior diversidade de ASVs bacterianas nos tratamentos CTRL e SM05, e menor diversidade em SM10 e SM20 foram observadas (Figura 6.A; Tabela 5).

Tabela 5. Métricas de diversidade alfa (Richness, Shannon e Gini-Simpson) para o controle (CTRL) e tratamentos com *Spirulina maxima* (SM05, SM10 e SM20). Letras sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tratamento	Riqueza	Shannon	Gini-Simpson
CTRL	5596,50 ($\pm 70,24$)	7,626 ($\pm 0,021$) ^{ab}	0,999 ($\pm 0,000$) ^a
SM05	5711,50 ($\pm 63,60$)	7,661 ($\pm 0,031$) ^a	0,999 ($\pm 0,000$) ^a
SM10	5588,83 ($\pm 126,20$)	7,560 ($\pm 0,141$) ^{bc}	0,998 ($\pm 0,001$) ^b
SM20	5568,33 ($\pm 136,26$)	7,537 ($\pm 0,078$) ^c	0,998 ($\pm 0,000$) ^b
<i>p</i> -valor	0,097	0,006	0,002

O gráfico de Análise de Coordenadas Principais bidimensional (PCoA), baseado nas distâncias ponderadas de UniFrac, revela uma separação significativa entre os tratamentos. O eixo PCoA1 explica 34,98% da variação observada, enquanto o eixo PCoA2 contribui com 10,14%, totalizando 45,12% da variância dos dados (Figura 6.B). As amostras exibem maior dispersão nos tratamentos com 1,0 g L⁻¹ (SM10) e 2,0 g L⁻¹ (SM20) em comparação ao controle (CTRL) e ao tratamento com 0,5 g L⁻¹ (SM05) (Figura 6.B; Tabela 6).

Tabela 6. Resultados do teste post-hoc pareado de PERMANOVA, usando a métrica de dissimilaridade Weighted UniFrac. Comparações com $p < 0,05$ indicam diferenças significativas entre os tratamentos: controle (CTRL) e *Spirulina maxima* (SM05, SM10 e SM20).

Par	Soma dos Quadrados	F	R ²	p-valor
CTRL × SM05	0,001	1,635	0,141	0,021
CTRL × SM10	0,003	2,157	0,177	0,003
CTRL × SM20	0,005	4,434	0,307	0,003
SM05 × SM20	0,004	2,722	0,214	0,002

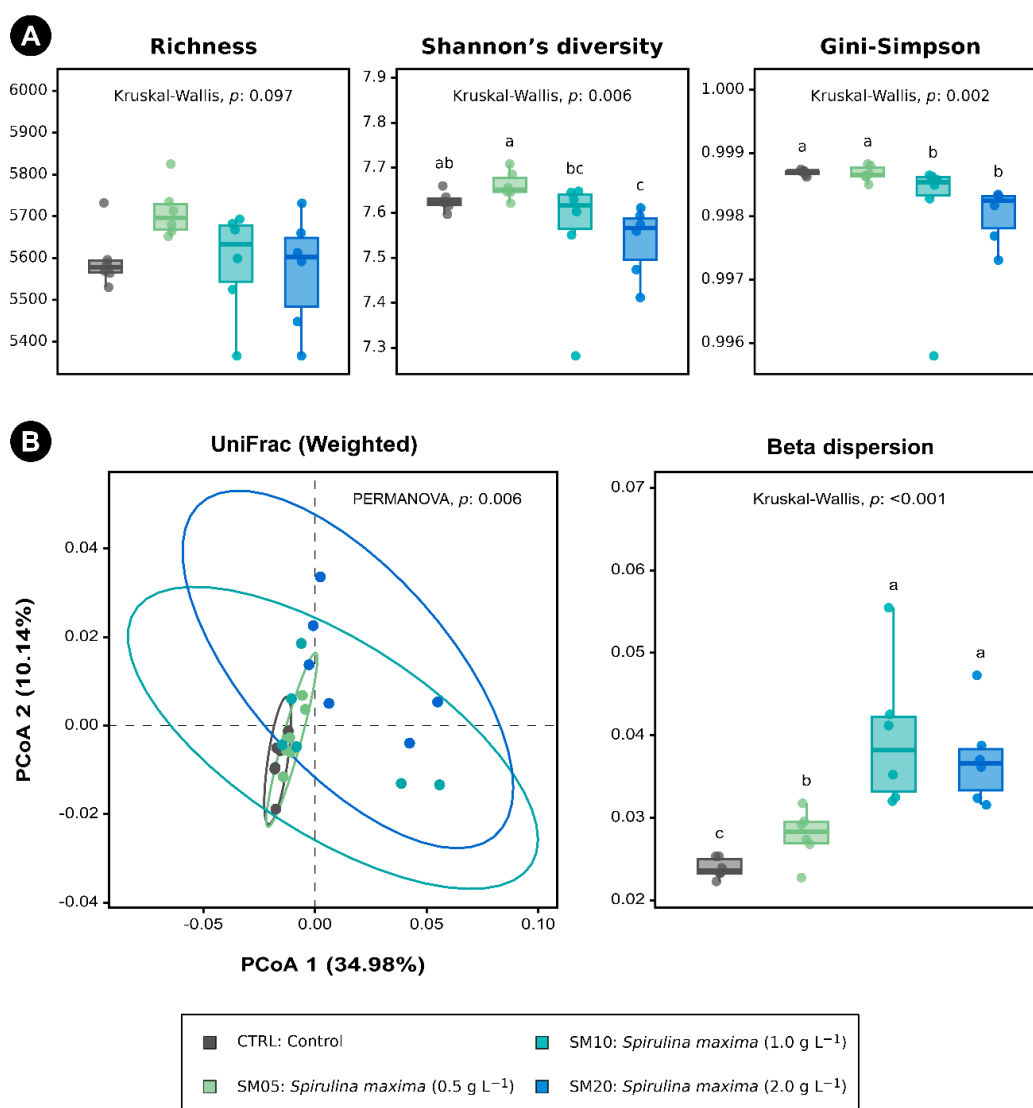


Figura 6. (A) Índices Richness e diversidade de Shannon e Gini-Simpson. (B) Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada nas distâncias UniFrac ponderadas e dispersão beta, representando a variabilidade entre os tratamentos.

5.5. Abundância diferencial

A análise de abundância diferencial revelou mudanças significativas na composição de certas famílias microbianas em resposta aos tratamentos comparados ao controle. Na comparação entre CTRL e SM05 (Figura 7.A), sete famílias bacterianas com abundâncias distintas foram identificadas, destacando-se a maior abundância de *Streptomycetaceae* no controle, enquanto *Rhodobacteraceae*, *Hymenobacteraceae*, *Aestuariivirgaceae* e *Bryobacteraceae* foram mais prevalentes em SM05. Entre CTRL e SM10 (Figura 7.B), observou-se uma maior abundância de cinco famílias no controle, incluindo *Micromonosporaceae* e *Syntrophaceae*, enquanto oito famílias associadas ao tratamento com 10 g L⁻¹ mostraram maior prevalência. Finalmente, na comparação entre CTRL e SM20 (Figura 7.C), 21 famílias foram mais abundantes no controle, como *Streptosporangiaceae*, *Streptomycetaceae* e *Micromonosporaceae*, contra 14 mais prevalentes em SM20, notavelmente *Dermatophilaceae*, *Exiguobacteraceae* e *Burkholderiaceae*. Os detalhes das análises de abundância diferencial estão disponíveis no Apêndice D.

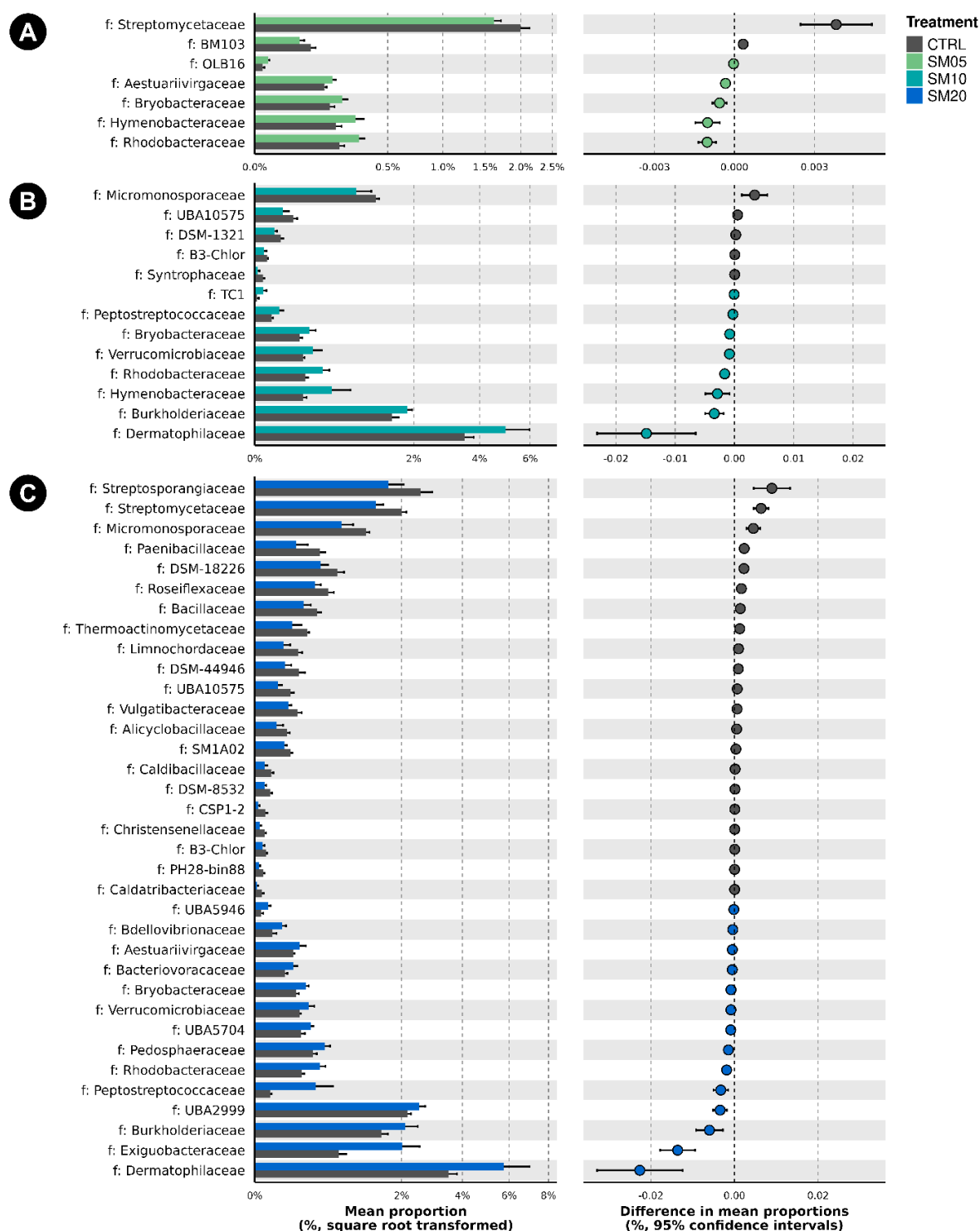


Figura 7. Gráficos de abundância diferencial destacando as principais famílias bacterianas alteradas em cada tratamento com *Spirulina maxima* em comparação com o controle (CTRL). (A) Comparação entre SM05 (0,5 g L⁻¹) e controle. (B) Comparação entre SM10 (1,0 g L⁻¹) e controle. (C) Comparação entre SM20 (2,0 g L⁻¹) e controle.

