

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

**INVESTIGAÇÃO SOBRE O EFEITO DO SISTEMA DE
CULTIVO NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA DA CANA-
DE-AÇÚCAR**

Lucas Amoroso Lopes de Carvalho

Biólogo

2021

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

**INVESTIGAÇÃO SOBRE O EFEITO DO SISTEMA DE
CULTIVO NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA DA CANA-
DE-AÇÚCAR**

Discente: Lucas Amoroso Lopes de Carvalho

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

C331i

Carvalho, Lucas Amoroso Lopes de

Investigação sobre o efeito do sistema de cultivo na composição da microbiota da cana-de-açúcar / Lucas Amoroso Lopes de Carvalho. -- Jaboticabal, 2021

105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Daniel Guariz Pinheiro

1. Metataxonômica. 2. Cana-de-açúcar. 3. Sistema de cultivo. 4. Cultivo orgânico. 5. Microbioma vegetal. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INVESTIGAÇÃO SOBRE O EFEITO DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA DA CANA-DE-AÇÚCAR

AUTOR: LUCAS AMOROSO LOPES DE CARVALHO

ORIENTADOR: DANIEL GUARIZ PINHEIRO

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

Prof. Dr. DANIEL GUARIZ PINHEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. ACACIO APARECIDO NAVARRETE (Participação Virtual)
UFMS - Campus de Chapadão do Sul / Chapadão do Sul/MS



Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV - UNESP - Jaboticabal



Jaboticabal, 05 de fevereiro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lucas Amoroso Lopes de Carvalho, nascido em 6 de julho de 1992, no município de Jaboticabal, São Paulo, filho de Paula Regina Amoroso Lopes de Carvalho e Gilberto Lopes de Carvalho. Graduiu-se como Bacharel em Ciências Biológicas (2015-2018) pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, onde, sob orientação do Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana, desenvolveu iniciação científica e trabalho de conclusão de curso (TCC), intitulado “Eritrocitograma de suínos em diferentes fases de criação no estado de São Paulo”. Em março de 2019, iniciou o curso de mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, na FCAV/UNESP, sob orientação do Prof. Dr. Daniel Guariz Pinheiro, desenvolvendo o projeto intitulado “Investigação sobre o efeito do sistema de cultivo na composição da microbiota da cana-de-açúcar”, culminando no presente documento.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paula e Gilberto, minha irmã Julia e minha namorada Michelle, que sempre acreditaram na minha capacidade e deram suporte para essa jornada.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/Unesp) pelo suporte acadêmico e infraestrutura utilizada durante o período do mestrado.

Ao professor Dr. Daniel Guariz Pinheiro, pela orientação, ensinamentos e, principalmente, pela liberdade e confiança que me foi depositada.

Aos meus colegas do Laboratório de Bioinformática, Luis Guillermo, Michelli, Rafael, Maria Fernanda, André Aquino e Ana Paula, pelo convívio, momentos de descontração e auxílio nas análises.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Tecnologia, que sempre foram solícitos nos momentos em que as demandas oriundas do trabalho se fizeram necessárias.

Ao Conselho do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária e aos funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação, pela prestatividade e empenho em resolver qualquer eventual problema que tenha surgido durante os anos do mestrado.

À Paulo Eduardo Garcia Junior e Olivia Garcia, proprietários das fazendas de onde os materiais vegetais utilizados foram coletados.

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.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento da pesquisa (no. 2017/09008-5).

A qualquer outra pessoa que tenha colaborado de forma direta ou indireta para o desenvolvimento desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos!

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS GERAIS	5
2.1. Objetivos específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Cana-de-açúcar: Características gerais.....	6
3.2. Sistema de cultivo convencional e orgânico.....	8
3.3. Microrganismos associados ao solo e sua distribuição.....	11
3.4. Microrganismos associados às plantas.....	13
3.4.1. Microrganismos fitopatogênicos.....	14
3.4.2. Microrganismos promotores de crescimento.....	15
3.4.3. A importância das interações microbioma-planta.....	17
3.5. Acessando as comunidades microbianas.....	19
3.5.1. A abordagem Metataxonômica.....	21
3.5.2. Análises estatísticas aplicadas ao estudo do microbioma.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1. Design experimental e coleta.....	24
4.2. Informações dos tratamentos.....	25
4.3. Determinação dos parâmetros físico-químicos do solo.....	26
4.4. Enriquecimento das comunidades microbianas.....	27
4.5. Extração de DNA metagenômico.....	29
4.6. Construção das bibliotecas de <i>Amplicons</i>	29
4.7. Sequenciamento de alto rendimento.....	31
4.8. Análise de dados.....	31
4.8.1. Demultiplexação.....	31
4.8.2. Controle de qualidade.....	31
4.8.3. Fusão dos pares de <i>reads</i> (ITS).....	33
4.8.4. Obtenção de Variantes de Sequências de <i>Amplicons</i> (ASVs).....	34
4.8.5. Atribuição taxonômica e filtragem de ASVs.....	35
4.9. Análise de microbiomas.....	36
4.9.1. Alfa e Beta diversidade.....	36
4.9.2. Microbioma essencial.....	36
4.9.3. Táxons diferencialmente abundantes.....	37
4.9.4. Redes de correlação de coocorrência.....	37
4.9.5. Predição funcional.....	38
5. RESULTADOS	39
5.1. Análise das propriedades edáficas.....	39
5.2. Sequenciamento e Processamento dos <i>Amplicons</i>	39
5.3. Medidas ecológicas e composição microbiana.....	43
5.4. O microbioma essencial.....	48

5.5. Diferenças composicionais.....	49
5.6. Estruturação dos microbiomas.....	52
5.7. Diferenças das capacidades funcionais.....	54
6. DISCUSSÃO	57
7. CONCLUSÕES	65
8. REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES.....	83

INVESTIGAÇÃO SOBRE O EFEITO DO SISTEMA DE CULTIVO NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA DA CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO – A constante busca por aumento na produtividade da cultura da cana-de-açúcar sob sistema de cultivo convencional leva a um uso excessivo de produtos agroquímicos sintéticos, tais como fertilizantes e pesticidas, os quais podem causar efeitos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. O sistema de cultivo orgânico surge como uma alternativa mais sustentável, com a premissa de redução do uso de tais produtos, preconizando a integração do cultivo com processos biogeoquímicos de ciclagem de nutrientes e estruturação do solo. Nesse sentido, microrganismos associados às plantas possuem um papel de destaque, já que podem influenciar no pleno desenvolvimento vegetal. Contudo, os impactos dos diferentes sistemas de cultivo nos microbiomas associados a cana-de-açúcar permanecem desconhecidos. A fim de identificar alterações da microbiota associada com a cana-de-açúcar sob sistemas contrastantes de cultivo, extraímos e sequenciamos marcadores filogenéticos de bactérias (16S rRNA) e fungos (ITS2) presentes nos diferentes nichos propiciados pela planta. As sequências de boa qualidade foram processadas através do programa DADA2, resultando na obtenção de 12.839 variantes de sequências bacterianas e 3.222 fúngicas. Os nichos foram o principal fator de determinação das composições das comunidades, contudo, diferenças entre nichos de plantas dos sistemas contrastantes foram identificadas em função dos tratamentos, com o sistema de cultivo convencional apresentando riqueza e diversidade de espécies levemente superior ao orgânico. No total, foram encontrados 389 e 401 táxons diferencialmente abundantes, de bactérias e fungos, respectivamente, entre os sistemas. A avaliação das redes de coocorrência indicam alterações estruturais relacionadas com os sistemas de cultivo, onde as redes do sistema orgânico foram mais coesas, ao passo que as redes do sistema convencional apresentaram maior modularidade. Já a predição funcional revelou enriquecimento de vias metabólicas relacionadas com resistência antimicrobiana, no sistema de cultivo convencional. Nossos resultados evidenciam que as práticas convencionais de manejo podem interferir na estruturação das comunidades microbianas, de modo que elas se apresentam menos coesas, com uma distribuição mais heterogênea e em módulos de acordo com o nicho na planta, apesar de não observarmos um grande impacto na diversidade.

Palavras-chave: 16S rRNA, análise de *amplicons*, cultivo orgânico, ITS, metataxônomia, sustentabilidade

INVESTIGATION ON THE EFFECTS OF THE CULTIVATION SYSTEM ON THE COMPOSITION OF THE SUGARCANE MICROBIOTA

ABSTRACT – The constant search for an increase in the productivity of the sugarcane crop under a conventional cultivation system leads to excessive use of synthetic agrochemical products, such as fertilizers and pesticides, which can cause harmful effects to human health and the environment. The organic farming system emerges as a more sustainable alternative, with the premise of reducing the use of such products, promoting the integration of cultivation with biogeochemical processes of nutrient cycling and soil structuring. In this sense, microorganisms associated with plants have an outstanding role since they can influence plant development. However, the impacts of different cultivation systems on the microbiomes associated with sugarcane remain unknown. To identify changes in the microbiota associated with sugarcane under contrasting culture systems, we extracted and sequenced phylogenetic markers of bacteria (16S rRNA) and fungi (ITS2) present in the different niches provided by the plant. The sequences were processed using the DADA2 program, resulting in 12,839 variants of bacterial and 3,222 fungal sequences. The niches were the main factor in the composition of the microbial communities; however, differences between plant niches from contrasting systems were identified, with the conventional system presenting a slightly superior species richness and diversity than the organic one. In total, 389 and 401 differentially abundant taxa of bacteria and fungi were found, respectively, between the systems. The evaluation of the co-occurrence networks also indicates structural changes related to the cultivation system where organic networks were more cohesive, and networks of the conventional system were more modular. The functional prediction revealed enrichment of metabolic pathways related to antimicrobial resistance in the conventional culture system. Our results show that conventional management practices can interfere in the structuring of microbial communities so that they are less cohesive, with a more heterogeneous distribution, and in modules according to the niche in the plant, although we do not see a major impact on diversity.