5.6. Estrutura das redes de coocorrência

As redes de coocorrência na Figura 8.A mostram que o aumento da concentração de biomassa de *Spirulina maxima* resulta em maior conectividade microbiana, com maior densidade e número de interações (Tabela 7). O grau, representado pelo tamanho dos nós, aumenta gradualmente entre as condições, refletindo o maior número de conexões entre táxons nesses tratamentos (Figura 8.A e 8.B; Tabela 7). As correlações positivas e negativas são relativamente próximas, mas há uma inversão após o tratamento SM10, onde as correlações positivas predominam sobre as negativas (Tabela 7). Além disso, 11 táxons chave foram identificados em CTRL e 10 em SM05, enquanto nenhum táxon chave foi identificado na rede SM10, e apenas 2 estão presentes na rede de tratamento SM20 (Figura 8.A). Entre as métricas topológicas da rede em (Figura 8.B; Tabela 7), o grau é significativamente maior em SM10 e SM20 ($p < 0,001$), evidenciando maior conectividade nesses tratamentos, enquanto o controle exibe o menor grau. A centralidade intermedial não apresenta diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,090$), mas há uma tendência a valores mais baixos à medida que a concentração de *Spirulina* aumenta. Finalmente, a proximidade, que avalia a proximidade com outros membros da rede, é maior em SM10 e SM20 ($p < 0,001$).

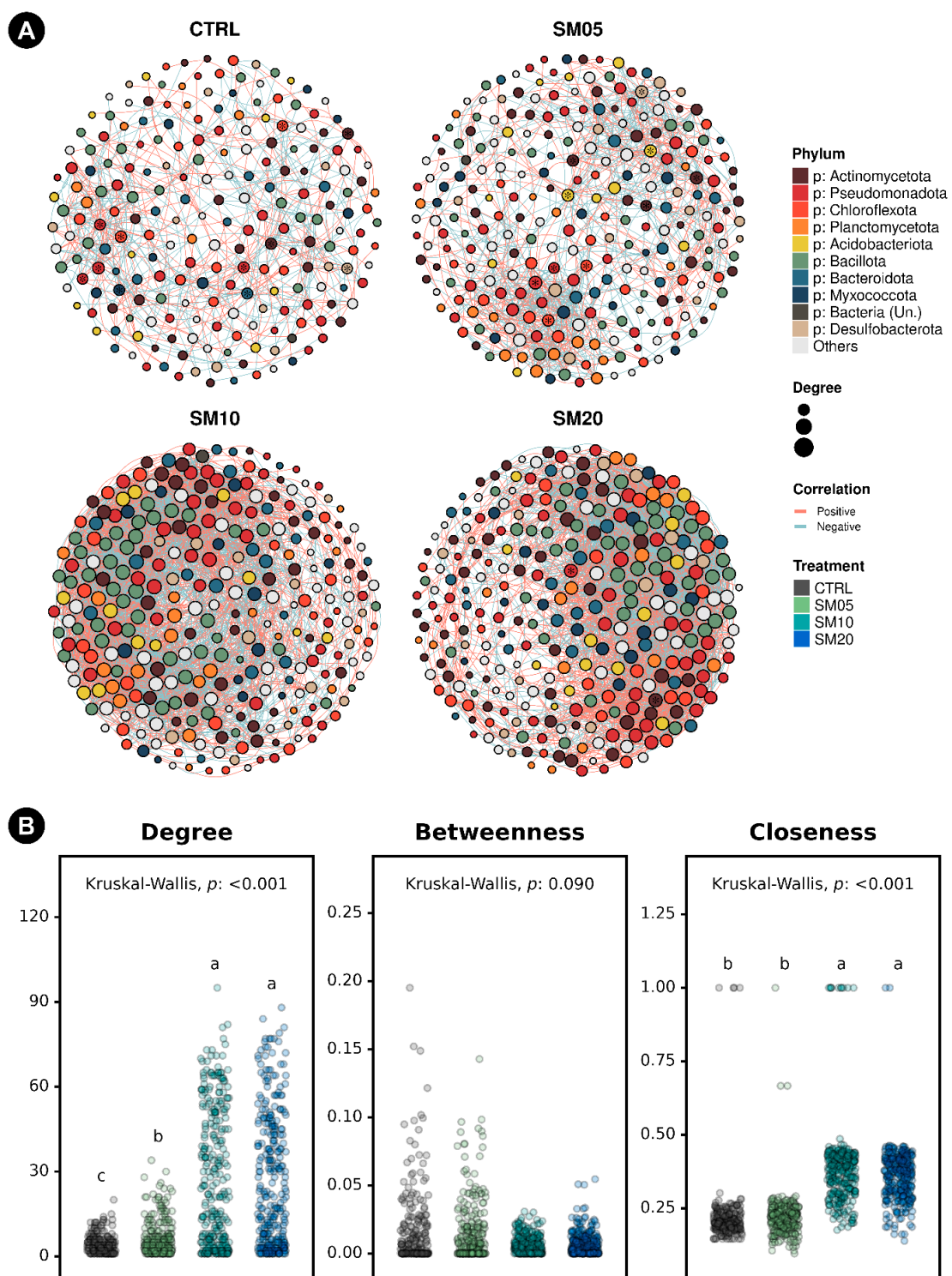


Figura 8. (A) Redes de coocorrência das famílias bacterianas para os tratamentos CTRL, SM05, SM10 e SM20. Os nós são coloridos por filo, e as linhas indicam correlações positivas (vermelho) ou negativas (azul). Além disso os asteriscos indicam táxons-chave. (B) Métricas topológicas das redes (Degree, Betweenness e Closeness) entre os tratamentos, com diferenças significativas avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).

Tabela 7. Métricas topológicas das redes de coocorrência microbiana na rizosfera de plantas de tomate para os tratamentos CTRL, SM05, SM10 e SM20. Letras sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Métrica topológica	CTRL	SM05	SM10	SM20
Nós	213	261	297	299
Conexões	453	834	4060	3973
Positivas	219 (48.34%)	406 (48.68%)	2050 (50.49%)	2087 (52.53%)
Negativas	234 (51.66%)	428 (51.32%)	2010 (49.51%)	1886 (47.47%)
Modularidade	8.80E-03	4.80E-03	2.50E-03	5.00E-04
Modulos	3	2	6	2
Coefficiente de aglomeração	0.302	0.394	0.523	0.524
Média de Degree	4.254 ^c (±3.379)	6.391 ^b (±6.294)	27.34 ^a (±23.892)	26.575 ^a (±23.503)
Média de Betweenness	0.018 (±0.029)	0.015 (±0.023)	0.006 (±0.007)	0.007 (±0.008)
Média de Closeness	0.22 ^b (±0.113)	0.219 ^b (±0.075)	0.384 ^a (±0.135)	0.36 ^a (±0.089)

5.7. Perfis funcionais

A perfilagem funcional dos tratamentos identificou um total de 7.778 ortólogos KEGG (KOs). Comparações estatísticas contra o tratamento controle (CTRL) revelaram 237, 222 e 481 KOs diferencialmente abundantes nos tratamentos SM05, SM10 e SM20, respectivamente (Figura 9.A, Apêndice E). Os tratamentos SM05 e SM20 exibiram proporções relativamente equilibradas de KOs com abundâncias aumentadas e reduzidas. Em contraste, o tratamento SM10 exibiu um perfil distinto, com a maioria dos seus KOs diferencialmente abundantes mostrando abundância reduzida (206 de 222, 92,79%) (Figura 9.A).

Ao analisar o perfil geral (Figura 9.B, “All Orthologs”) para SM05, SM10 e SM20, eles parecem relativamente equilibrados em termos de categorias de características de promoção de crescimento de plantas (PGPT), sem grandes mudanças na composição geral. Em relação aos diferencialmente abundantes, a proporção de

ortólogos não relacionados a PGPTs (non-PGPT) é mais enriquecida, variando entre 59,25% (SM05) e 43,61% (SM10). Em todas as categorias de PGPTs, funções com efeito direto, como produção de fitohormônios, biofertilização e biorremediação, atingem taxas mais altas em SM20 (8,57%) (Figura 9.B, “Enriched Orthologs”). Funções relacionadas a efeitos indiretos, como colonização de plantas, controle de estresse, exclusão competitiva e estimulação da resposta imunológica das plantas, têm uma taxa ainda mais alta do que aquelas com efeitos diretos, cobrindo até 37,57% das funções enriquecidas em SM20 (Figura 9.B, “Enriched Orthologs”). Em SM10, observamos que a depleção de ortólogos foi distribuída em várias categorias, como estimulação da resposta imunológica das plantas, controle de estresse, biofertilização e produção de fitohormônios (Figura 9.B, “Depleted Orthologs”). Os dados sobre o perfil funcional dos tratamentos são detalhados no Apêndice E.

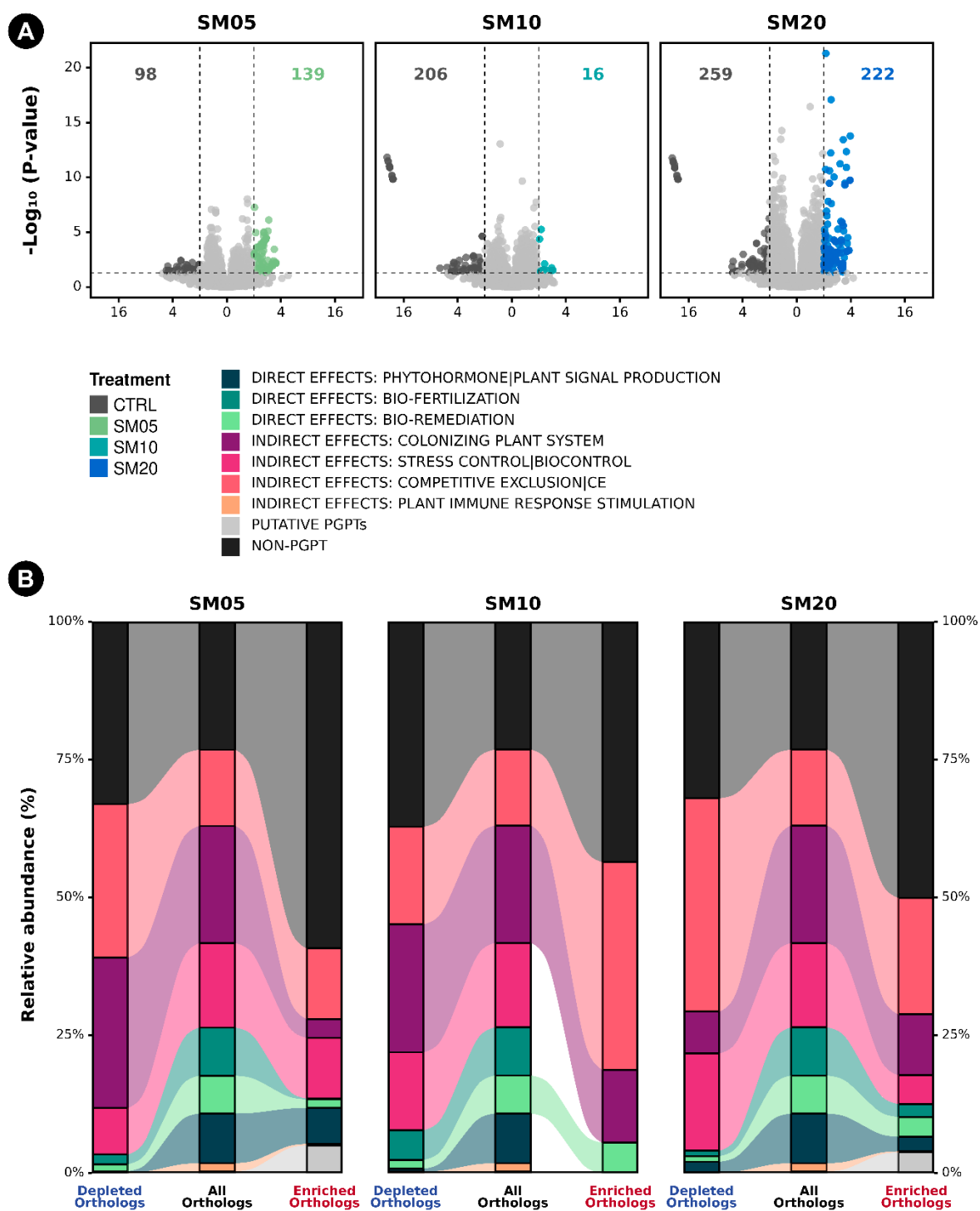


Figura 9. (A) Análise de expressão diferencial de ortólogos KEGG sob condições de controle e tratadas com diferentes concentrações de *Spirulina maxima* (SM05, SM10, SM20). (B) Distribuição funcional de ortólogos relacionados a características promotoras de crescimento de plantas (PGPTs) identificadas pelo PLaBase.

6. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo explorar e comparar as comunidades microbianas da rizosfera de plantas de tomate fertilizadas com diferentes concentrações de biomassa de *Spirulina maxima*, visando compreender as dinâmicas ecológicas dessas comunidades, incluindo aspectos de composição, diversidade e funcionalidade.

A aplicação de biomassa de *Spirulina maxima* resultou em melhorias significativas nos parâmetros biométricos e nos teores de pigmentos das plantas de tomate, com efeitos proporcionais às concentrações utilizadas (Tabela 3; Figura 3). Os dados mostraram uma resposta dependente da dose; à medida que a concentração da cianobactéria aumentava, incrementos progressivos e significativos ($p < 0,005$) foram observados em todos os parâmetros de crescimento analisados. Estas mudanças podem ser atribuídas principalmente ao fornecimento de nutrientes essenciais, compostos bioativos e alterações no microbioma do solo.

Estes resultados corroboram estudos anteriores: Mutale-joan *et al.* (2020) relataram um crescimento de até 89,87% no comprimento da raiz de plantas de tomate fertilizadas com extrato bruto de *Spirulina maxima*, enquanto El-Sayed *et al.* (2024) observaram que, em alecrim tratado com concentrações mais baixas (0,5% a 1,0%) da mesma cianobactéria, houve aumentos de até 30% na altura dos ramos, 1,5 vezes mais folhas e biomassa fresca e seca até 2,1 vezes maior. Outros estudos demonstraram que a biomassa de cianobactérias pode induzir fortes respostas fisiológicas em plantas, aumentando o comprimento e o peso da parte aérea e das raízes (Dias *et al.*, 2016; Fal *et al.*, 2023; Shedeed *et al.*, 2022; Wuang *et al.*, 2016).

Os tratamentos também elevaram o teor de pigmentos nas folhas (Tabela 3; Figura 3). Resultados similares a este também foi relatado em *Oryza sativa* tratada com suspensões celulares de cianobactérias (Singh *et al.*, 2011). Em *Amaranthus dubius*, o teor total de clorofila foi quatro vezes maior no grupo experimental do que no controle (Mala *et al.*, 2017). Além disso, Wuang *et al.* (2016) destacaram que a biomassa de *Spirulina* possui alto conteúdo de manganês, elemento que ativa

enzimas envolvidas na assimilação de nitrogênio e é essencial para a síntese de clorofila.

O perfil taxonômico revelou maior abundância do filo Myxococcota nas amostras controle (Apêndice D), conhecido por incluir bactérias com comportamentos predatórios (Kamada; Wakabayashi; Naganuma, 2023). Esse filo apresentou forte correlação negativa com os parâmetros de crescimento das plantas e ganho de biomassa (Figura 5.A; Apêndice C). Em concentrações intermediárias (SM05 e SM10), Chlamydiota e Cyanobacteriota foram mais abundantes (Apêndices B e D). O primeiro filo inclui bactérias intracelulares obrigatórias, amplamente conhecidas por espécies patogênicas como *Chlamydia trachomatis*, mas também por cepas não patogênicas que podem participar de interações simbióticas (Elwell; Mirrashidi; Engel, 2016; Köstlbacher *et al.*, 2021). Já Cyanobacteriota, ao qual *Spirulina maxima* pertence, compreende organismos fotossintéticos cruciais na fixação de nitrogênio (Bothe *et al.*, 2010). No tratamento SM20, houve maior dominância dos filos Verrucomicrobiota, conhecidos por sua resiliência a condições extremas e contribuição no ciclo de carbono e metano em ambientes ricos em matéria orgânica (Schmitz *et al.*, 2021), e Acidobacteriota, único filo com forte correlação positiva com todas as variáveis morfológicas, amplamente distribuído em solos e essencial na decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, especialmente em ambientes ácidos (Kalam *et al.*, 2020) (Apêndice D).

Foram identificadas famílias bacterianas que potencialmente influenciam a saúde das plantas, com abundância diferencial entre os sistemas (Figura 7; Apêndice D). A família *Burkholderiaceae* apresentou aumento em sua abundância relativa nos dois tratamentos de maior concentração (SM10 e SM20; Figura 7; Apêndice D). Membros da família *Burkholderiaceae*, como *Burkholderia vietnamiensis*, funcionam como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPT). Esses microrganismos melhoram o crescimento das plantas por meio de mecanismos como fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato (Esmaeel *et al.*, 2020). Certas cepas de *Burkholderia* podem ativar resistência sistêmica em plantas, levando ao aumento da expressão de genes relacionados à defesa e à acumulação de espécies reativas de oxigênio (Liu *et al.*, 2022). A família *Rhodobacteraceae* foi consistentemente aumentada nos tratamentos com o bioestimulante (Figura 7; Apêndice D). Hayashi *et*

al. (2022) relataram promoção do crescimento de plantas resultante da aplicação foliar de lipopolissacarídeos de *Rhodobacter sphaeroides*, um membro da família *Rhodobacteraceae*.

No entanto, é notável que algumas famílias bacterianas que contêm membros reconhecidos por sua capacidade de promover o crescimento de plantas tiveram suas abundâncias reduzidas nas amostras tratadas. A família *Streptomycetaceae*, que apresentou abundância abaixo do controle nos tratamentos SM05 e SM20 (Figura 7; Apêndice D), inclui o gênero *Streptomyces*, conhecido por produzir uma ampla gama de antibióticos e metabólitos secundários. Certas espécies de *Streptomyces* atuam como agentes de biocontrole, suprimindo patógenos de plantas e promovendo o crescimento vegetal (Vurukonda; Giovanardi; Stefani, 2018). Dentro do filo Bacillota, bastante abundante entre os tratamentos (Figura 4; Apêndices B e D), a família *Bacillaceae*, ligeiramente reduzida no tratamento SM20 (Figura 7; Apêndice D), inclui o gênero *Bacillus*, cujas espécies são bem documentadas por suas propriedades promotoras de crescimento vegetal e atividades de biocontrole (Hashmi; Bindschedler; Junier, 2020; Shan *et al.*, 2024; Tiwari; Prasad; Lata, 2019). Da mesma forma, a família *Paenibacillaceae*, que inclui membros conhecidos por produzir substâncias antimicrobianas (Grady *et al.*, 2016), mostrou maior abundância no controle em comparação com as amostras SM20.

Embora a riqueza de ASV não tenha mostrado diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,097$), os índices de diversidade de Shannon e Gini-Simpson confirmaram uma relação inversamente proporcional entre a diversidade bacteriana do solo e a concentração do bioestimulante (Figura 6.A; Tabela 5). Quanto ao índice de beta diversidade baseado nas distâncias UniFrac ponderadas, a análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) revelou diferenças composicionais significativas ($p \leq 0,05$), indicando que a concentração de *Spirulina maxima* influencia a composição microbiana entre os tratamentos (Figura 6.B; Tabela 6).

A redução observada na riqueza e diversidade pode estar associada ao aumento súbito de nutrientes disponíveis. Quando os nutrientes estão em alta disponibilidade, organismos especializados em usar recursos limitados (estrategistas

K) podem ser suprimidos ou substituídos por microrganismos de crescimento rápido (estrategistas *r*) que dominam o ecossistema (Zheng *et al.*, 2024). Estudos anteriores também relataram que o enriquecimento de nutrientes pode estar relacionado à diminuição da diversidade de comunidades microbianas (Gonzalez *et al.*, 2023; Hu *et al.*, 2024; Kearns *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2023). Para o tomate, Liu-Xu *et al.* (2024) relataram influências do genótipo da planta na modulação da microbiota associada. A diversidade da comunidade fúngica diminuiu, mas nenhum impacto significativo foi observado na diversidade bacteriana. Por outro lado, French *et al.* (2020) observaram uma contribuição significativa do micro-habitat e do genótipo nos padrões de beta diversidade.

Conforme observado por Zhu *et al.* (2021), a quantidade de insumos nutricionais pode resultar em redes de coocorrência mais complexas e com maior conectividade, o que significa que a nutrição do solo molda a estrutura da comunidade microbiana, levando a importantes inferências. As análises de redes de coocorrência sob diferentes condições de fertilização com biomassa de *Spirulina* demonstraram padrões de conexão distintos, embora essas culturas compartilhem condições similares, já que o experimento ocorreu em uma casa de vegetação (Figura 8; Tabela 7). Nas redes, os táxons desempenham funções e papéis ecológicos distintos e podem impactar outros membros, afetando a saúde das plantas e o funcionamento do ecossistema (Heijden; Hartmann, 2016).