Keywords: 16S rRNA, amplicon analysis, organic farming, ITS, metabarcoding, sustainability

LISTA DE ABREVIATURAS

NGS	<i>"Next Generation Sequencing"</i> ; Sequenciamento de Nova Geração
OTU	<i>"Operational taxonomic unit"</i> ; Unidade Taxonômica Operacional
PGPM	<i>"Plant growth-promoting microorganisms"</i> ; Microrganismos Promotores de Crescimento em Plantas
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
PCR	<i>"Polymerase chain reaction"</i> ; Reação em Cadeia da Polimerase
16S rRNA	Menor subunidade ribossomal
ITS	<i>"Internal transcribed spacer"</i> ; Espaçadores Internos Transcritos
ASV	<i>"Amplicon sequence variant"</i> ; Variantes de Sequências de <i>Amplicons</i>
CON/C	Convencional
ORG/O	Orgânico
SL	Solo Livre
RP	Raiz: Epifítico
RN	Raiz: Endofítico
CP	Colmo: Epifítico
CN	Colmo: Endofítico
FP	Folhas: Epifítico
FN	Folhas: Endofítico
PBS	<i>"Phosphate Buffered Saline"</i> ; Solução fosfato-salina
DA	Diferencialmente Abundante
FDR	<i>"False Discovery Rate"</i> ; taxa de falsa descoberta
PCoA	<i>"Principal Coordinates Analysis"</i> ; Análise de Coordenadas Principais

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Geolocalização e informações climáticas dos pontos amostrais (Umid. = umidade; Temp. = temperatura; Atm. = atmosférica).	25
Tabela 2.	Lista de insumos agroquímicos utilizados em cada sistema de cultivo. O tratamento convencional possui predominância de produtos de origem sintética, enquanto o tratamento orgânico utiliza, majoritariamente, produtos de origem biológica.	26
Tabela 3.	Nichos avaliados e nomenclaturas adotadas para as amostras provenientes destes.....	28
Tabela 4.	Média e desvio-padrão dos parâmetros físico-químicos dos solos sob sistema de cultivo convencional e orgânico.	39
Tabela 5.	Contagem das <i>reads</i> antes (brutas) e depois (usáveis) do processamento de qualidade e das ASVs encontradas em cada nicho.	40
Tabela 6.	Médias das métricas de alfa diversidade das frações microbianas presentes nos nichos em cada sistema de cultivo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os nichos de um mesmo sistema e grupo microbiano (teste <i>post-hoc</i>).	43
Apêndice A.	Táxons bacterianos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.	84
Apêndice B.	Táxons fúngicos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.	88

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapas do local de coleta e dos pontos amostrais. O estudo foi conduzido no município de Jaboticabal-SP (verde). Os pontos de coleta (direita) foram obtidos de maneira equidistante (50m; linhas azuis), com uma proximidade mínima, entre os talhões sob tratamento convencional (CON; pins vermelhos) e orgânico (ORG; pins verdes), de aprox. 230 m (linha amarela). 24
- Figura 2.** Fluxo de trabalho do processamento dos dados..... 32
- Figura 3.** Porcentagens de *reads* perdidas nos passos de processamento dos dados de *amplicons* de 16S rRNA (a) e ITS (b). As *reads* usáveis (amarelas) foram consideradas para as análises de microbiomas..... 41
- Figura 4.** Curvas de rarefação relacionando o número de ASVs bacterianas (a) e fúngicas (b) observadas, em função da profundidade de sequenciamento..... 42
- Figura 5.** Diagramas de Venn demonstrando o compartilhamento entre as ASVs de bactérias (a) e fungos (b) entre os ambientes/tecidos vegetais (i) e sistemas de cultivo (ii). 42
- Figura 6.** Série de Hill das frações bacterianas (a) e fúngicas (b) encontradas nos nichos dos sistemas de cultivo contrastantes. A curva representa o número efetivo de espécies ao longo das ordens de diversidade (q), que se inicia pelo nº de espécies observadas (q^0) e incrementa gradativamente o peso da equitabilidade nas ordens acima..... 45
- Figura 7.** Porcentagem de ASVs de bactérias (a) e fungos (b) classificadas até determinado nível taxonômico..... 45
- Figura 8.** Composição bacteriana dos nichos. (a) Abundância relativa das 15 ASVs bacterianas mais abundantes, colapsadas ao nível taxonômico de “ordem”, ordens menos abundantes estão agrupadas sob a categoria “Outros”. Representação gráfica da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (b) e dendrograma do agrupamento hierárquico das amostras (c), ambos baseados nas distâncias de dissimilaridades de Bray-Curtis..... 46
- Figura 9.** Composição fúngica dos nichos. (a) Abundância relativa das 15 ASVs fúngicas mais abundantes, colapsadas ao nível taxonômico de “ordem”, ordens menos abundantes estão agrupadas sob a categoria “Outros”. Representação gráfica da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (b) e dendrograma do agrupamento hierárquico das amostras (c), ambos baseados nas distâncias de dissimilaridades de Bray-Curtis..... 47
- Figura 10.** Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons bacterianos (a) e fúngicos (b) de alta prevalência (> 75%) nas amostras dos tecidos vegetais, independentemente do sistema de cultivo ou nicho. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (*phylum*), "c" (classe), "o" (ordem), "f" (família), e "g" (gênero). 49
- Figura 11.** Táxons bacterianos diferencialmente abundantes (DA). Ao nível de “Filo”, todos os filios DA são demonstrados. Ao nível de “Gênero”, apenas os 25 gêneros DA de maior prevalência são demonstrados, com os de menor abundância agrupados na categoria “Táxons remanescentes”. Ambos níveis se apresentam ordenados pela soma das abundâncias relativas. O *heatmap* (esquerda) demonstra a abundância relativa dos táxons em cada nicho (SL - Solo livre; RP - Raiz: epifítico; RN - Raiz: endofítico; CP - Colmo: epi.; CN - Colmo: endo.; FP - Folhas: epi.; FN - Folhas: endo.) e o *dot plot* (direita) revela em quais nichos ocorreram diferença

- de abundâncias entre os sistemas de cultivo (CON - Convencional; ORG - Orgânico)..... 50
- Figura 12.** Táxons fúngicos diferencialmente abundantes (DA). Ao nível de “Filo”, todos os filios DA são demonstrados. Ao nível de “Gênero”, apenas os 25 gêneros DA de maior prevalência são demonstrados, com os de menor abundância agrupados na categoria “Táxons remanescentes”. Ambos níveis se apresentam ordenados pela soma das abundâncias relativas. O *heatmap* (esquerda) demonstra a abundância relativa dos táxons em cada nicho (SL - Solo livre; RP - Raiz: epifítico; RN - Raiz: endofítico; CP - Colmo: epi.; CN - Colmo: endo.; FP - Folhas: epi.; FN - Folhas: endo.) e o *dot plot* (direita) revela em quais nichos ocorreram diferença de abundâncias entre os sistemas de cultivo (CON - Convencional; ORG - Orgânico). 51
- Figura 13.** Redes de coocorrência dos gêneros bacterianos presentes nos sistemas de cultivo convencional (a) e orgânico (b). As redes foram construídas com base nos valores de correlação de Pearson, que são representados pelas conexões vermelhas (correlação positiva; $r \geq 0,05$) ou azuis (correlação negativa; $r \leq -0,05$). Os nós representam os gêneros, e seus tamanhos são proporcionais a soma das abundâncias relativas do gênero. A coloração interna dos nós indicam a abundância do gênero em cada nicho. As medidas de centralidade (c.i-iv) dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Wilcoxon. Gêneros considerados elementos centrais das redes, encontram-se destacados nos *boxplots*. 52
- Figura 14.** Redes de coocorrência dos gêneros fúngicos presentes nos sistemas de cultivo convencional (a) e orgânico (b). As redes foram construídas com base nos valores de correlação de Pearson, que são representados pelas conexões vermelhas (correlação positiva; $r \geq 0,05$) ou azuis (correlação negativa; $r \leq -0,05$). Os nós representam os gêneros, e seus tamanhos são proporcionais a soma das abundâncias relativas do gênero. A coloração interna dos nós indicam a abundância do gênero em cada nicho. As medidas de centralidade (c.i-iv) dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Wilcoxon. Gêneros considerados elementos centrais das redes, encontram-se destacados nos *boxplots*. 54
- Figura 15.** Vias metabólicas de bactérias, diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo. O *heatmap* representa as abundâncias relativas das vias em cada nicho. 55
- Figura 16.** Vias metabólicas de fungos, diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo. O *heatmap* representa as abundâncias relativas das vias em cada nicho. 56

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é cultivada de forma extensiva e em escala mundial, sendo uma das culturas mais relevantes em termos de produção e lucratividade (OECD e Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020). Isto se deve, principalmente, a sua elevada eficiência em termos de produtividade por área (Moore e Botha, 2013) e a diversidade de produtos e subprodutos possíveis de serem obtidos a partir de seu cultivo. Além da tradicional produção de açúcar, esta cultura figura entre uma das mais utilizadas na obtenção de energia renovável, através da produção do etanol, sua biomassa residual pode ser utilizada como fertilizante nos próximos campos de produção, ou ainda, como fonte energética para as indústrias que realizam seu beneficiamento, permitindo-as serem autossuficientes, neste sentido (Khatiwada et al., 2016; Camargo et al., 2020).

Assim como em diversas outras culturas de importância econômica, os microrganismos associados a cana-de-açúcar são de grande interesse, principalmente em relação aos efeitos positivos ou negativos que podem ser provocados por estes e, portanto, são amplamente estudados. Neste sentido, relata-se a presença de bactérias diazotróficas (fixadoras de nitrogênio), na rizosfera (ex. : *Beijerinckia fluminensis*, *Paenibacillus azotofixans*), no rizoplane (ex. : *Azospirillum amazonense*) e em compartimentos endofíticos (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Burkholderia brasilensis*) (Boddey et al., 2003), além de diversos outros microrganismos promotores de crescimento (PGPMs, do inglês *Plant growth-promoting microorganisms*).

Durante as últimas décadas, o advento de abordagens independentes de cultivo, permitiu ampliar o acesso as comunidades microbianas. O avanço proporcionado por tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next-Generation Sequencing*), foi crucial para a ampliação da compreensão da diversidade microbiana a partir de amostras ambientais (Handelsman, 2004). As ciências “ômicas”, possuem como alvos investigativos genomas, genes e seus produtos, e só foram possibilitadas em virtude da grande quantidade e qualidade dos dados produzidos nos sequenciamentos de alto rendimento (White et al., 2017).

Aplicada à investigação das comunidades microbianas, a metagenômica viabiliza o estudo do genoma coletivo, por meio de extração do material genético dos microrganismos presentes em amostras ambientais (Streit e Schmitz, 2004), evidenciando, inclusive, uma diversidade microbiológica muito maior da qual se esperava para amostras edáficas e rizosféricas (Lagos et al., 2015). Com isso, diversas estratégias de sequenciamento de metagenomas foram desenvolvidas, incluindo a abordagem metataxonômica, com enfoque no sequenciamento de regiões gênicas estabelecidas como marcadores filogenéticos, os quais apresentam alta conservação entre espécies de um determinado grupo, mas que possuem trechos internos hipervariáveis que permitem a distinção entre elas (Creer et al., 2016).

Impulsionado pelos avanços das técnicas independentes de cultivo, têm se intensificado os esforços em estabelecer uma descrição ampla de toda a microbiota associada a cana-de-açúcar. Recentemente, de Souza et al. (2016), por meio da abordagem de metataxonômica, realizaram um estudo abrangente sobre a composição das comunidades de bactérias e fungos associadas com a cana-de-açúcar. Foram encontradas dezenas de milhares de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs, do inglês *Operational Taxonomic Units*) de bactérias e fungos, habitando os compartimentos da planta de forma epifítica e endofítica, além de um microbioma essencial, que compreende as OTUs que se mantiveram em alta abundância ao longo do desenvolvimento da planta, algumas com papel importante em processos biológicos relacionados ao crescimento da planta e em processos fermentativos.