A presença de um alto número de táxons-chave associados a baixa densidade de conexão nas redes CTRL e SM05 sugere forte dependência estrutural desses táxons centrais para a manutenção da funcionalidade ecossistêmica. Essa configuração caracteriza uma rede potencialmente vulnerável, pois a remoção de um ou mais táxons-chave pode comprometer significativamente a integridade e a conectividade global (Koschützki; Schreiber, 2008). A alta conectividade em SM10 e SM20 indica a existência de redundância ecológica entre os táxons, reduzindo a dependência de elementos específicos e aumentando a resiliência da rede a perturbações (Biggs *et al.*, 2020). Nesse cenário, a remoção de um nó individual tem menos impacto na integridade da rede, garantindo a manutenção dos fluxos biológicos e ecológicos. Além disso, altos valores de centralidade de proximidade refletem maior eficiência na disseminação de informações, nutrientes ou outros recursos ao longo da

rede, devido à redução da proximidade média entre os nós (Wang; Wang; Zheng, 2022). Essa característica contribui para processos mais dinâmicos e ágeis, favorecendo a adaptação a mudanças ambientais.

Entre os tratamentos, o perfil funcional de genes ortólogos preditos associados à promoção do crescimento das plantas mostrou os resultados mais notáveis em SM20. Nesse tratamento, observa-se um equilíbrio entre funções enriquecidas e depletadas, similar ao SM05, mas com um número muito maior de funções diferencialmente abundantes (Figura 9.A). Apesar disso, a taxa de ortólogos não relacionados a funções promotoras de crescimento de plantas (Non-PGPT) foi mais enriquecida (Figura 9.B; Apêndice E). Reid *et al.* (2024) observaram resultados semelhantes na fertilização do milho com grânulos de NPK, onde a seleção de gêneros bacterianos associados às raízes com funções PGPT foi reduzida pelo enriquecimento de nutrientes no solo. Isso sugere que o crescimento do tomate pode estar mais relacionado a disponibilidade de nutrientes a planta do que pelas mudanças provocadas na microbiota.

7. CONCLUSÕES

A aplicação de soluções contendo biomassa de *Spirulina maxima* em *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* resultou em um crescimento significativamente superior das plantas nas condições experimentais estabelecidas, além de promover alterações na comunidade bacteriana da rizosfera, mesmo em concentrações mais baixas.

Os incrementos observados nos parâmetros biométricos e nos teores de pigmentos foram diretamente proporcionais à concentração da biomassa da cianobactéria, o que sugere seu potencial como bioestimulante. No entanto, esses resultados ressaltam a necessidade de investigações mais amplas para compreender os mecanismos subjacentes e validar sua eficácia em diferentes contextos agrícolas.

Para viabilizar sua aplicação em larga escala, é essencial uma avaliação aprofundada de seus impactos em longo prazo, considerando diferentes concentrações e tempos de exposição. Além disso, a exploração de distintas formas de aplicação e estados fisiológicos da cianobactéria poderá fornecer insights valiosos sobre sua atuação no solo.

A presença da biomassa de *S. maxima* em concentrações mais elevadas resultou em redes de coocorrência bacteriana mais conectadas e caracterizadas por interações predominantemente positivas, além de aumentar sua resiliência. Entretanto, também foi observada uma redução – e, em alguns casos, supressão – de determinadas famílias bacterianas e funções associadas à promoção do crescimento vegetal, além da diminuição da riqueza e diversidade de ASVs.

Esses achados sugerem que a biomassa de *S. maxima* favoreceu o crescimento das plantas por meio do incremento nutricional do meio, que estimulou a formação de uma rede microbiana resiliente e com maior quantidade de conexões positivas. Dessa forma, estudos adicionais são necessários para elucidar melhor esses efeitos, incluindo uma cobertura mais ampla do gene 16S (como a inclusão da região V3), a incorporação do gene marcador ITS para fungos e outros eucariotos, bem como a realização de sequenciamentos de maior extensão.

Diante desses resultados, a biomassa de *S. maxima* apresenta-se como um potencial bioestimulante, mas sua aplicação em sistemas agrícolas requer uma abordagem cautelosa e embasada em evidências científicas mais robustas. Estudos futuros deverão focar na otimização de suas condições de uso, na avaliação de seus impactos ecológicos e na busca por estratégias que equilibrem o enriquecimento nutricional do solo com a manutenção da biodiversidade microbiana benéfica.

8. REFERÊNCIAS

- ABDELMAGEED, A.; GRUDA, N.; GEYER, B. Effects of Temperature and Grafting on the Growth and Development of Tomato Plants under Controlled Conditions. *In: , 2004. Anais [...]*. [S. l.: s. n.], 2004. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Effects-of-Temperature-and-Grafting-on-the-Growth-Abdelmageed-Gruda/5292113c5aca99402791a826bdd87163b8e7d201>.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 143–169, 1995.
- ANDERSEN, K. S. *et al.* ampvis2: an R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. **bioRxiv**, [s. l.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/299537>.
- ANDREWS, S. **FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data**. [S. l.]: Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Cambridge, United Kingdom, 2010.
- ARBIZU, P. M. **pairwiseAdonis: Pairwise Multilevel Comparison using Adonis**. [S. l.: s. n.], 2017.
- BAI, Y.; LINDHOUT, P. Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future?. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 100, n. 5, p. 1085–1094, 2007.
- BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Induced Systemic Resistance by Fluorescent *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, [s. l.], v. 97, n. 2, p. 239–243, 2007.
- BANERJEE, S. *et al.* Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. **The ISME Journal**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1722–1736, 2019.
- BARRY, C. S.; GIOVANNONI, J. J. Ethylene and Fruit Ripening. **Journal of Plant Growth Regulation**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 143–159, 2007.
- BELAY, A. Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance. *In: SPIRULINA IN HUMAN NUTRITION AND HEALTH*. [S. l.]: CRC Press, 2007.
- BENÍTEZ-PÁEZ, A.; SANZ, Y. Multi-locus and long amplicon sequencing approach to study microbial diversity at species level using the MinION™ portable nanopore sequencer. **GigaScience**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. gix043, 2017.
- BERDY, B. *et al.* In situ cultivation of previously uncultivable microorganisms using the ichip. **Nature Protocols**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 2232–2242, 2017.
- BERNARDES, P. C. *et al.* Metataxonomic identification of microorganisms and sensory attributes of *Coffea canephora* under conventional processing and Self-Induced

Anaerobiosis Fermentation. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 122, 2025.

BIGGS, C. R. *et al.* Does functional redundancy affect ecological stability and resilience? A review and meta-analysis. **Ecosphere**, [s. l.], v. 11, n. 7, p. e03184, 2020.

BIK, H. M. *et al.* Sequencing our way towards understanding global eukaryotic biodiversity. **Trends in Ecology & Evolution**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 233–243, 2012.

BLANCA, J. *et al.* Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 257, 2015.

BOTHE, H. *et al.* Nitrogen Fixation and Hydrogen Metabolism in Cyanobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [s. l.], v. 74, n. 4, p. 529–551, 2010.

CALLAHAN, B. J. *et al.* DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 581, 2016.

CAPORASO, J. G. *et al.* Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 108, n. supplement_1, p. 4516–4522, 2011.

CECCON, D. M. *et al.* Metataxonomic and metagenomic analysis of mangrove microbiomes reveals community patterns driven by salinity and pH gradients in Paranaguá Bay, Brazil. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 694, p. 133609, 2019.

CHAUDHRY, V. *et al.* Changes in Bacterial Community Structure of Agricultural Land Due to Long-Term Organic and Chemical Amendments. **Microbial Ecology**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 450–460, 2012.

CHEN, S. *et al.* fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 34, n. 17, p. i884–i890, 2018.

CIFERRI, O. Spirulina, the edible microorganism. **Microbiological Reviews**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 551–578, 1983.

COHEN, Z.; VONSHAK, A. Fatty acid composition of Spirulina and spirulina-like cyanobacteria in relation to their chemotaxonomy. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 205–206, 1991.

COSTA, J. A. V.; COLLADO, L. M.; FILHO, P. F. D. Improving Spirulina platensis biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 237–241, 2004.

COSTEA, P. I. *et al.* Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. **Nature Biotechnology**, [s. l.], v. 35, n. 11, p. 1069–1076, 2017.

CSARDI, G.; NEPUSZ, T. The igraph software package for complex network research. **InterJournal**, [s. l.], v. Complex Systems, p. 1695, 2006.

DE MORAIS, M. G. *et al.* Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2015, n. 1, p. 835761, 2015.

DEINER, K. *et al.* Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 26, n. 21, p. 5872–5895, 2017.

DELGADO-BAQUERIZO, M. *et al.* A global atlas of the dominant bacteria found in soil. **Science**, [s. l.], v. 359, n. 6373, p. 320–325, 2018.

DIAS, G. A. *et al.* Growth, yield, and postharvest quality in eggplant produced under different foliar fertilizer (*Spirulina platensis*) treatments. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 3893–3902, 2016.

DIDION, J. P.; MARTIN, M.; COLLINS, F. S. Atropos: specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. **PeerJ**, [s. l.], v. 5, p. e3720, 2017.

DOUGLAS, G. M. *et al.* **PICRUSt2: An improved and extensible approach for metagenome inference**. [S. l.]: Bioinformatics, 2019. preprint. Disponível em: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/672295>.

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

EDGAR, R. C. **UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing**. [S. l.]: bioRxiv, 2016. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/081257v1>.

EDGAR, R. C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. **Nature Methods**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 996–998, 2013.

EL HABBASHA, E. S. Mitigation Salinity Stress Effects on Barley (*Hordeum vulgare* L.) Growth, Yield and Some Physiological Aspects by Hemin 1,2. [s. l.], 2014.

EL-SAYED, H. S. *et al.* Melhoria do crescimento e dos constituintes bioquímicos de *Rosmarinus officinalis* por meio de biofertilizante fermentado de *Spirulina maxima*. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 208, p. 108452, 2024.

ELWELL, C.; MIRRASHIDI, K.; ENGEL, J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. **Nature reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 385–400, 2016.

ESMAEEL, Q. *et al.* The mode of action of plant associated Burkholderia against grey mould disease in grapevine revealed through traits and genomic analyses. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, p. 19393, 2020.

FAL, S. *et al.* Aphanothece sp. as promising biostimulant to alleviate heavy metals stress in *Solanum lycopersicum* L. by enhancing physiological, biochemical, and metabolic responses. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 6875, 2023.

FAO, F. and A. O. of the U. N. **Soil pollution: a hidden reality**. [S. l.]: Food & Agriculture Org., 2018.

FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 579–590, 2017.

FIERER, N.; JACKSON, R. B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 103, n. 3, p. 626–631, 2006.