A composição das comunidades microbianas presentes no solo, o principal reservatório de microrganismos colonizadores dos tecidos vegetais (Compant et al., 2010), é amplamente influenciada por fatores físico-químicos, tais como textura do solo, concentração de nitrogênio, fósforo, matéria orgânica e, principalmente pH (Rousk et al., 2010). Além disso, a introdução de produtos agroquímicos sintéticos no ambiente, tais como fertilizantes sintéticos, pesticidas e outros produtos contendo hidrocarbonetos, sais e metais pesados, também pode ter influência sobre as comunidades microbianas presentes (Griffiths e Philippot, 2013). Newman et al. (2016) investigaram isoladamente o efeito da aplicação do glifosato nas comunidades microbianas presentes em solo de rizosfera, relatando algumas perturbações na

comunidade microbiana, especialmente para o filo *Acidobacteria*, e para a família *Xanthomonadaceae*.

A constante busca por aumento de produtividade no setor sucroalcooleiro tem ocasionado incrementos consideráveis na utilização de insumos agrícolas, sintéticos e orgânicos, nos campos de cultivo de cana-de-açúcar (Coelho e Goldemberg, 2019), alinhados a outras práticas implementadas no sistema de manejo convencional, como a baixa rotatividade de culturas, remoção de cobertura vegetal nativa e manipulação intensiva do solo, levam a processos de esgotamento nutricional, desertificação e proliferação de pragas e fitopatógenos (Tan et al., 2005). Em razão destes impactos, nota-se uma elevação na demanda por sistemas de produção agrícola mais sustentáveis. Dessa forma, ganham forças modelos como a agricultura orgânica, a qual preconiza um manejo da cultura integrado aos ciclos biogeoquímicos e os processos biológicos relativos aos ambientes edáficos (Muller et al., 2017). Contudo, as implicações dos diferentes sistemas de cultivo na microbiota associada com a cultura da cana-de-açúcar, permanece pouco explorada.

Nesse contexto, estudos como de Hartmann et al. (2015), considerando solos de cultivo submetidos a diferentes manejos por longo prazo, evidenciam diferenças nas comunidades microbianas presentes, onde, não somente nota-se divergências de parâmetros ecológicos de diversidade, mas também na estruturação e composição, relacionada primariamente ao sistema de fertilização empregado. Wang et al. (2016) reportam uma microbiota mais estável e consistente, com presença elevada de bactérias relacionadas a ciclagem de nutrientes, tais como as ordens *Rhizobiales* e *Myxococcales*, e famílias *Thiotrichaceae*, *Micromonosporaceae*, e *Desulfurellaceae*, em diferentes culturas sob sistema de cultivo orgânico. Entretanto, contrastando com os estudos anteriores, Orr et al. (2015) não encontraram qualquer impacto nas comunidades microbianas quando comparando dois sistemas de cultivo contrastantes, considerando que variáveis ambientais e parâmetros físico-químicos do solo que conduzem a biodiversidade microbiana.

Tendo em vista a indefinição acerca dos impactos que os diferentes sistemas de cultivo causam nas microbiotas associadas com as plantas e também a falta de estudos, nesse sentido, votados à cultura da cana-de-açúcar, procuramos avançar na

investigação de tais temas. Para isso, partimos da hipótese de que os sistemas de cultivo contrastantes, exerceriam diferentes pressões seletivas nas microbiotas presentes – especialmente em função dos produtos agroquímicos sintéticos implementados no sistema de cultivo convencional – e, portanto, seriam possíveis fontes de variabilidade na composição das comunidades bacterianas e fúngicas associadas com as plantas de cana-de-açúcar. Dessa maneira, na intenção de testar tal hipótese, buscamos respostas para as perguntas a seguir:

- O sistema de cultivo é um fator importante para a definição da microbiota associada com a cana-de-açúcar?
- As composições das comunidades microbianas se alteram entre as plantas dos diferentes sistemas de cultivo?
- Quais seriam os aspectos das comunidades mais impactados pelos sistemas de cultivo?
- As alterações são uniformes entre os diferentes nichos de colonização da planta?

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo teve como objetivo investigar os possíveis efeitos implicados à composição das comunidades microbianas associadas com a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) em relação ao seu sistema de cultivo (convencional e orgânico), através da abordagem de sequenciamento de marcadores taxonômicos, ou metataxonômica.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar a diversidade microbiana presente na cultura da cana-de-açúcar, através da análise dos genes marcadores taxonômicos: 16S rRNA (região V3-V4) para bactérias e ITS (região ITS2) para fungos;
- Caracterizar as comunidades microbianas relacionadas com nichos específicos das plantas;
- Identificar alterações em medidas de riqueza e diversidade entre os nichos de plantas de cana-de-açúcar sob diferentes sistemas de cultivo;
- Identificar o microbioma essencial, ou seja, aquele que não se altera de acordo com o sistema de cultivo ou nicho;
- Identificar táxons cujas abundâncias foram afetadas em relação ao sistema de cultivo;
- Identificar se há, nos grupos microbianos encontrados, enriquecimento de traços que poderiam estar associados com o sistema de cultivo

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Cana-de-açúcar: Características gerais

A cana-de-açúcar é uma gramínea C4, alta, semi-perene e comumente cultivada em regiões tropicais e subtropicais, reconhecida por sua grande capacidade de armazenamento de sacarose. As plantas maduras podem medir de 2,5 a 4 metros, com colmos cilíndricos, contendo entre 10 e 40 entrenós e cerca de 5 cm de diâmetro, dos quais surgem as folhas alternadas e opostas, e uma inflorescência paniculada terminal (Godshall, 2007).

Classificadas originalmente como pertencentes do gênero *Saccharum* L. por Linneus, em 1753, as canas são espécies de Angiospermas pertencentes à subtribo *Saccharinae*, tribo *Andropogoneae*, da família *Poaceae* (Paterson et al., 2013). Contudo, o posicionamento filogenético do gênero dessa planta dentro de sua família, ainda que alvo de diversos estudos, permanece incerto, sendo estritamente relacionado com gêneros *Miscanthus* e *Sorghum*, perante estudos morfológicos e moleculares (Kellogg, 2013).

As origens evolutivas da cana-de-açúcar datam de aproximadamente 6000 anos atrás, com as espécies *S. officinarum*, *S. sinense* e *S. barberi*, com seus centros de origem em, respectivamente, Nova Guiné, China e Índia (Daniels e Daniels, 1993). O cruzamento dessas espécies domesticadas com espécies selvagens, tais como *S. spontaneum* e *S. robustum*, além de outros gêneros pertencentes ao conhecido como Complexo *Saccharum*, tais como *Erianthus*, *Sclerotachya* e *Narenga*, originaram a ampla gama de cultivares modernas (Godshall, 2007). O processo deliberado de recruzamentos interespecíficos, em busca de melhoramento no sentido de resistência e produtividade, culminou em espécies híbridas de duas ou mais origens, e que apresentam uma diversidade genética ímpar, com cerca de 120 cromossomos, e alto nível de poliploidia, aneuploidia, dentre outras aberrações cromossômicas (Godshall, 2007; Vilela et al., 2017). A complexidade genética da cana-de-açúcar, tornam sua classificação taxonômica um tanto complexa, geralmente sendo referenciadas como *Saccharum* spp.; contudo, estima-se que de 70 a 80% do material genético das

cultivares modernas seja derivado de *S. officinarum* (Piperidis et al., 2010; Paterson et al., 2013).

Como planta C4, a cana-de-açúcar possui grande capacidade de converter energia solar em biomassa, na forma de lignocelulose e sacarose (van der Weijde et al., 2013), e possui como fatores limitadores de produtividade a baixa incidência solar, além de temperaturas extremas e déficit hídrico (Zhao e Li, 2015; Inman-Bamber, 2004).

Para fins de produção, o plantio da cana-de-açúcar é realizado via propagação vegetativa, através do plantio de um segmento do colmo contendo os propágulos, as denominadas canas-planta. Encerrado o primeiro ciclo de colheita, que pode levar de 12 (sistema de ano) a 18 meses (sistema de ano-e-meio), seguem-se uma série de ciclos de rebrotas, denominadas como canas-soca, que se mantêm enquanto houver produtividade satisfatória (França e Jasinski, 2007). Os estádios fenológicos da cana-de-açúcar em situação produtiva compreendem quatro fases, são elas: brotação e emergência (surgimento dos brotos primários), perfilhamento (surgimento dos brotos secundários), crescimento (do último perfilhamento ao início da maturação) e maturação (acumulo de intenso de sacarose) (Gascho e Shih, 1983; Aude, 1993).

A cultura da cana-de-açúcar figura entre as mais importantes no panorama econômico mundial, sendo uma *commodity* produzida por mais de 100 países e responsável por cerca de 86% da produção mundial de açúcar (OECD e Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020). Embora possua um longo histórico de produção em solo nacional, o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), estabelecido em 1975, foi determinante para o avanço tecnológico do setor sucroalcooleiro, cujos desdobramentos colocaram o Brasil na posição de líder mundial da produção dessa cultura e segundo maior produtor de biocombustíveis, apenas atrás dos Estados Unidos (Cortez, 2018). Dados recentes da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2020) apontam uma produção estimada de 665,1 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra de 2020/2021, dos quais 32,9 bilhões de litros de etanol e 41,8 toneladas de açúcar serão produzidos até o fechamento. As estimativas para os próximos anos indicam um aumento da produção mundial de cana-de-açúcar de 1,1% ao ano, sendo que o Brasil deve liderar este aumento, com

uma contribuição de 49% do novo volume produzido até 2029 (OECD e Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020).

3.2. Sistema de cultivo convencional e orgânico

Diante do crescimento constante da população mundial, o desafio de atender a demanda por alimentos tem acompanhado a humanidade a séculos. Após a dita terceira revolução agrícola, ou Revolução Verde, que ocorreu a partir dos anos 60, uma explosão de novas tecnologias culminou no aumento considerável da produtividade nos campos de cultivo. Enquanto o número populacional dobrou entre os anos 1961-2010, a produtividade agrícola triplicou, principalmente no que diz respeito a produtividade por área, tendo em vista que a área cultivada teve um aumento de apenas 20% neste mesmo intervalo (Zeng et al., 2014). Entende-se que os principais fatores por trás do salto em produtividade, sejam o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e insumos agrícolas como fertilizantes e pesticidas (Jain, 2010).

A partir disso surgem as práticas convencionais de cultivo, que consistem em produção em escala industrial e melhoramento da produtividade dos campos com a utilização deliberada de insumos agroquímicos sintéticos, como pesticidas e fertilizantes convencionais. O incremento na produtividade ocasionado por esse sistema de cultivo permeou o crescimento econômico de países em desenvolvimento e aplacou, em grande parte, o problema da fome (Pingali, 2012). Contudo, a intensificação das práticas que envolvem esse sistema resulta em uma série de impactos negativos e acarretam efeitos deletérios ao ambiente, que vão desde infertilidade do solo, desertificação e contaminação por metais pesados, até seleção de patógenos e pragas multirresistentes (Vejan et al., 2016; David et al., 2018).

É crescente a preocupação mundial no que diz respeito as implicações das práticas convencionais de cultivo, na saúde humana e ambiental; além disso, temos na atividade agrícola, a maior fonte de emissão de gases de efeito estufa, muito por conta das práticas de manejo do solo e utilização de fertilizantes nitrogenados (Tilman et al., 2011). Assim, o atual paradigma da agricultura moderna, surge em resposta a

esses efeitos indesejados das práticas convencionais de cultivo, e busca por alternativas que prezem pela sustentabilidade da atividade agrícola.

Contudo, a implementação de práticas mais sustentáveis passa por uma série de barreiras, como a falta de investimento no desenvolvimento de conhecimento voltado à estas práticas e políticas de incentivo, ou mesmo vieses culturais e concepções equivocadas sobre sistemas sustentáveis (Reganold e Wachter, 2016). Para um sistema de manejo agrícola ser de fato considerável sustentável, segundo Reganold e Wachter (2016), deve cumprir quatro requisitos:

- **Produtividade:** O sistema deve ser capaz de atingir um nível de produção adequado, próximo ao que seria produzido em sistemas de cultivo convencional. Esse é, ainda, um dos principais entraves, tendo em vista que sistemas orgânicos produzem de 8 a 25% a menos que sistemas convencionais (Reganold e Wachter, 2016);
- **Ambientalmente amigável:** Um dos principais motivadores dos sistemas de cultivo com viés de sustentabilidade é transpor os efeitos negativos dos insumos agroquímicos sintéticos, portanto, busca-se utilizar produtos de origem natural para executar funções análogas às propiciadas pelos produtos sintéticos. Além disso, é preciso integrar a atividade agrícola ao ambiente natural, utilizando serviços ecológicos prestados por polinizadores, predadores naturais de pragas e antagonistas de fitopatógenos, para o ganho de produtividade.
- **Economicamente viável:** Embora os outros fatores sejam importantes, ser economicamente viável é o que garantirá a maior adesão dos produtores de alimentos à sistemas mais sustentáveis. Neste sentido, a meta-análise realizada por Crowder e Reganold (2015), com base na comercialização de produtos orgânicos, evidencia dois panoramas: alimentos considerados *premium*, ou seja, aqueles cujo preço é superior por agregarem o valor percebido pelas práticas sustentáveis, apresentam uma rentabilidade 22-35% maior que os produzidos em sistemas convencionais. Contudo, quando esse valor não é agregado, ou seja, os produtos não-*premium*, a falta dos recursos

externos para aprimoramento da produtividade é experienciada, levando a uma lucratividade de 23-27% menor que sistemas convencionais.

- **Bem-estar:** Entende-se que os sistemas de cultivo sustentáveis devam, ainda, carregar consigo valores sociais que prezem por uma maior qualidade de vida das famílias e comunidades locais. Isso é percebido, ao passo que, sistemas orgânicos parecem fortalecer os laços dos pequenos produtores, cooperativas e consumidores (MacRae et al., 2007); além de reduzir os acidentes e danos à saúde, dos trabalhadores rurais, por exposição à agroquímicos sintéticos (Eddleston et al., 2002).

No intuito de atender as demandas de uma agricultura sustentável, tem ganhado força a agricultura orgânica. A agricultura orgânica, em sua forma conceitual, não se trata apenas de um sistema de cultivo, mas também uma filosofia (Stockdale et al., 2001). Originalmente proposto pelo filósofo australiano Rudolf Steiner, em 1924, o termo “orgânico” que acompanha esse sistema de cultivo, não faz referência ao tipo de insumo utilizado (ainda que sejam, de fato, em sua maioria orgânicos), mas sim abordagem do cultivo como um “organismo vivo”, composto pelo solo, em suas porções minerais e orgânicas, microrganismos, plantas, animais e humanos (Stockdale et al., 2001). Com o avançar das décadas, este modelo de pensamento foi aperfeiçoado e tangenciado por inúmeros nomes de destaque ao redor do mundo, cabendo ressaltar aqui os experimentos de Lady Eve Balfour e Sir Albert Howard, na Grã Bretanha e Índia Colonial, respectivamente; Hans Mueller, na Suíça; Jerome Irving Rodale, nos Estados Unidos e Masanobu Fukuoka, no Japão (Lockeretz, 2007; Reganold e Wachter, 2016). Os esforços destes e inúmeros outros autores, culminaram na popularização dos alimentos orgânicos, que passaram, então, a receber suas primeiras certificações e padronizações de práticas, a partir dos anos 70. Dados recentes estimam que o sistema de cultivo orgânico esteja presente em 181 países, compreendendo cerca de 69,8 milhões de hectares ao redor do mundo; e, ainda assim, correspondendo apenas à 1,4% da área destinada à agricultura (Willer e Lernoud, 2019).

Ainda que figure entre as maiores potências agrícolas mundiais, o Brasil possui uma expressividade tímida no que se refere a produção orgânica (Willer e Lernoud,

2019). No país, é reconhecido como produto orgânico, somente aquele cujo sistema de manejo esteja em operação à, pelo menos, 12 meses sob as normativas vigentes que dizem respeito as práticas que dão o direito ao certificado de produção orgânica (Muñoz et al., 2016). Sendo as mais importantes: (1) Lei n. 10.831/2003 – que dispõe sobre a produção dos sistemas orgânicos e define parâmetros de produção e em relação a inspeção, fiscalização e certificação deste sistema (Brasil, 2003); (2) Decreto n. 6.323/2007 – que autoriza as atividades pertinentes ao desenvolvimento da agricultura orgânica, segundo a Lei n. 10.831/2003 (Brasil, 2007); e a (3) IN n. 46/2011- que autoriza a fiscalização e obtenção do selo de produto orgânico, segundo o Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade Orgânica (SisOrg), para os produtores que forem certificados por instituições autorizadas (Brasil, 2011).

3.3. Microrganismos associados ao solo e sua distribuição

Os microrganismos estão potencialmente presentes em todos os habitats do planeta, incluindo os mais extremos, tendo o solo como um de seus principais reservatórios (Torsvik, 2002). Os processos evolutivos por quais os microrganismos passaram ao longo dos bilhões de anos desde sua origem resultaram em uma enorme diversidade metabólica e genética, permitindo a sobrevivência e o sucesso destes seres em colonizar os mais diversos ambientes (Torsvik, 2002; Sivasubramaniam e Franks, 2016).

Essas formas de vida microscópicas incluem fungos, vírus, microalgas, protozoários e, principalmente, bactérias, às quais representam cerca de 95% dos microrganismos presentes no contingente edáfico (Glick, 2012). Embora encontrem-se em grande abundância no solo, com contagens chegando a 10^9 células bacterianas por grama de amostra, apenas 1% destas são prontamente cultiváveis em laboratórios (Hofer, 2018; Hahn et al., 2019).

Ainda assim, por meio da prospecção desta pequena fração de organismos cultiváveis, têm-se uma grande fonte de produtos de interesse biotecnológico, tais como antibióticos, exemplificando-se pela descoberta da estreptomicina em actinomicetos de solo, dentre inúmeros outros (Handelsman et al., 1998). Saleem et al. (2010), em levantamento literário, listaram 140 compostos com atividade

antimicrobiana, produzidos por microrganismos descobertos em um período de apenas 8 anos, evidenciando a importância destes organismos para essa finalidade.

Além de servirem como fontes de bioprodutos, os microrganismos exercem uma série de serviços fundamentais para a manutenção das propriedades do solo, por meio de transformação e decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e participação em ciclos biogeoquímicos, formando uma rede de relações intrínseca e complexa entre estes componentes (Madsen, 2011). Os elementos que compõe a base das condições para a manutenção da vida no planeta, tais como carbono, oxigênio, nitrogênio, fósforo, enxofre, dentre outros, têm seus ciclos, disponibilidade e distribuição diretamente afetadas pela atividade microbiana (Sivasubramaniam e Franks, 2016).

As comunidades de microrganismos têm sua composição, distribuição e abundância sob influência imediata dos fatores bióticos e abióticos do solo. Contudo, as propriedades que determinam a composição destas comunidades microbianas são amplamente debatidas e variam de acordo com a escala na qual se deseja observar (de Vries et al., 2012; Gourmelon et al., 2016).

Dentre as características edáficas que afetam as comunidades microbianas, o pH figura como uma das principais. Fierer e Jackson (2006) ao estudarem a composição bacteriana do solo em diversos pontos ao longo de todo continente americano, identificaram maior diversidade bacteriana nas amostras de pH neutro, em comparação às obtidas de solos mais ácidos. Os autores reportaram, ainda, que em comparação a características como: tipo de cobertura vegetal, disponibilidade de nutrientes ou umidade do solo, o pH apresentou maior correlação com os padrões de diversidade, sendo este considerado um preditor representativo de comunidades bacterianas do solo em escalas continentais.

Além do pH, outras propriedades físico-químicas do solo, como maiores concentrações de fósforo, potássio, cálcio e nitrato, relacionam-se à uma maior abundância de células bacterianas, no entanto, o contrário ocorre em localidades com altas concentrações de matéria orgânica e amônio (NH_4) (Brodie et al., 2002). Solos de regiões com maiores médias de precipitação anual tendem à uma maior biomassa microbiana, sendo isso ainda mais acentuado para os fungos (de Vries et al., 2012).

Além disso, diferenças na arquitetura e textura do solo, como a porosidade e, até mesmo, o nível conexão entre os poros, influenciam na diversidade dos microrganismos presentes (Carson et al., 2010).

Ao tratar-se de variações locais das comunidades, a literatura sugere que um fator determinante é a cobertura vegetal, em que cada formação apresenta uma composição única, com padrões de distribuição relacionados aos traços funcionais da vegetação presente (Thomson et al., 2010; de Vries et al., 2012; Gourmelon et al., 2016). Contudo, é desafiador estabelecer uma relação causal acerca da seleção das comunidades microbianas a partir traços funcionais vegetais, visto que estes são produtos de processos de adaptação e seleção, resultantes da complexa rede de interações entre plantas, microrganismos e características abióticas do solo (de Vries et al., 2012).

3.4. Microrganismos associados às plantas

As plantas são consideradas meta-organismos, uma vez que não crescem como organismos axênicos no ambiente, mas sim, abrigando incontáveis microrganismos, com os quais estabelecem uma série de relações fundamentais (Rai et al., 2017). Cada planta é considerada um habitat único, podendo inclusive, moldar sua própria comunidade microbiana ou mesmo recrutar microrganismos protetores quando atacadas por insetos e patógenos (Berendsen et al., 2012; Bulgarelli et al., 2013).