FLORES, F. J. *et al.* Microbial Community Composition of Explosive-Contaminated Soils: A Metataxonomic Analysis. **Microorganisms**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 453, 2025.

FRENCH, E.; TRAN, T.; IYER-PASCUZZI, A. S. Tomato Genotype Modulates Selection and Responses to Root Microbiota. **Phytobiomes Journal**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 314–326, 2020.

GARCIA-GONZALEZ, J.; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 1051–1061, 2016.

GOEL, D. *et al.* Transformation of tomato with a bacterial *codA* gene enhances tolerance to salt and water stresses. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 168, n. 11, p. 1286–1294, 2011.

GONZALEZ, S. V. *et al.* Organic enrichment reduces sediment bacterial and archaeal diversity, composition, and functional profile independent of bioturbator activity. **Marine Pollution Bulletin**, [s. l.], v. 196, p. 115608, 2023.

GÓRKA, B. *et al.* The Biomass of Algae and Algal Extracts in Agricultural Production. In: CHOJNACKA, K. *et al.* (org.). **Algae Biomass: Characteristics and Applications: Towards Algae-based Products**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 103–114. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-74703-3_9.

GRADY, E. N. *et al.* Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 203, 2016.

GRIFFITHS, B. S.; PHILIPPOT, L. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. **FEMS microbiology reviews**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 112–129, 2013.

GU, Z.; EILS, R.; SCHLESNER, M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 32, n. 18, p. 2847–2849, 2016.

HABIB, M. A. B. *et al.* A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. [s. l.], n. 1034, p. 33, 2008.

HACHICHA, Rihab *et al.* Biomolecules from Microalgae and Cyanobacteria: Applications and Market Survey. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 1924, 2022.

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

HASHMI, I.; BINDSCHEDLER, S.; JUNIER, P. Chapter 18 - Firmicutes. *In*: AMARESAN, N. *et al.* (org.). **Beneficial Microbes in Agro-Ecology**. [S. l.]: Academic Press, 2020. p. 363–396. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128234143000186>.

HAYASHI, S. *et al.* Plant-Growth-Promoting Effect by Cell Components of Purple Non-Sulfur Photosynthetic Bacteria. **Microorganisms**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 771, 2022.

HEIJDEN, M. G. A. van der; HARTMANN, M. Networking in the Plant Microbiome. **PLOS Biology**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. e1002378, 2016.

HU, Z. *et al.* Nutrient-induced acidification modulates soil biodiversity-function relationships. **Nature Communications**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 2858, 2024.

HUGERTH, L. W.; ANDERSSON, A. F. Analysing Microbial Community Composition through Amplicon Sequencing: From Sampling to Hypothesis Testing. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.01561/full>.

JOHNSON, J. S. *et al.* Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 5029, 2019.

JORGE, M. H. A. *et al.* Recomendações técnicas para utilização de bandejas multicelulares na produção de mudas de hortaliças. [s. l.], 2019. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1110312>.

KALAM, S. *et al.* Recent Understanding of Soil Acidobacteria and Their Ecological Significance: A Critical Review. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 11, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.580024/full>.

KAMADA, S.; WAKABAYASHI, R.; NAGANUMA, T. Phylogenetic Revisit to a Review on Predatory Bacteria. **Microorganisms**, [s. l.], v. 11, n. 7, p. 1673, 2023.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 27–30, 2000.

KEARNS, P. J. *et al.* Nutrient enrichment induces dormancy and decreases diversity of active bacteria in salt marsh sediments. **Nature Communications**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 12881, 2016.

KLEE, H. J.; GIOVANNONI, J. J. Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. **Annual Review of Genetics**, [s. l.], v. 45, p. 41–59, 2011.

KNAPP, S.; PERALTA, I. E. The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and Its Botanical Relatives. *In*: CAUSSE, M. *et al.* (org.). **The Tomato Genome**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2016. p. 7–21. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-662-53389-5_2.

KÖLJALG, U. *et al.* Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 22, n. 21, p. 5271–5277, 2013.

KOMÁREK, J. *et al.* Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) using a polyphasic approach. [s. l.], v. 86, n. 4, 2014. Disponível em: <https://www.preslia.cz/article/103>.

KORU, E. Earth Food Spirulina (*Arthrospira*): Production and Quality Standarts. *In*: FOOD ADDITIVE. [S. l.]: IntechOpen, 2012. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/28916>.

KOSCHÜTZKI, D.; SCHREIBER, F. Centrality Analysis Methods for Biological Networks and Their Application to Gene Regulatory Networks. **Gene Regulation and Systems Biology**, [s. l.], v. 2, p. 193–201, 2008.

KÖSTLBACHER, S. *et al.* Pangenomics reveals alternative environmental lifestyles among chlamydiae. **Nature Communications**, [s. l.], v. 12, p. 4021, 2021.

KUMAR, J. S.; MEHTA, P. EFFECT OF SPIRULINA PLATENSIS ON GROWTH OF FENUGREEK AS A BIOFERTILIZER. **International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 11, 2023. Disponível em: https://ijbpas.com/pdf/2023/November/MS_IJBPAS_2023_7532.pdf.

KURTZ, Z. D. *et al.* Sparse and Compositionally Robust Inference of Microbial Ecological Networks. **PLOS Computational Biology**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. e1004226, 2015.

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**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 504–523, 2015.

LAHTI, L.; SHETTY, S. **microbiome R package**. [S. l.: s. n.], 2012.

LEE, J.-M. *et al.* Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 127, n. 2, Special Issue on Vegetable Grafting, p. 93–105, 2010.

LEHTOVIRTA-MORLEY, L. E. Ammonia oxidation: Ecology, physiology, biochemistry and why they must all come together. **FEMS Microbiology Letters**, [s. l.], v. 365, n. 9, p. fny058, 2018.

LICHTENTHALER, H. K. [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *In: METHODS IN ENZYMOLOGY*. [S. l.]: Academic Press, 1987. (Plant Cell Membranes). v. 148, p. 350–382. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687987480361>.

LIU, M. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria *Burkholderia vietnamiensis* B418 inhibits root-knot nematode on watermelon by modifying the rhizosphere microbial community. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 8381, 2022.

LIU-XU, L. *et al.* Exploring the impact of plant genotype and fungicide treatment on endophytic communities in tomato stems. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 15, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1453699/full>.

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

LYNCH, M. D. J.; NEUFELD, J. D. Ecology and exploration of the rare biosphere. **Nature Reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 217–229, 2015.

MAGOC, T.; SALZBERG, S. L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 27, n. 21, p. 2957–2963, 2011.

MALA, R. *et al.* Agronomic Biofortification of *Amaranthus dubius* with Macro Nutrients and Vitamin A. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s. l.], v. 225, n. 1, p. 012214, 2017.

MARKOU, G. *et al.* Using agro-industrial wastes for the cultivation of microalgae and duckweeds: Contamination risks and biomass safety concerns. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 1238–1254, 2018.

MCDONALD, D. *et al.* Greengenes2 unifies microbial data in a single reference tree. **Nature Biotechnology**, [s. l.], v. 42, n. 5, p. 715–718, 2024.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.

MIKRYUKOV, V. **metagMisc: Miscellaneous functions for metagenomic analysis**. [S. l.: s. n.], 2022.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e A. (MAPA). Regras para análise de sementes. [s. l.], 2009. Disponível em: <http://192.168.3.118:8080/jspui/handle/1/423>.

MÓGOR, Á. F. *et al.* Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 453–460, 2018.

MUTALE-JOAN, C. *et al.* Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 2820, 2020.

OKSANEN, J. *et al.* **vegan: Community Ecology Package**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

PATZ, S. *et al.* **PLaBAs: A comprehensive web resource for analyzing the plant growth-promoting potential of plant-associated bacteria**. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.12.13.472471>.

PERALTA, I. E.; SPOONER, D. M. Granule-bound starch synthase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* [Mill.] Wettst. subsection *Lycopersicon*). **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 88, n. 10, p. 1888–1902, 2001.

PHILIPPOT, L. *et al.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 789–799, 2013.

PRASANNA, R. *et al.* Soil fertility and establishment potential of inoculated cyanobacteria in rice crop grown under non-flooded conditions. **Paddy and Water Environment**, [s. l.], v. 11, n. 1–4, p. 175–183, 2013.

PUGLISI, I. *et al.* Morpho-biometric and biochemical responses in lettuce seedlings treated by different application methods of *Chlorella vulgaris* extract: foliar spray or root drench?. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 889–901, 2022.

QUAST, C. *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 41, n. D1, p. D590–D596, 2013.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

RADY, M. M. *et al.* Spirulina platensis extract improves the production and defenses of the common bean grown in a heavy metals-contaminated saline soil. **Journal of Environmental Sciences (China)**, [s. l.], v. 129, p. 240–257, 2023.

RANJAN, K. *et al.* Cyanobacterial inoculation modifies the rhizosphere microbiome of rice planted to a tropical alluvial soil. **Applied Soil Ecology**, [s. l.], v. 108, p. 195–203, 2016.

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 55, n. 3, Nutritional Pharmacology, p. 207–216, 2007.

RASTOGI, R. P.; SINHA, R. P. Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 521–539, 2009.

REID, T. E. *et al.* Agricultural intensification reduces selection of putative plant growth-promoting rhizobacteria in wheat. **The ISME Journal**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. wrae131, 2024.

REVELLE, W. **psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research**. Evanston, Illinois: Northwestern University, 2022. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=psych>.

ROSSI, F. *et al.* Cyanobacterial inoculation (cyanobacterisation): Perspectives for the development of a standardized multifunctional technology for soil fertilization and desertification reversal. **Earth-Science Reviews**, [s. l.], v. 171, p. 28–43, 2017.

ROUSK, J. *et al.* Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME Journal**, [s. l.], v. 4, n. 10, p. 1340–1351, 2010.

SALTER, S. J. *et al.* Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. **BMC Biology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 87, 2014.

SATO, S. *et al.* The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, [s. l.], v. 485, n. 7400, p. 635–641, 2012.

SCHIRRMESTER, B. E. *et al.* Evolution of multicellularity coincided with increased diversification of cyanobacteria and the Great Oxidation Event. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 110, n. 5, p. 1791–1796, 2013.

SCHLIEP, K. P. phangorn: phylogenetic analysis in R. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 592–593, 2011.

SCHMITZ, R. A. *et al.* Verrucomicrobial methanotrophs: ecophysiology of metabolically versatile acidophiles. **FEMS Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 45, n. 5, p. fuab007, 2021.

SHAN, Y. *et al.* Insights into the biocontrol and plant growth promotion functions of *Bacillus altitudinis* strain KRS010 against *Verticillium dahliae*. **BMC Biology**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 116, 2024.

SHEDEED, Z. A. *et al.* *Spirulina platensis* Biofertilization for Enhancing Growth, Photosynthetic Capacity and Yield of *Lupinus luteus*. **Agriculture**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 781, 2022.

SHOKRALLA, S. *et al.* Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. **Molecular Ecology**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 1794–1805, 2012.

SINGH, D. P. *et al.* Cyanobacteria-mediated phenylpropanoids and phytohormones in rice (*Oryza sativa*) enhance plant growth and stress tolerance. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s. l.], v. 100, n. 4, p. 557–568, 2011.

SINGH, R. *et al.* Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects.

Frontiers in Microbiology, [s. l.], v. 8, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.00515/full>.

SPANOGHE, J. *et al.* Storage, fertilization and cost properties highlight the potential of dried microbial biomass as organic fertilizer. **Microbial Biotechnology**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 1377–1389, 2020.

STEEN, A. D. *et al.* High proportions of bacteria and archaea across most biomes remain uncultured. **The ISME journal**, [s. l.], v. 13, n. 12, p. 3126–3130, 2019.

SUPRAJA, K. V.; BUNUSHREE, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 151, p. 112453, 2020.

TIWARI, S.; PRASAD, V.; LATA, C. Chapter 3 - Bacillus: Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture and Environment. In: SINGH, J. S.; SINGH, D. P. (org.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 43–55. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444641915000031>.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 240–245, 2002.

TURNER, T. R.; JAMES, E. K.; POOLE, P. S. The plant microbiome. **Genome Biology**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 209, 2013.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALLEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 296–310, 2008.

VONSHAK, A. Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry. In: VONSHAK, A. (org.). **Spirulina platensis (Arthrospira)**. London: Taylor and Francis, 1997. p. 43–65.

VURUKONDA, S. S. K. P.; GIOVANARDI, D.; STEFANI, E. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of Streptomyces spp. as Endophytes. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 952, 2018.

WAGG, C. *et al.* Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 111, n. 14, p. 5266–5270, 2014.

WANG, X. *et al.* Globally nitrogen addition alters soil microbial community structure, but has minor effects on soil microbial diversity and richness. **Soil Biology and Biochemistry**, [s. l.], v. 179, p. 108982, 2023.

WANG, M.; WANG, H.; ZHENG, H. A Mini Review of Node Centrality Metrics in Biological Networks. **International Journal of Network Dynamics and Intelligence**, [s. l.], p. 99–110, 2022.

WARDLE, D. A. *et al.* Ecological linkages between aboveground and belowground biota. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 304, n. 5677, p. 1629–1633, 2004.

WATANABE, F. *et al.* Characterization and Bioavailability of vitamin B12-Compounds from Edible Algae. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 325–331, 2002.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. [S. l.]: Springer-Verlag New York, 2016. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>.

WUANG, S. C. *et al.* Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. **Algal Research**, [s. l.], v. 15, p. 59–64, 2016.

XIAO, H. *et al.* A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 319, n. 5869, p. 1527–1530, 2008.

ZEGBE-DOMÍNGUEZ, J. A. *et al.* Water Relations, Growth, and Yield of Processing Tomatoes Under Partial Rootzone Drying. **Journal of Vegetable Crop Production**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 31–40, 2004.

ZHENG, W. *et al.* The response patterns of r- and K-strategist bacteria to long-term organic and inorganic fertilization regimes within the microbial food web are closely linked to rice production. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 942, p. 173681, 2024.

ZHU, P. *et al.* Insight into the effect of nitrogen-rich substrates on the community structure and the co-occurrence network of thermophiles during lignocellulose-based composting. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 319, p. 124111, 2021.

APÊNDICES

Apêndice A. Contagens de leitura antes e depois do pipeline de processamento e ASVs obtidos para cada réplica dos tratamentos. ID indica a identificação das amostras e Raw os dados brutos de sequenciamento. wAdapt, QC, Merged, Filter & Trim e Denoised indicam, respectivamente, a quantidade de leituras após a verificação de adaptadores, eliminação de sequências erradas e de baixa qualidade, fusão das leituras pareadas, descarte de leituras que não atendem aos critérios de qualidade estabelecidos e remoção de erros. ASVs (Filt) indica a quantidade de sequências únicas obtidas (ASVs) e filtradas, e Usable, a porcentagem de dados utilizáveis ao final do processamento.

ID	Raw	wAdapt	QC	Merged	Filter & Trim	Denoised	ASVs	ASVs (Filt)	Usable (%)
CTRL.1	94.058	91.481	90.237	85.376	85.255	83.420	79.693	79.440	84.46
CTRL.2	79.464	77.196	76.279	72.599	72.494	70.968	67.763	67.559	85.02
CTRL.3	65.814	63.876	62.926	59.544	59.481	58.138	55.440	55.313	84.04
CTRL.4	65.849	64.163	63.428	60.476	60.405	59.044	56.320	56.193	85.34
CTRL.5	63.813	62.024	61.204	58.154	58.071	56.860	54.362	54.261	85.03
CTRL.6	70.774	68.511	67.208	63.007	62.905	61.664	59.067	58.848	83.15
SM05.1	70.572	68.562	67.799	64.689	64.633	63.245	60.637	60.421	85.62
SM05.2	64.053	62.092	60.995	57.539	57.477	56.196	53.750	53.629	83.73
SM05.3	98.908	96.227	94.995	90.210	90.099	88.113	84.134	83.874	84.80
SM05.4	77.781	75.695	74.765	71.124	71.057	69.452	66.182	65.948	84.79
SM05.5	54.740	52.971	52.203	49.385	49.310	48.271	46.157	46.011	84.05
SM05.6	69.834	68.090	67.309	64.283	64.236	62.585	59.256	59.126	84.67
SM10.1	74.743	72.660	71.660	67.996	67.907	66.411	63.404	63.207	84.57
SM10.2	66.787	65.077	64.268	61.170	61.102	59.673	56.885	56.726	84.94
SM10.3	74.823	72.488	71.166	67.402	67.337	65.681	62.125	62.015	82.88
SM10.4	62.917	61.341	60.654	57.942	57.880	56.381	53.415	53.288	84.70
SM10.5	68.933	67.127	66.343	63.822	63.780	62.399	58.649	58.547	84.93
SM10.6	72.213	69.698	67.835	63.935	63.871	62.512	59.494	59.400	82.26
SM20.1	72.946	71.118	70.317	67.137	67.071	65.242	61.825	61.604	84.45
SM20.2	70.959	68.773	67.516	63.668	63.578	62.070	58.985	58.799	82.86
SM20.3	70.097	68.217	67.353	64.508	64.467	62.531	58.227	58.130	82.93
SM20.4	62.244	60.623	59.890	57.181	57.122	55.508	52.266	52.129	83.75
SM20.5	75.072	72.956	71.799	67.940	67.865	66.180	62.381	62.224	82.89
SM20.6	65.124	63.512	62.718	60.328	60.295	57.426	51.459	51.360	78.86
Total	1.712.518	1.664.478	1.640.867	1.559.415	1.557.698	1.519.970	1.441.876	1.438.052	83.97
Média	71.355	69.353	68.369	64.976	64.904	63.332	60.078	59.919	83.97

Apêndice B. Abundância relativa dos 10 filos e 50 famílias mais predominantes entre o controle e os tratamentos. Os filos e famílias abaixo desse *ranking* estão agrupados em “Others”.

Phylum	CTRL	SM05	SM10	SM20
Actinomycetota	23.704%	22.640%	23.601%	23.364%
Pseudomonadota	21.616%	22.082%	22.359%	21.969%
Chloroflexota	16.356%	16.750%	16.140%	16.496%
Planctomycetota	6.512%	6.568%	6.529%	6.700%
Acidobacteriota	5.709%	5.935%	6.089%	6.415%
Bacillota	6.476%	5.806%	5.502%	5.809%
Bacteroidota	5.103%	5.220%	5.654%	4.977%
Myxococcota	3.525%	3.347%	3.022%	2.867%
Unclassified	2.305%	2.319%	2.153%	2.079%
Desulfobacterota	2.134%	1.930%	1.825%	1.865%
Others	6.562%	7.403%	7.126%	7.458%
Family	CTRL	SM05	SM10	SM20
<i>Dermatophilaceae</i>	3.492%	3.910%	4.976%	5.756%
<i>UBA4823</i>	2.636%	2.745%	2.422%	2.622%
<i>Sphingomonadaceae</i>	2.539%	2.507%	2.639%	2.307%
<i>Nocardioidaceae</i>	2.071%	2.061%	2.622%	2.757%
<i>UBA2999</i>	2.167%	2.296%	2.319%	2.510%
Unclassified	2.305%	2.319%	2.153%	2.079%
<i>Streptosporangiaceae</i>	2.553%	2.269%	2.022%	1.657%
<i>Xanthobacteraceae</i>	1.909%	1.990%	2.026%	2.067%
<i>Micrococcaceae</i>	1.827%	1.793%	1.716%	2.147%
<i>Burkholderiaceae</i>	1.495%	1.597%	1.835%	2.093%
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	1.867%	1.801%	1.723%	1.585%
<i>Streptomycetaceae</i>	1.998%	1.617%	1.745%	1.360%
Unclassified	1.562%	1.650%	1.535%	1.522%
<i>Cellulomonadaceae</i>	1.721%	1.611%	1.340%	1.223%
<i>Rhizobiaceae</i>	1.350%	1.351%	1.488%	1.446%
<i>Chitinophagaceae</i>	1.246%	1.359%	1.522%	1.351%
<i>Steroidobacteraceae</i>	1.513%	1.442%	1.284%	1.213%
<i>CSP1-4</i>	1.247%	1.279%	1.357%	1.420%
<i>Beijerinckiaceae</i>	1.179%	1.072%	1.295%	1.311%
<i>Exiguobacteraceae</i>	0.654%	0.632%	1.493%	2.013%

Family	CTRL	SM05	SM10	SM20
<i>Planctomycetaceae</i>	1.176%	1.160%	1.200%	1.206%
<i>Gemmataceae</i>	1.083%	1.146%	1.198%	1.295%
<i>Xanthomonadaceae</i>	0.926%	1.124%	1.297%	1.249%
<i>Anaerolineaceae</i>	1.093%	1.111%	1.057%	1.196%
<i>Caldilineaceae</i>	1.129%	1.130%	1.072%	1.017%
<i>Pirellulaceae</i>	0.948%	0.971%	0.931%	1.003%
<i>QHBO01</i>	0.989%	0.923%	0.980%	0.920%
<i>Micromonosporaceae</i>	1.155%	1.108%	0.815%	0.703%
<i>Cyclobacteriaceae</i>	1.018%	1.029%	0.922%	0.799%
Unclassified	1.015%	0.928%	0.940%	0.843%
<i>Phototrophicaceae</i>	0.836%	0.879%	0.896%	0.991%
<i>Devosiaceae</i>	0.894%	0.848%	0.942%	0.873%
<i>Nitrososphaeraceae</i>	0.786%	0.802%	0.937%	1.026%
Unclassified	0.799%	0.828%	0.771%	0.900%
<i>VadinHA17</i>	0.958%	0.816%	0.757%	0.736%
<i>Polyangiaceae</i>	0.804%	0.782%	0.618%	0.659%
<i>Lacipirellulaceae</i>	0.767%	0.734%	0.698%	0.658%
<i>Ilumatobacteraceae</i>	0.728%	0.726%	0.702%	0.622%
<i>SCN-69-37</i>	0.676%	0.632%	0.726%	0.740%
<i>Mycobacteriaceae</i>	0.726%	0.619%	0.634%	0.641%
<i>GCA-2729495</i>	0.722%	0.715%	0.594%	0.568%
Unclassified	0.700%	0.635%	0.647%	0.555%
Unclassified	0.608%	0.611%	0.613%	0.621%
<i>Aggregatilineaceae</i>	0.595%	0.615%	0.603%	0.599%
<i>UBA5794</i>	0.674%	0.603%	0.592%	0.517%
Unclassified	0.572%	0.587%	0.617%	0.590%
<i>Villigracilaceae</i>	0.539%	0.593%	0.584%	0.616%
<i>Gaiellaceae</i>	0.555%	0.605%	0.596%	0.489%
<i>Caulobacteraceae</i>	0.580%	0.523%	0.543%	0.503%
Unclassified	0.483%	0.507%	0.541%	0.590%
Others	38.138%	38.406%	36.466%	35.839%

Apêndice C. Correlação de Pearson (*r*) entre os parâmetros biométricos e os filós, e as famílias. Apenas valores de *r* maiores que 0,5 ou menores que -0,5 e $p \leq 0,05$ foram considerados.