Devido à grande importância da associação com microrganismos para a fitossanidade, alguns autores se referem a microbiota como sendo um segundo genoma da planta, de forma que, o conjunto de genomas dos microrganismos associados podem superar em tamanho o da própria planta (Berendsen et al., 2012). Os efeitos dos microrganismos nas plantas podem ser simplificados como benéficos, prejudiciais ou neutros, contudo, tais efeitos podem ser alterados se as condições ambientais mudarem, por exemplo, bactérias benéficas, que facilitam a obtenção de nitrogênio ou fósforo pelas plantas, deixam de prover qualquer benefício quando na presença de fertilizantes químicos sintéticos (Glick, 2012). Ou ainda, relações antes mutualísticas podem se tornar parasitárias em situações de desequilíbrio, logo, ao

tratar-se da relação microrganismo-planta, entende-se que exista um continuum entre os efeitos benéficos e prejudiciais (Kogel et al., 2006; Wani et al., 2015).

A colonização das plantas por microrganismos pode ocorrer de forma epifítica e endofítica, que se caracteriza pelo estabelecimento das colônias na superfície ou no interior dos tecidos vegetais, respectivamente (Andreote et al., 2009). O solo abrange grande parte dos microrganismos que colonizam as plantas e em sua maioria são encontrados nas raízes ou próximos a estas. O solo mais próximo das raízes, denominado de rizosfera, propicia uma grande diversidade de condições, pois nesta região, nutrientes como carboidratos, lipídios e proteínas, são exsudados da planta, e utilizados para o metabolismo microbiano, habilitando, assim, uma grande riqueza de espécies (Timmusk, 2003).

3.4.1. Microrganismos fitopatogênicos

O solo é reservatório de uma série de microrganismos causadores de doenças que impactam negativamente o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Oerke, 2006). Em ambientes naturais, estes fitopatógenos desempenham um papel ecológico de regulação das comunidades vegetais, podendo aumentar a diversidade, quando o hospedeiro principal for uma espécie dominante, desta forma, permitindo coexistência com espécies de menor potencial competitivo, ou então, causar redução de diversidade, na ocasião da planta hospedeira ser uma espécie de distribuição rara (Mordecai, 2011; Chen e Nan, 2015). Na agricultura, porém, as doenças provocadas pelos microrganismos fitopatogênicos, podem ocasionar reduções drásticas na produtividade dos campos e na qualidade dos produtos, acarretando prejuízos econômicos e representando uma grande ameaça, em escala global, a fitossanidade e segurança alimentar (Strange e Scott, 2005).

Devido à capacidade deletéria dos microrganismos fitopatogênicos, é extensa a literatura referente ao controle, dispersão e mecanismo das doenças por estes provocadas, no entanto, a natureza complexa do ambiente edáfico revela alguns desafios, que vão desde falta de identificação precisa do agente causal à níveis intraespecíficos, uma vez que, diante da rápida diversificação genética inerente aos microrganismos, uma mesma espécie pode conter linhagens patogênicas e não-

patogênicas (Strange e Scott, 2005), ou ainda, o desconhecimento da amplitude de espécies hospedeiras que um fitopatógeno pode acometer, levando à interações potencialmente catastróficas ao serem introduzidos em hospedeiros não convencionais (Anderson et al., 2004; Fisher et al., 2012) e, até mesmo, a dificuldade em estabelecer as bases moleculares dos mecanismos por trás da patologia, em microrganismos não cultiváveis (Handelsman et al., 1998).

Dentre os principais grupos de microrganismos fitopatogênicos encontram-se bactérias, vírus, fungos e oomicetos (Raaijmakers et al., 2009). Ao longo da história os fitopatógenos foram responsáveis por eventos catastróficos de fome, como o provocado pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, causador da requeima da batata, que resultou em milhões de mortes na Europa, próximo a 1845. Um século depois, em 1943, o fungo *Cochliobolus miyabeanus*, provocou a dizimação de campos de arroz na região de Bengala, ao sul do continente asiático, sendo um dos principais fatores que ocasionou a morte de aproximadamente 2 milhões de pessoas (Padmanabhan, 1973; Strange e Scott, 2005).

Boote et al., (1983) definiu categorias de formas as quais os fitopatógenos podem impactar a produção vegetal, classificando-os segundo seus efeitos deletérios. Com base nesta classificação, entende-se que microrganismos fitopatogênicos podem exercer os efeitos de redução de suporte, de turgescência e de atividade fotossintética, aceleração de senescência e consumo de nutrientes e tecidos.

3.4.2. Microrganismos promotores de crescimento

Em contraste aos efeitos deletérios provocados por fitopatógenos, muitos microrganismos associados às plantas atuam, de forma direta ou indireta, para o seu benefício, estes são referidos como promotores de crescimento de plantas (PGPM, do inglês *Plant growth-promoting microorganisms*) (Olanrewaju et al., 2017).

Dentre os traços de maior interesse, há aqueles onde ocorre uma disponibilização de nutrientes essenciais para a planta por intermédio do metabolismo microbiano. Nesse sentido, microrganismos diazotróficos, por exemplo, são capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), processo no qual se converte o nitrogênio em sua forma atmosférica e não absorvível (N_2) em sua forma absorvível,

a de nitrogênio amoniacal (NH_3) (Olanrewaju et al., 2017). Espécies bacterianas dos gêneros *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azotobacter*, são reconhecidos por sua capacidade de realização da FBN (Franche et al., 2009; Souza et al., 2015; Vejan et al., 2016).

Alguns microrganismos, por processos de mineralização e solubilização, através da secreção de ácidos orgânicos tais como ácidos glicólicos, cítricos, lácticos, são capazes de transformar o fósforo insolúvel presente no solo, em formas iônicas absorvíveis pelas plantas (Rodríguez e Fraga, 1999; Glick, 2012); ou ainda, auxiliar na obtenção de ferro, à medida que PGPM produtores de sideróforos, são capazes de captar íons férricos (Fe^{+3}) presentes no solo, reduzindo-os a íons ferrosos (Fe^{+2}), tornando-os disponíveis para a absorção vegetal (Saha et al., 2016; Pahari et al., 2017).

Além disso, grande parte dos microrganismos presentes na rizosfera podem produzir moléculas análogas à reguladores de crescimento vegetal (Souza et al., 2015) que, por sua vez, apresentam capacidade de incrementar processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas (Arshad e Frankenberger, 1997). A produção de ácido indol-3-acético (AIA), por exemplo, corresponde a um dos principais efeitos benéficos dos PGPM (Olanrewaju et al., 2017). Espécies pertencentes aos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, são reconhecidas por atuar no adensamento radicular por meio da produção de AIA e seus precursores (Timmusk, 2003; Costa et al., 2014; Aloo et al., 2019). Outros reguladores, tais como citocininas e giberelinas, também são reportados como produtos de PGPM, atuando positivamente no incremento da produtividade das plantas inoculadas (Arkhipova et al., 2005; Khan et al., 2014), bem como na promoção de resistência a estresses abióticos (Liu et al., 2009; Khan et al., 2017).

Altas concentrações de etileno, geralmente relacionadas a períodos de estresse intenso, podem levar a inibição do crescimento vegetal (Rai et al., 2017). Os PGPM que sintetizam a enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminase (ACC desaminase) são capazes de clivar a molécula ACC, uma precursora imediata do etileno, reduzindo o seu excesso e, dessa forma, mitigando os efeitos prejudiciais decorrentes do estresse (Olanrewaju et al., 2017).

Determinados PGPM auxiliam indiretamente para que o desenvolvimento vegetal ocorra, mesmo em situações de estresses bióticos e abióticos, de modo a prevenir, atenuar ou neutralizar efeitos prejudiciais de fitopatógenos (Gouda et al., 2018). Neste sentido, destacam-se os mecanismos de controle biológico, que incluem produção de compostos antibióticos, enzimas líticas, competição e indução de resistência nas plantas por parte dos PGPM (Ulloa-Ogaz et al., 2015).

Os antibióticos produzidos pelos PGPM causam efeitos deletérios em fitopatógenos, podendo apresentar espectro de ação restrito a um determinado grupo, ou abrangentes, como o composto 2,4-diacetil-floroglucinol (DAPG) produzido por espécies de *Pseudomonas*, o qual apresenta atividade antibacteriana, antifúngica e anti-helmíntica (Rai et al., 2017). A produção de enzimas líticas como β -1,3-glucanases, celulases, quitinases, proteases e lipases, permite aos PGPM causar o rompimento de parede celular, atuando na eliminação de diversos fungos patogênicos do solo, tais como *Aspergillus niger* (Yuttavanichakul et al., 2012), *Fusarium oxysporum* (Elshahat et al., 2016), *Phytophthora capsici* (Islam et al., 2016) e *Rhizoctonia solani* (Faltin et al., 2004), que acometem culturas de importância econômica e causam grandes prejuízos.

Além do controle por antibiose, a competição nutricional entre PGPM e fitopatógenos pode limitar a interação destes com a planta, pois PGPM podem rapidamente colonizar as raízes e absorver os nutrientes presentes na rizosfera, reduzindo a capacidade de colonização e proliferação de fitopatógenos neste nicho, desta forma, reduzindo a incidência e severidade de doenças (Glick, 2012; Olanrewaju et al., 2017).

3.4.3. A importância das interações microbioma-planta

Sabe-se que a diversidade de microrganismos que interagem com as plantas é enorme, e a complexidade das relações entre estes, bem como com os próprios hospedeiros vegetais podem resultar em interações imprevisíveis, de menor ou maior intensidade quanto aos efeitos que seriam provocados pelas espécies isoladas (Leach et al., 2003).

Embora o interesse dos microrganismos em associação com plantas seja, primariamente, em relação ao impacto de seus efeitos, sejam estes benéficos ou deletérios, as interações micróbios-plantas são complexas e, portanto, não devem ser interpretadas como categorias rígidas e excludentes (Walker et al., 2013).

Mesmo em relação aos inúmeros efeitos benéficos propiciados pelos PGPM, é válido observar que, sob determinadas condições ambientais, certos microrganismos podem ter seu papel de promoção suprimido (Schippers et al., 1987), ou ainda, apresentar efeitos negativos no *fitness* vegetal (Redman et al., 2001; Kogel et al., 2006), além disso, alguns PGPM podem possuir linhagens estreitamente relacionadas com espécies fitopatogênicas (Blakney e Patten, 2011). Neste sentido, o inverso se faz verdadeiro, à medida que linhagens de espécies conhecidamente fitopatogênicas, tais como pertencentes do gênero *Agrobacterium*, agentes causais da doença galhada-coroa em diversas dicotiledôneas economicamente relevantes (Andrade et al., 2003), podem possuir efeitos de fitoestimulação em hospedeiros não-susceptíveis à interação patogênica (Walker et al., 2013).

A distinção se torna ainda mais indefinida perante a constatação de que traços genéticos chaves para promoção de crescimento, relacionados à síntese de fitormônios, fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato, produção de ACC desaminase, dentre outros, fazem-se presente no repositório gênico de inúmeros fitopatógenos como demonstrado por Bruto et al. (2015).

Agler et al. (2016), reportam, ainda, o papel central que determinados táxons teriam na modulação e recrutamento da composição de comunidades microbianas associadas às plantas. Esses autores revelam que estes grupos de microrganismos centrais seriam diretamente influenciados pelos genótipos das plantas e, posteriormente, impactariam toda a comunidade microbiana sob sua influência, de modo a favorecer comunidades benéficas à atividade vegetal, ou, como observado quando há microrganismos centrais considerados patogênicos, resultar em comunidades alternativas e instáveis. Van der Heijden e Hartmann (2016), destacam, também, a importância de se conhecer a estrutura destes grupos microbianos centrais no intuito de desenvolver estratégias sustentáveis para agricultura, utilizando-se das

propriedades microbianas, uma vez que, estas podem ser críticas para a sanidade do solo e das plantas.

3.5. Acessando as comunidades microbianas

O estudo das propriedades dos microrganismos associados a solos de cultivo, tradicionalmente, atém-se a avaliações da atividade microbiana em níveis gerais, obtidas por mensurações de taxa respiratória, biomassa e atividade enzimática microbiana (Hill et al., 2000). No entanto, o solo é um habitat complexo e apresenta condições heterogêneas para o crescimento e diversidade microbiana, resultando em diferentes nichos, que devem ser considerados à níveis de espécies e comunidades, no intuito de elucidar o papel destes na manutenção e sustentabilidade edáfica (Hill et al., 2000; Daniel, 2004).

Dentre as metodologias utilizadas para acessar a diversidade microbiana de amostras ambientais, a mais tradicional consiste no enriquecimento, isolamento e caracterização dos microrganismos, utilizando meios de cultura de crescimento abrangentes, tais como Ágar Nutriente, Ágar Batata Dextrose, Ágar Triptona de Soja, meio Luria-Bertani, entre outros (Kumar et al., 2017). Meios específicos, que simulem condições naturais de pH, concentração e composição de nutrientes, gradientes de oxigênio, também podem ser empregados no intuito de favorecer o crescimento de espécies mais exigentes (Kumar et al., 2017). Contudo, estima-se que apenas uma parcela ínfima dos microrganismos presentes no solo seja prontamente cultivável, de forma que, aproximadamente 99% da diversidade genética e fenotípica das comunidades microbianas é suprimida perante a utilização desta abordagem (Hofer, 2018; Hahn et al., 2019).

Durante as últimas décadas, o advento de abordagens independentes de cultivo, permitiu ampliar o acesso às comunidades microbianas, garantindo uma maior elucidação da diversidade de microrganismos presentes no solo (Andreote et al., 2009). Dentro das metodologias independentes de cultivo, encontram-se as análises de ácidos nucleicos (DNA e RNA) baseadas, em sua grande maioria, na técnica de biologia molecular da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase*

Chain Reaction), onde o material genético é amplificado e, posteriormente, pode ser sequenciado (Kirk et al., 2004).

Amplificações diferenciais de alvos gênicos específicos, são de grande auxílio no estudo da estrutura e diversidade das comunidades microbianas. Por meio do sequenciamento de marcadores filogenéticos, regiões conhecidas como “códigos de barra” do DNA (*DNA barcoding*), é possível recuperar as relações de parentescos e identificar taxonomicamente os microrganismos presentes no solo (Lagos et al., 2015; White et al., 2017). Estes marcadores filogenéticos, comumente, tratam-se de regiões que variam entre pontos de alta conservação e alta diversificação, o que possibilita diferenciar espécies dentro de um mesmo grupo taxonômico (Hebert et al., 2003). Para acessar as comunidades de procariontos, utilizam-se regiões hipervariáveis do gene que codifica a menor subunidade ribossomal, rRNA 16S (Armougom, 2009; Lebonah et al., 2014), já para microrganismos eucarióticos, como os fungos, a utilização de regiões espaçadoras internas transcritas (ITS, do inglês *Internal Transcribed Spacer*) apresentam maior probabilidade de sucesso na identificação taxonômica (Schoch et al., 2012).

O avanço técnico proporcionado pelas tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next-Generation Sequencing*), foi um ponto crucial para a compreensão da diversidade microbiana de amostras ambientais (Scholz et al. 2012). As ciências “ômicas”, possuem como alvos investigativos genomas, genes e seus produtos e foram possibilitadas em virtude da qualidade e imensa quantidade de dados produzidos nos sequenciamentos de alto rendimento (White et al., 2017).

Aplicada à investigação das comunidades microbianas, a abordagem metagenômica surge como estudo do genoma coletivo, por meio do isolamento e extração de material genético dos microrganismos de amostras complexas (Streit e Schmitz, 2004), evidenciando, inclusive, uma diversidade microbiológica muito maior da qual se esperava para amostras edáficas e rizosféricas (Lagos et al., 2015). Neste sentido, diversas estratégias de sequenciamento de metagenomas foram desenvolvidas, sejam com enfoque em genes específicos, na prospecção de traços funcionais, ou então, visando todo o repertório genômico presente na amostra, como na abordagem “*shotgun*” para sequenciamento de genomas completos (Zhou et al.,

2015). Outras “meta-ômicas”, tais como metatranscriptômica e metaproteômica, através da avaliação, respectivamente, dos transcritos e seus produtos proteicos, possibilitam a elucidação não só de quais microrganismos estão presentes nas amostras, mas também, qual a atividade gênica e papéis funcionais destes organismos em seu ambiente (Sharma e Sharma, 2018).

3.5.1. A abordagem Metataxonômica

A análise metataxonômica, também, comumente, referida como *metabarcoding*, consiste na investigação de microbiomas através de fragmentos amplificados (*amplicons*) de DNA *barcodes*, regiões reconhecidas por sua capacidade como marcadores filogenéticos. Esta análise se inicia desde o momento de coleta das amostras detentoras das comunidades microbianas complexas, como as vistas em solos e plantas (Fierer, 2017). O processamento das amostras irá variar de acordo com seu tipo e origem, havendo protocolos específicos para extração de DNA de diferentes origens (Kumar et al., 2014; Sagar et al., 2014; Brandt e Albertsen, 2018; Lear et al., 2018). Ainda, se a microbiota alvo encontrar-se associada à um hospedeiro, processos adicionais de purificação podem ser demandados (Thomas et al., 2012).

Uma vez extraído e purificado, o DNA metagenômico, ou seja, que aquele que contém os genomas da microbiota presente na amostra, é submetido à amplificação das regiões genicas de interesse, por meio de PCR, originando, assim, as bibliotecas de *amplicons*. Para isso, na metataxonômica, é comum a utilização de regiões conservadas, que permitem o uso de *primers* universais, mas que, no entanto, possuam trechos internos hipervariáveis, permitindo, assim, a distinção entre táxons mais específicos (Creer et al., 2016). São exemplos dessas regiões, o gene 16S rRNA, para bactérias (Armougom, 2009; Lebonah et al., 2014), e ITS (Schoch et al., 2012), para fungos. Não obstante, outro aspecto importante é a definição das sub-regiões, uma vez que, esta escolha pode impactar na precisão da identificação de táxons específicos pode variar (Bukin et al., 2019). As regiões hipervariáveis V2 e V3 do gene 16S rRNA, por exemplo, são recomendadas para a identificação de enterobactérias patogênicas (Chakravorty et al., 2007).

Outro ponto que deve ser considerado na escolha do gene e regiões-alvo a serem amplificadas e sequenciadas é a capacidade da plataforma de sequenciamento. Sequenciadores que produzem leituras (*reads*) curtas (100 a 500 pares de base), como os da plataforma Illumina[®] (Illumina, Inc.), contemplam não mais que uma ou duas regiões hipervariáveis, enquanto técnicas de sequenciamento de *reads* longas (maiores que 1000 pares de base), tais como as implementadas nas plataformas PacBio[®] (Pacific Biosciences, Inc.) e Oxford Nanopore[®] (Oxford Nanopore Technologies Ltd.), podem contemplar o comprimento total de genes marcadores e fornecer uma resolução muito maior no que se refere a distinção de espécies e linhagens relacionadas (Callahan et al., 2019).

Para a análise dos dados gerados no processo de sequenciamento, utiliza-se uma série de ferramentas computacionais para a análise e processamento desses dados que, geralmente, compreendem as etapas de controle de qualidade, processamento de sequências, atribuição taxonômica e análises ecológicas (Plummer e Twin, 2015). Na etapa do controle de qualidade, são aplicados filtros em relação ao tamanho e qualidade das *reads*, correções de erros em bases e remoção de adaptadores utilizados no processo de sequenciamento. Em seguida, as *reads* passam por agrupamento de acordo com as suas similaridades. Neste sentido, existem duas principais estratégias: a que aceita uma identidade mínima entre as sequências para serem agrupadas, geralmente de 97%, resultando em Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs, do inglês *Operational Taxonomic Units*) ou então, agrupando somente aquelas exatamente iguais, formando as chamadas Variantes de Sequências de *Amplicons* (ASVs, do inglês *Amplicon Sequence Variants*) (Prodan et al., 2020). Finalmente, é realizada a atribuição taxonômica das sequências, onde as sequências das OTU/ASV são comparadas contra bancos de dados contendo sequências ribossômicas de microrganismos conhecidos, tais como SILVA (Quast et al., 2012), RDP (Cole et al., 2014) e UNITE (Abarenkov et al., 2010).

3.5.2. Análises estatísticas aplicadas ao estudo do microbioma

A partir das contagens de OTU/ASV e suas atribuições taxonômicas é possível traçar o perfil das amostras e realizar análises ecológicas acerca dos parâmetros populacionais dos microbiomas, as quais são utilizadas para responder as perguntas

científicas por trás da investigação dos microbiomas. Uma das primeiras vertentes, diz respeito a distribuição e diferença de medidas de diversidade. Com medidas de alfa diversidade, são avaliados aspectos internos das amostras, tais como riqueza, equitabilidade e diversidade de elementos. A alfa diversidade pode ser comparada dentro ou entre grupos amostrais, através da utilização de análises estatísticas como Análises de Variância (ANOVA), Teste U de Mann-Whitney, Wilcoxon ou Kruskal-Wallis (Liu et al., 2020). A beta diversidade, por sua vez, procura avaliar a distância entre amostras e grupos amostrais, que é frequentemente combinada com análises de ordenação, tais como Análise de Coordenadas Principais (PCoA) ou Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS) para visualização (Liu et al., 2020). As diferenças estatísticas, por sua vez, podem ser prospectadas utilizando-se análises multivariadas, tal como a Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA).

Outro aspecto avaliado é a diferença significativa de abundância de elementos entre os microbiomas. Estes elementos podem ser espécies, genes ou vias metabólicas. Para avaliar tais diferenças, são utilizados testes estatísticos como: Teste *t* de Welch's, U de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis (Liu et al., 2020). Contudo, pela tendência à incidência de falsos positivos foram desenvolvidas abordagens específicas para contornar tal viés, são exemplos: edgeR (Robinson et al., 2010), DESeq2 (Love et al., 2014) e LEfSe (Segata et al., 2011).