Phylum	Variable	Pearson	p-value
Acidobacteriota	ShootFW	0.660	0.002
Myxococcota	ShootFW	-0.518	0.026
Acidobacteriota	ShootDW	0.664	0.002
Myxococcota	ShootDW	-0.533	0.021
Desulfobacterota	ShootDW	-0.590	0.008
Acidobacteriota	RootFW	0.635	0.003
Acidobacteriota	RootDW	0.629	0.004
Acidobacteriota	Leaves	0.668	0.001
Myxococcota	Leaves	-0.537	0.020
Acidobacteriota	ShootL	0.666	0.001
Myxococcota	ShootL	-0.582	0.010
Acidobacteriota	RootL	0.615	0.005
Myxococcota	RootL	-0.578	0.010
Acidobacteriota	ChlA	0.560	0.014
Acidobacteriota	ChlB	0.531	0.022
Acidobacteriota	Car	0.565	0.013
Family	Variable	Pearson	p-value
<i>Dermatophilaceae</i>	ShootFW	0.685	0.002
<i>Nocardiodaceae</i>	ShootFW	0.611	0.009
<i>UBA2999</i>	ShootFW	0.590	0.013
<i>Streptosporangiaceae</i>	ShootFW	-0.687	0.002
<i>Burkholderiaceae</i>	ShootFW	0.708	0.001
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	ShootFW	-0.631	0.007
<i>Streptomycetaceae</i>	ShootFW	-0.690	0.002
<i>Exiguobacteraceae</i>	ShootFW	0.562	0.020
<i>Micromonosporaceae</i>	ShootFW	-0.677	0.003
<i>Acidimicrobiales(Un.)</i>	ShootFW	-0.665	0.003
<i>Phototrophicaceae</i>	ShootFW	0.577	0.016
<i>Lacipirellulaceae</i>	ShootFW	-0.510	0.040
<i>Ilumatobacteraceae</i>	ShootFW	-0.639	0.006
<i>GCA-2729495</i>	ShootFW	-0.506	0.042
<i>UBA5794</i>	ShootFW	-0.546	0.025
<i>Dermatophilaceae</i>	ShootDW	0.675	0.003
<i>Nocardiodaceae</i>	ShootDW	0.657	0.004
<i>UBA2999</i>	ShootDW	0.581	0.015
<i>Streptosporangiaceae</i>	ShootDW	-0.632	0.007
<i>Micrococcaceae</i>	ShootDW	0.521	0.035
<i>Burkholderiaceae</i>	ShootDW	0.578	0.016
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	ShootDW	-0.550	0.024

Family	Variable	Pearson	p-value
<i>Streptomycetaceae</i>	ShootDW	-0.517	0.037
<i>Steroidobacteraceae</i>	ShootDW	-0.545	0.025
<i>Exiguobacteraceae</i>	ShootDW	0.585	0.014
<i>Micromonosporaceae</i>	ShootDW	-0.662	0.004
<i>Acidimicrobiales(Un.)</i>	ShootDW	-0.548	0.024
<i>Phototrophicaceae</i>	ShootDW	0.527	0.032
<i>VadinHA17</i>	ShootDW	-0.505	0.042
<i>Lacipirellulaceae</i>	ShootDW	-0.591	0.013
<i>UBA5794</i>	ShootDW	-0.541	0.027
<i>Dermatophilaceae</i>	RootFW	0.607	0.010
<i>Nocardiodaceae</i>	RootFW	0.515	0.038
<i>UBA2999</i>	RootFW	0.570	0.018
<i>Streptosporangiaceae</i>	RootFW	-0.648	0.005
<i>Burkholderiaceae</i>	RootFW	0.685	0.002
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	RootFW	-0.673	0.003
<i>Streptomycetaceae</i>	RootFW	-0.723	0.001
<i>Micromonosporaceae</i>	RootFW	-0.608	0.010
<i>Acidimicrobiales(Un.)</i>	RootFW	-0.706	0.001
<i>Phototrophicaceae</i>	RootFW	0.585	0.014
<i>Ilumatobacteraceae</i>	RootFW	-0.626	0.007
<i>UBA5794</i>	RootFW	-0.530	0.031
<i>Dermatophilaceae</i>	RootDW	0.593	0.013
<i>Nocardiodaceae</i>	RootDW	0.505	0.042
<i>UBA2999</i>	RootDW	0.557	0.021
<i>Streptosporangiaceae</i>	RootDW	-0.639	0.006
<i>Burkholderiaceae</i>	RootDW	0.680	0.003
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	RootDW	-0.669	0.003
<i>Streptomycetaceae</i>	RootDW	-0.715	0.001
<i>Micromonosporaceae</i>	RootDW	-0.591	0.013
<i>Acidimicrobiales(Un.)</i>	RootDW	-0.707	0.001
<i>Phototrophicaceae</i>	RootDW	0.588	0.013
<i>Ilumatobacteraceae</i>	RootDW	-0.624	0.008
<i>UBA5794</i>	RootDW	-0.516	0.037
<i>Dermatophilaceae</i>	Leaves	0.704	0.001
<i>Nocardiodaceae</i>	Leaves	0.671	0.003
<i>UBA2999</i>	Leaves	0.616	0.009
<i>Streptosporangiaceae</i>	Leaves	-0.670	0.003
<i>Burkholderiaceae</i>	Leaves	0.718	0.001
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	Leaves	-0.648	0.005

Family	Variable	Pearson	p-value
<i>Streptomyces</i> aceae	Leaves	-0.665	0.003
<i>Cellulomonadaceae</i>	Leaves	-0.513	0.039
<i>Exiguobacteraceae</i>	Leaves	0.536	0.028
<i>Micromonosporaceae</i>	Leaves	-0.738	0.001
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	Leaves	-0.601	0.011
<i>Phototrophicaceae</i>	Leaves	0.559	0.021
<i>Nitrososphaeraceae</i>	Leaves	0.559	0.021
<i>Lacipirellulaceae</i>	Leaves	-0.510	0.040
<i>Ilumatobacteraceae</i>	Leaves	-0.578	0.015
GCA-2729495	Leaves	-0.600	0.011
UBA5794	Leaves	-0.528	0.032
<i>Dermatophilaceae</i>	ShootL	0.727	0.001
<i>Nocardiodaceae</i>	ShootL	0.679	0.003
UBA2999	ShootL	0.601	0.011
<i>Streptosporangiaceae</i>	ShootL	-0.688	0.002
<i>Burkholderiaceae</i>	ShootL	0.735	0.001
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	ShootL	-0.634	0.006
<i>Streptomyces</i> aceae	ShootL	-0.636	0.006
<i>Cellulomonadaceae</i>	ShootL	-0.570	0.017
<i>Steroidobacteraceae</i>	ShootL	-0.520	0.035
<i>Exiguobacteraceae</i>	ShootL	0.535	0.029
<i>Gemmataceae</i>	ShootL	0.508	0.041
<i>Micromonosporaceae</i>	ShootL	-0.762	0.000
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	ShootL	-0.599	0.012
<i>Phototrophicaceae</i>	ShootL	0.547	0.025
<i>Nitrososphaeraceae</i>	ShootL	0.597	0.012
<i>Lacipirellulaceae</i>	ShootL	-0.507	0.041
<i>Ilumatobacteraceae</i>	ShootL	-0.581	0.015
GCA-2729495	ShootL	-0.610	0.010
UBA5794	ShootL	-0.538	0.028
<i>Dermatophilaceae</i>	RootL	0.709	0.001
<i>Nocardiodaceae</i>	RootL	0.656	0.004
UBA2999	RootL	0.516	0.037
<i>Streptosporangiaceae</i>	RootL	-0.696	0.002
<i>Burkholderiaceae</i>	RootL	0.707	0.001
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	RootL	-0.594	0.012
<i>Streptomyces</i> aceae	RootL	-0.657	0.004
<i>Steroidobacteraceae</i>	RootL	-0.518	0.036
<i>Micromonosporaceae</i>	RootL	-0.702	0.002

Family	Variable	Pearson	p-value
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	RootL	-0.605	0.011
<i>Lacipirellulaceae</i>	RootL	-0.513	0.039
<i>Ilumatobacteraceae</i>	RootL	-0.540	0.027
GCA-2729495	RootL	-0.593	0.013
<i>Dermatophilaceae</i>	ChIA	0.527	0.032
UBA2999	ChIA	0.564	0.019
<i>Streptosporangiaceae</i>	ChIA	-0.536	0.028
<i>Burkholderiaceae</i>	ChIA	0.620	0.008
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	ChIA	-0.631	0.007
<i>Streptomyces</i> aceae	ChIA	-0.658	0.004
<i>Micromonosporaceae</i>	ChIA	-0.572	0.017
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	ChIA	-0.606	0.010
<i>Phototrophicaceae</i>	ChIA	0.546	0.025
<i>Ilumatobacteraceae</i>	ChIA	-0.551	0.023
UBA5794	ChIA	-0.507	0.041
<i>Dermatophilaceae</i>	ChIB	0.531	0.030
UBA2999	ChIB	0.605	0.011
<i>Streptosporangiaceae</i>	ChIB	-0.529	0.031
<i>Burkholderiaceae</i>	ChIB	0.622	0.008
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	ChIB	-0.549	0.024
<i>Streptomyces</i> aceae	ChIB	-0.584	0.014
<i>Gemmataceae</i>	ChIB	0.508	0.041
<i>Micromonosporaceae</i>	ChIB	-0.566	0.019
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	ChIB	-0.506	0.042
<i>Phototrophicaceae</i>	ChIB	0.532	0.030
<i>Nitrososphaeraceae</i>	ChIB	0.590	0.013
<i>Ilumatobacteraceae</i>	ChIB	-0.553	0.023
UBA5794	ChIB	-0.507	0.041
<i>Dermatophilaceae</i>	Car	0.561	0.020
<i>Nocardiodaceae</i>	Car	0.507	0.041
UBA2999	Car	0.549	0.024
<i>Streptosporangiaceae</i>	Car	-0.540	0.027
<i>Burkholderiaceae</i>	Car	0.615	0.009
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	Car	-0.682	0.003
<i>Streptomyces</i> aceae	Car	-0.675	0.003
<i>Cellulomonadaceae</i>	Car	-0.502	0.044
<i>Micromonosporaceae</i>	Car	-0.578	0.016
<i>Acidimicrobiales</i> (Un.)	Car	-0.686	0.002
<i>Ilumatobacteraceae</i>	Car	-0.507	0.041

Apêndice D. Filos e famílias bacterianas diferencialmente abundantes em cada tratamento com *Spirulina maxima* em comparação com o controle (CTRL). Apenas aqueles com $p < 0,05$ foram considerados diferencialmente abundantes. O logFC indica o número de vezes que um táxon é mais abundante, onde valores positivos indicam abundância acrescida no controle e valores negativos, no tratamento.