Redes de coocorrência permitem avaliar os microbiomas de forma sistêmica – evidenciando, não apenas táxons como organismos isolados, mas como sistemas interativos que, inclusive, podem possuir propriedades emergentes (Röttjers e Faust, 2018). Para a criação das redes são utilizadas medidas baseadas em correlação, tais como coeficiente de correção de Pearson e de Spearman (Hirano e Takemoto, 2019; Liu et al., 2020). As visualizações e análises dos parâmetros de redes são obtidas com programas, tais como Cytoscape (Kohl et al., 2011) e Gephi (Bastian et al., 2009). Vale ressaltar que, ainda que úteis para a geração de insights a respeito das relações, as redes de coocorrência carecem de validação para a inferência de implicações ecológicas mais profundas (Hirano e Takemoto, 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Design experimental e coleta

Para a realização do estudo, foram obtidas plantas de cana-de-açúcar (cana-planta), variedade CTC-9001, de dois talhões adjacentes, porém que estavam sob diferentes sistemas de cultivo, sendo estes: tratamento convencional (Fazenda São Sebastião) e orgânico (Fazenda São José). Os talhões se localizavam no município de Jaboticabal-SP, possuindo cerca 100 m de distância entre si, sendo que a distância mínima entre os pontos de tratamentos contrastantes foi de aprox. 230 m. Foram consideradas três réplicas biológicas para cada tratamento, estas possuindo uma equidistância de 50 m entre si (Figura 1). Para cada ponto, duas plantas, com cerca de 11 meses de idade e visualmente saudáveis, foram coletadas. Estas foram seccionadas em raízes, colmo e folhas, e, então, armazenadas de forma independente. Adicionalmente, foram coletadas amostras do solo livre circunjacente. Todo equipamento utilizado na coleta e armazenamento foi previamente esterilizado.

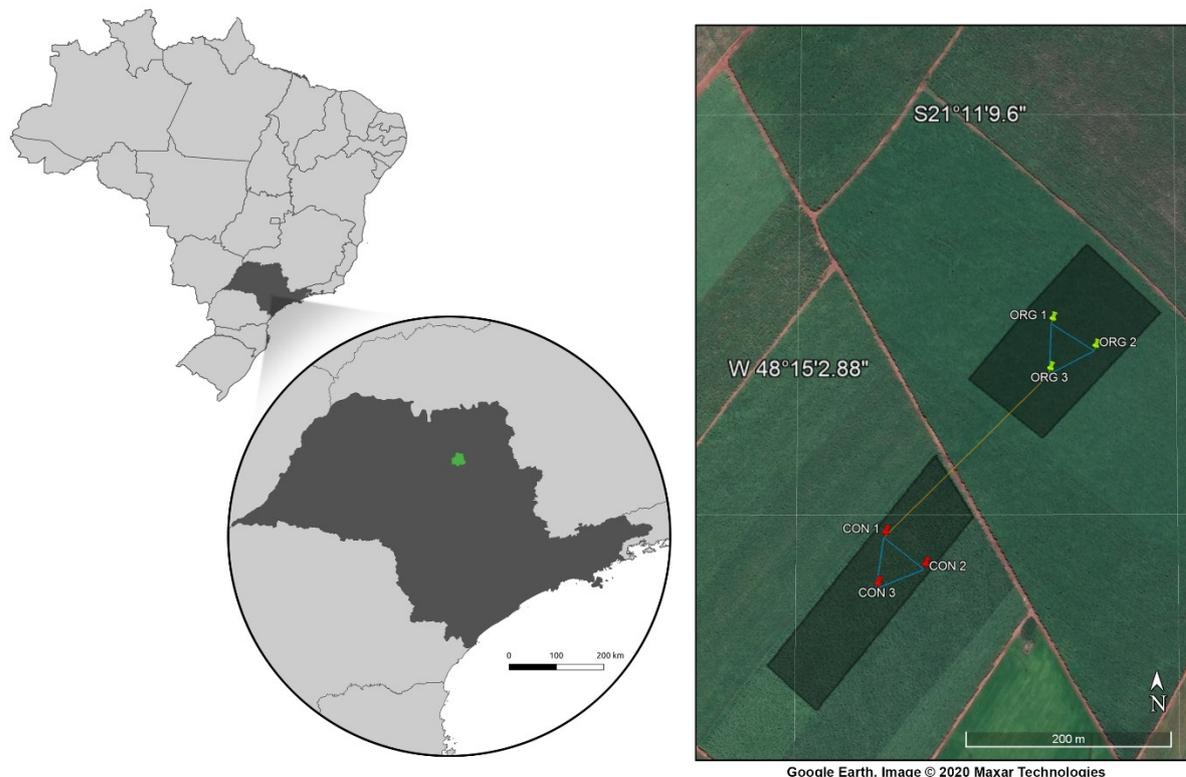


Figura 1. Mapas do local de coleta e dos pontos amostrais. O estudo foi conduzido no município de Jaboticabal-SP (verde). Os pontos de coleta (direita) foram obtidos de maneira equidistante (50m; linhas azuis), com uma proximidade mínima, entre os talhões sob tratamento convencional (CON; pins vermelhos) e orgânico (ORG; pins verdes), de aprox. 230 m (linha amarela).

As coletas foram realizadas entre os meses de fevereiro e março de 2018, sendo necessárias três incursões, nas quais foram realizadas coletas, pareadamente, para um ponto amostral de cada tratamento. As datas de coleta, georreferenciamento e informações climáticas, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Geolocalização e informações climáticas dos pontos amostrais (Umid. = umidade; Temp. = temperatura; Atm. = atmosférica).

Trat.	Latitude	Longitude	Umid. Solo (%)	Temp. Solo (°C)	Temp. Atm. (°C)	Umid. Ar (%)	Press. Atm. (hPa)	Data
CON	1 21°11'23,27"S	48°14'59,92"W	17,98	23,0	21,42	93,01	943,70	27/02/2018
	2 21°11'24,28"S	48°14'58,56"W	15,70	22,9	23,49	79,94	942,50	03/03/2018
	3 21°11'24,88"S	48°15'00,17"W	14,84	23,5	21,20	95,24	941,00	08/03/2018
ORG	1 21°11'16,46"S	48°14'54,23"W	17,95	22,6	25,47	75,40	944,10	27/02/2018
	2 21°11'17,33"S	48°14'52,76"W	17,92	23,1	28,00	61,05	943,10	03/03/2018
	3 21°11'18,06"S	48°14'54,32"W	17,08	22,7	24,72	78,57	941,70	08/03/2018

4.2. Informações dos tratamentos

O critério de seleção da área de estudo se deu pela proximidade e similaridade das condições geográficas, climáticas e edáficas, esperando-se que a variação obtida nas comunidades microbianas seja apenas em relação ao sistema de cultivo. Ambas fazendas seguem protocolos semelhantes de preparação do solo, contando com aração, gradagem e subsolagem. Além disso, da mesma forma, os talhões são reformados com leguminosas (amendoim, soja ou crotalária), que têm seu material vegetal residual pós-colheita, revolvido junto ao solo.

A fazenda de cultivo orgânico (São José), iniciou o processo de conversão para esse sistema em 2000 e possui certificação de produção orgânica¹, em conformidade nacional (Brasil, 2003), a certificação americana USDA (100%), e está de acordo com a regulamentação definida pela União Europeia, (CE) nº 834/2007 (Europeia, 2007). Para a reforma do canal de este sistema, há aplicação de vinhaça no sulco de plantio, e cobertura com matéria orgânica proveniente de esterco, torta de filtro e vegetação nativa. Tanto a torta de filtro, quanto a vinhaça são provenientes de resíduos de produção orgânica. Além disso é realizada a correção da acidez do solo (calagem) e fosfatagem (calcário e rocha fosfatada). Os demais insumos utilizados nesse

¹ <http://www.ibd.com.br/customer-details/?id=c29408c3-d871-11e4-925d-001e37e96f6c>

tratamento priorizam produtos biológicos, para controle de pragas e promoção de crescimento (Tabela 2).

Para o tratamento convencional, a adubação do solo foi realizada com calagem, utilizando gesso e calcário, e fertilização com adubo NPK (N, P₂O₅ e K₂O) na proporção 50-50-25, respectivamente. Além da adubação, são aplicados inseticidas, fungicidas, herbicidas, e fertilizantes a base de compostos orgânicos ou inorgânicos (Tabela 2).

Tabela 2. Lista de insumos agroquímicos utilizados em cada sistema de cultivo. O tratamento convencional possui predominância de produtos de origem sintética, enquanto o tratamento orgânico utiliza, majoritariamente, produtos de origem biológica.

Classe	Nome Comercial	Princípio ativo	Dosagem (per ha)	
CONVENCIONAL	Fungicida	Opera®	Epoxiconazol (Triazol); Piraclostrobina (Estrobilurina)	1 L
		Comet®	Piraclostrobina (Estrobilurina)	0,495 L (*)
	Inseticida	Orix®	Óleo mineral (Hidrocarbonetos alifáticos)	0,2 L (*)
		Nuprid®	Imidacloprido (Neonicotinóide)	1 Kg
		Regent®	Fipronil (Fenilpirazol)	247,93 g (*)
		Engeo Pleno®	Tiametoxam (Neonicotinóide); Lambda-Cialotrina (Piretróide)	1 L
	Herbicida	Butiron®	Tebutiurum (Uréia)	1,65 L (*)
		Boral	Sulfentrazona (Triazolona)	1,65 L (*)
	Fertilizante	Poliflex®	Pentóxido de fósforo (P ₂ O ₅) 18%; Nitrogênio (N) 3%	0,062 L (*)
		Zintrac™	Zinco (Zn) 40%; Nitrogênio (N) 1%	1,033 L (*)
		Bortrac™	Boro (B) 10,9%; Nitrogênio (N) 4,7%	1,033 L (*)
		Biozyme TF®	Óxido de Potássio (K ₂ O) 5,0%; Carbono Orgânico Total 3,5%; Zinco (Zn) 2%; Nitrogênio (N) 1,5%; Manganês (Mn) 1%; Enxofre (S) 1%; Ferro (Fe) 0,4%; Boro (B) 0,08%	0,495 L (*)
ORGÂNICO	Fungicida	Quality®	<i>Trichoderma asperellum</i> (1x10 ¹⁰ UFC/g)	200 g (*)
		Difere®	Oxicloreto de cobre (588 g/L)	100 g (**)
	Nematicida	Rizos®	<i>Bacillus subtilis</i> (1,5x10 ⁹ UFC/L)	2 L
		Onix®	<i>Bacillus methylotrophicus</i> SF267 (1,5 x 10 ⁹ UFC/L)	0,3 L (**)
	Inseticida	Bouveriz®	<i>Beauveria bassiana</i> (8 x 10 ⁹)	0,5 L (*)
	Promoção de Crescimento	Azos®	<i>Azospirillum brasilense</i> ABV5 (1 x 10 ⁹ UFC/L)	50 g (*)
Starfix®		<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA 5079/5080	1 L (*)	

(*) Aplicação no início do plantio (cobrição); (**) Aplicação no sulco de plantio da cultura anterior.