Phylum	Contrast	p-value	logFC
Acidobacteriota	CTRL × SM20	0.013	-0.168
Myxococcota	CTRL × SM20	0.013	0.298
Cyanobacteriota	CTRL × SM05	0.026	-0.877
Verrucomicrobiota	CTRL × SM20	0.026	-0.411
Chlamydiota	CTRL × SM05	0.049	-0.571
Family	Contrast	p-value	logFC
<i>Dermatophilaceae</i>	CTRL × SM10	0.013	-0.511
<i>Dermatophilaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	-0.721
<i>Exiguobacteraceae</i>	CTRL × SM20	0.013	-1.621
<i>Streptomyetaceae</i>	CTRL × SM05	0.013	0.305
<i>Streptomyetaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	0.555
<i>Burkholderiaceae</i>	CTRL × SM10	0.035	-0.295
<i>Burkholderiaceae</i>	CTRL × SM20	0.026	-0.486
<i>Streptosporangiaceae</i>	CTRL × SM20	0.030	0.623
<i>DSM-18226</i>	CTRL × SM20	0.026	0.641
<i>UBA2999</i>	CTRL × SM20	0.026	-0.212
<i>Roseiflexaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	0.580
<i>Micromonosporaceae</i>	CTRL × SM10	0.035	0.503
<i>Micromonosporaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	0.717
<i>UBA5704</i>	CTRL × SM20	0.013	-0.522
<i>Hymenobacteraceae</i>	CTRL × SM05	0.025	-0.626
<i>Hymenobacteraceae</i>	CTRL × SM10	0.013	-1.349
<i>Bacillaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	0.713
<i>Peptostreptococcaceae</i>	CTRL × SM10	0.013	-1.125
<i>Peptostreptococcaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	-3.978
<i>Aestuiriivirgaceae</i>	CTRL × SM05	0.030	-0.313
<i>Aestuiriivirgaceae</i>	CTRL × SM20	0.039	-0.447
<i>DSM-44946</i>	CTRL × SM20	0.013	1.047
<i>Paenibacillaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	1.311
<i>Thermoactinomycetaceae</i>	CTRL × SM20	0.030	0.982
<i>Pedospaeraceae</i>	CTRL × SM20	0.026	-0.545

Family	Contrast	p-value	logFC
<i>Vulgatibacteraceae</i>	CTRL × SM20	0.049	0.674
<i>Verrucomicrobiaceae</i>	CTRL × SM10	0.029	-0.534
<i>Verrucomicrobiaceae</i>	CTRL × SM20	0.029	-0.535
<i>Limnochordaceae</i>	CTRL × SM20	0.013	1.184
<i>Bacteriovoracaceae</i>	CTRL × SM20	0.049	-0.690
<i>DSM-1321</i>	CTRL × SM10	0.041	0.776
<i>Rhodobacteraceae</i>	CTRL × SM05	0.013	-0.585
<i>Rhodobacteraceae</i>	CTRL × SM10	0.013	-0.851
<i>Rhodobacteraceae</i>	CTRL × SM20	0.020	-0.937
<i>UBA10575</i>	CTRL × SM10	0.013	0.877
<i>UBA10575</i>	CTRL × SM20	0.013	1.236
<i>Bryobacteraceae</i>	CTRL × SM05	0.033	-0.430
<i>Bryobacteraceae</i>	CTRL × SM10	0.031	-0.575
<i>Bryobacteraceae</i>	CTRL × SM20	0.030	-0.595
<i>BM103</i>	CTRL × SM05	0.049	0.650
<i>SM1A02</i>	CTRL × SM20	0.030	0.510
<i>Alicyclobacillaceae</i>	CTRL × SM20	0.048	1.112
<i>Caldibacillaceae</i>	CTRL × SM20	0.030	1.449
<i>Bdellovibrionaceae</i>	CTRL × SM20	0.043	-1.238
<i>CSP1-2</i>	CTRL × SM20	0.026	3.273
<i>Christensenellaceae</i>	CTRL × SM20	0.028	2.115
<i>UBA5946</i>	CTRL × SM20	0.035	-2.126
<i>B3-Chlor</i>	CTRL × SM10	0.047	0.918
<i>B3-Chlor</i>	CTRL × SM20	0.045	1.181
<i>DSM-8532</i>	CTRL × SM20	0.029	1.346
<i>TC1</i>	CTRL × SM10	0.026	-4.087
<i>PH28-bin88</i>	CTRL × SM20	0.020	1.848
<i>Syntrophaceae</i>	CTRL × SM10	0.039	2.907
<i>Caldatribacteriaceae</i>	CTRL × SM20	0.040	3.700
<i>OLB16</i>	CTRL × SM05	0.018	-1.485

Apêndice E. Funções com características promotoras de crescimento vegetal, classificadas pelo banco de dados PLaBAs, encontradas em cada tratamento e no controle. Type indica o tipo de efeito, se é direto ou indireto. As demais funções, que não tem característica promotora de crescimento vegetal, estão agrupadas em Non-PGPT e, aquelas que possui essa característica, mas ainda não foi definida, em Putative PGPT. Freq indica a abundância relativa da função e o Status, se ela foi depletada ou enriquecida (All indica o conjunto total).

Effect	Type	Group	Freq	Status	Effect	Type	Group	Freq	Status
Bio-Fertilization	Direct	SM05	1.77	Depleted	Stress Control Biocontrol	Indirect	SM10	15.31	All
Bio-Remediation	Direct	SM05	1.27	Depleted	Competitive Exclusion	Indirect	SM10	13.77	All
Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM05	0.24	Depleted	Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM10	1.48	All
Competitive Exclusion	Indirect	SM05	27.80	Depleted	Putative Functions	Putative PGPTs	SM10	0.30	All
Colonizing Plant System	Indirect	SM05	27.30	Depleted	Non-PGPT	Non-PGPT	SM10	23.21	All
Stress Control Biocontrol	Indirect	SM05	8.42	Depleted	Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM20	9.01	All
Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM05	0.09	Depleted	Bio-Fertilization	Direct	SM20	8.74	All
Non-PGPT	Non-PGPT	SM05	33.10	Depleted	Bio-Remediation	Direct	SM20	6.89	All
Bio-Fertilization	Direct	SM10	5.39	Depleted	Colonizing Plant System	Indirect	SM20	21.31	All
Bio-Remediation	Direct	SM10	1.62	Depleted	Stress Control Biocontrol	Indirect	SM20	15.29	All
Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM10	0.50	Depleted	Competitive Exclusion	Indirect	SM20	13.76	All
Colonizing Plant System	Indirect	SM10	23.22	Depleted	Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM20	1.48	All
Competitive Exclusion	Indirect	SM10	17.68	Depleted	Putative Functions	Putative PGPTs	SM20	0.30	All
Stress Control Biocontrol	Indirect	SM10	14.12	Depleted	Non-PGPT	Non-PGPT	SM20	23.22	All
Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM10	0.28	Depleted	Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM05	6.50	Enriched
Non-PGPT	Non-PGPT	SM10	37.20	Depleted	Bio-Remediation	Direct	SM05	1.55	Enriched
Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM20	1.94	Depleted	Bio-Fertilization	Direct	SM05	0.15	Enriched
Bio-Remediation	Direct	SM20	1.02	Depleted	Competitive Exclusion	Indirect	SM05	12.82	Enriched
Bio-Fertilization	Direct	SM20	0.98	Depleted	Stress Control Biocontrol	Indirect	SM05	11.02	Enriched
Competitive Exclusion	Indirect	SM20	38.67	Depleted	Colonizing Plant System	Indirect	SM05	3.41	Enriched
Stress Control Biocontrol	Indirect	SM20	17.64	Depleted	Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM05	0.26	Enriched
Colonizing Plant System	Indirect	SM20	7.60	Depleted	Putative Functions	Putative PGPTs	SM05	5.04	Enriched
Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM20	0.11	Depleted	Non-PGPT	Non-PGPT	SM05	59.25	Enriched
Non-PGPT	Non-PGPT	SM20	32.04	Depleted	Bio-Remediation	Direct	SM10	5.50	Enriched
Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM05	9.01	All	Competitive Exclusion	Indirect	SM10	37.67	Enriched
Bio-Fertilization	Direct	SM05	8.72	All	Colonizing Plant System	Indirect	SM10	13.22	Enriched
Bio-Remediation	Direct	SM05	6.86	All	Non-PGPT	Non-PGPT	SM10	43.61	Enriched
Colonizing Plant System	Indirect	SM05	21.25	All	Bio-Remediation	Direct	SM20	3.60	Enriched
Stress Control Biocontrol	Indirect	SM05	15.31	All	Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM20	2.62	Enriched
Competitive Exclusion	Indirect	SM05	13.81	All	Bio-Fertilization	Direct	SM20	2.35	Enriched
Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM05	1.49	All	Competitive Exclusion	Indirect	SM20	21.11	Enriched
Putative Functions	Putative PGPTs	SM05	0.30	All	Colonizing Plant System	Indirect	SM20	11.03	Enriched
Non-PGPT	Non-PGPT	SM05	23.25	All	Stress Control Biocontrol	Indirect	SM20	5.24	Enriched
Phytohormone Plant Signal Production	Direct	SM10	9.03	All	Plant Immune Response Stimulation	Indirect	SM20	0.19	Enriched
Bio-Fertilization	Direct	SM10	8.73	All	Putative Functions	Putative PGPTs	SM20	3.77	Enriched
Bio-Remediation	Direct	SM10	6.88	All	Non-PGPT	Non-PGPT	SM20	50.10	Enriched
Colonizing Plant System	Indirect	SM10	21.28	All					