4.3. Determinação dos parâmetros físico-químicos do solo

Para cada ponto amostral, 5 sub-amostras do solo circunjacente (2 m) às plantas, foram coletados e, então, quantificados os seguintes parâmetros físico-químicos: Matéria orgânica (MO), aspectos relacionados à acidez do solo (pH, acidez potencial [H + Al], soma de bases [SB], saturação por bases [V%], capacidade de troca de cátions [CTC]), macro- e micronutrientes (Fósforo [P], Potássio [K], Cálcio [Ca],

Magnésio [Mg], Enxofre [S], Alumínio [Al], Zinco [Zn], Cobre [Cu], Ferro [Fe], Manganês [Mn] e Boro [B]) e aspectos granulométricos (Argila, Silte e Areia [Fina e Grossa]).

A quantificação dos parâmetros químicos do solo seguiu a metodologia descrita pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), consistindo, sinteticamente, em:

- MO: por espectrofotometria;
- pH: em CaCl_2 por potenciometria;
- H + Al: em tampão SMP por potenciometria;
- $\text{SB} = \text{Ca} + \text{Mg} + \text{Na} + \text{K}$;
- $\text{V}\% = (\text{SB} / \text{CTC}) * 100$;
- $\text{CTC} = \text{SB} + \text{H} + \text{Al}$;
- P: em resina por espectrofotometria;
- K, Ca e Mg: por espectrometria de absorção atômica;
- S: por turbidimetria;
- Al: em KCl por titulometria;
- Zn, Cu, Fe e Mn: extração com solução ácido DTPA e quantificação por espectrometria de absorção atômica;
- B: método da Azometina-H por espectrofotometria

(de Andrade et al. 2001)

A avaliação granulométrica foi feita de acordo com o manual da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (Donagema et al. 2011). A comparação estatística entre os sistemas de cultivo, foi realizada por meio do teste não-paramétrico de Wilcoxon, através do pacote “ggpubr” (v. 0.4.0; Kassambara, 2020) para o programa estatístico R (v.4.0.2; R Core Team, 2020).

4.4. Enriquecimento das comunidades microbianas

Para acessarmos de forma independente as comunidades microbianas dos diferentes nichos propiciados pela planta/ambiente de interesse, obtivemos as mesmas perante ao enriquecimento das comunidades presentes em cada hábitat. Além da separação de raízes, colmos e folhas, as comunidades foram obtidas de forma separada de acordo com o compartimento de colonização, sejam aquelas encontradas na superfície externa do tecido (epifíticas) ou as que os colonizam internamente (endofíticas). Em conjunto às comunidades colonizadoras dos tecidos vegetais, também foram considerados os microrganismos presentes no solo livre,

totalizando 7 diferentes nichos, os quais seguem a seguinte nomenclatura – baseada na combinação de nomes, em inglês (Tabela 3):

Tabela 3. Nichos avaliados e nomenclaturas adotadas para as amostras provenientes destes.

Tratamento	Ambiente/Seção vegetal	Compartimento	Nicho (Abreviatura)
Convencional (C)	Solo Livre (SL)	-	Solo Livre (CSL/OSL)
	Raiz (R)	Epifíticos (P)	Raiz: Epifítico (CRP/ORP)
		Endofíticos (N)	Raiz: Endofítico (CRN/ORN)
	Orgânico (O)	Colmo (C)	Epifíticos (P)
Endofíticos (N)			Colmo: Endofítico (CCN/OCN)
Folhas (F)		Epifíticos (P)	Folhas: Epifítico (CFP/OFP)
		Endofíticos (N)	Folhas: Endofítico (CFN/OFN)

O processo de enriquecimento das comunidades presentes nos diferentes compartimentos se deu baseado na metodologia empregada por de Souza et al. (2016). Inicialmente, as amostras de material vegetal foram transferidas para uma bandeja de plástico estéril contendo 1,0 L de solução gelada (4 °C) de tampão fosfato-salino (Phosphate Buffered Saline - PBS) (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄, pH 7,4) e Tween-20 (Tween-20 0,05% p/p). Para a obtenção das comunidades microbianas enriquecidas de microrganismos epifíticos, realizou-se uma lavagem vigorosa do tecido vegetal, porém a fim de evitar escarificações, foram utilizadas escovas com cerdas macias (no caso das folhas e raízes foram utilizadas escovas de dentes com cerdas extra-macias, enquanto que para colmos foram utilizadas escovas de lavagem), seguida de lavagem com água estéril. O resultante da lavagem foi filtrado (4 camadas de gazes estéreis) e centrifugado (6000 x g por 40 min. a 4°C), obtendo-se assim pellets enriquecidos com as comunidades epifíticas. Já para as comunidades endofíticas, realizou-se uma tríplice lavagem, com água estéril, seguido da picagem do material. Folhas e raízes, foram picadas em porções de até 100 g, colmos em porções de 300 g. O material picado foi, individualmente, triturado e homogeneizado, junto à solução fosfato-salina (PBS) gelada sem adição de Tween-20, por liquidificação mecânica. O resultado do processamento foi filtrado e centrifugado (6000 x g por 40 min. a 4°C), para a obtenção de pellets enriquecidos com as comunidades endofíticas.

Após a obtenção dos pellets de cada nicho, tanto dos epifíticos, quanto dos endofíticos, descartamos o líquido sobrenadante, deixando apenas quantidades mínimas para a ressuspensão e transferência das comunidades para microtubos de 1,5 mL, contendo PBS. Esses tubos foram, então, centrifugados (12000 x g) para concentrar as amostras. Esse processo foi repetido até a obtenção de pellets de 250 mg e 500 mg, para as comunidades epifíticas e endofíticas, respectivamente. Após a obtenção dos pellets definitivos, as amostras foram resfriadas com nitrogênio líquido e acondicionadas em freezer a -80 °C até o momento da extração de DNA. Para as amostras de solo livre, porções de 250 mg foram fracionadas em microtubos de 1,5 mL e armazenadas de forma idêntica aos outros nichos.

4.5. Extração de DNA metagenômico

A extração do DNA microbiano das amostras foi realizada utilizando o kit DNAeasy PowerSoil (Qiagen®), seguindo as recomendações dos fabricantes e aplicando as mesmas modificações implementadas por de Souza et al. (2016). As modificações consistem em aquecimento da solução de extração a 65 °C, por 10 min. após a adição do reagente “C1”, seguido por uma etapa de dupla lavagem com etanol após a adição da solução “C5”.

Devido a presença de inibidores de reação em cadeia da polimerase (PCR) nas amostras, exceto aquelas oriundas de colmos, realizamos uma etapa extra de purificação com polietilenoglicol (PEG) 6000 + NaCl (Schmitz e Riesner, 2006). O DNA purificado foi quantificado por espectrofotometria (NanoDrop®) e fluorometria (Qubit®) e, então, armazenados à -80°C.

4.6. Construção das bibliotecas de *Amplicons*

Para a avaliação da fração bacteriana das comunidades, selecionamos como alvos as regiões V3 e V4, do gene codificador da subunidade ribossomal – 16S rRNA. Lançamos mão dos *primers* 319F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') e 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), os quais contemplam uma região de aproximadamente 470 pares de base (Fadrosh et al., 2014). Para a fração fúngica, selecionamos o segundo Espaçador Interno Transcrito (ITS2), por meio dos *primers*

ITS9F (5'-GAACGCAGCRAAIIGYGA-3') e ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), abrangendo uma região de tamanho variável, de em média 310 ± 67 pares de base (Porrás-Alfaro et al. 2014).

O processo para a obtenção dos produtos de amplificação (*Amplicons*), se deu seguindo o protocolo de PCR em duas etapas da Illumina[®]. Na primeira etapa, a região-alvo foi amplificada por um *primer* conjugado contendo (da posição interna para externa): O *primer* complementar à região biológica alvo (*i.e.* 319F e 806R, para 16S), uma inserção de 4 a 6 bases aleatórias para aumento de heterogeneidade e qualidade de sequenciamento (Fadrosh et al., 2014; de Souza et al., 2016), seguidos pela alça de ligação do adaptador Illumina[®]. Na solução de reação da PCR 1, foram adicionados PNA-*clamp*, peptídeos que mimetizam ácidos nucleicos e que atuam como grampos de DNA, reduzindo a amplificação de regiões 16S rRNA de mitocôndrias (mPNA, sequência: GGCAAGTGTTCTTCGGA) e cloroplastos (pPNA, sequência: GGCTCAACCCTGGACAG) da planta (Lundberg et al. 2013). O programa do termociclador, na primeira amplificação, seguiu uma pré-desnaturação (95 °C; 3 min), e 8 ciclos de: desnaturação (95 °C; 15 s), anelamento dos PNA-*clamp* (55 °C; 30 s), polimerização (72 °C; 30 s) e extensão final (72 °C; 1 min). A enzima polimerase utilizada nessa etapa foi KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (Sigma-Aldrich[®]). Os produtos amplificados foram purificados com o kit Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter[®]) e seguiram para a PCR 2.

Na segunda etapa de PCR, adaptadores Illumina[®] de sequenciamento em “multiplex” foram adicionados. Cada amostra recebeu uma combinação única de *barcodes* N7 (*forward*) e S5 (*reverse*) da Illumina[®] para indexação dupla. Neste processo, utilizamos a enzima KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Sigma-Aldrich[®]). O programa de amplificação foi: pré-desnaturação (95 °C; 3 min), e 30 ciclos de: desnaturação (98 °C; 30 s), anelamento (55 °C; 30 s), polimerização (72 °C; 30 s) e extensão final (72 °C; 5 min). Os produtos também foram purificados com Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter[®]) e, posteriormente, avaliado por eletroforese em gel de agarose 0,8% e entregue ao Centro de Sequenciamento do Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD), na Universidade de Campinas (UNICAMP).

4.7. Sequenciamento de alto rendimento

As bibliotecas foram quantificadas utilizando o kit KAPA Library Quant Kit (Roche®) e submetido ao protocolo de amplificação padrão em *flow cell* utilizando as recomendações do kit Hiseq Rapid SBS (v.2). O sequenciamento foi realizado no equipamento Illumina® HiSeq2500, no modo “*Rapid Run*” e configurado para a produção de leituras (*reads*) em layout *paired-end* de 2x250 pb (pares de base). A biblioteca de controle *PhiX* foi utilizada durante o sequenciamento para assegurar a qualidade durante o processo de clusterização. As *reads* foram obtidas com o programa “CASAVA” (v.1.8.2; Illumina®).

4.8. Análise de dados

O resumo das etapas realizadas na análise dos dados de *amplicons*, pode ser visualizado no fluxograma a seguir (Figura 2).

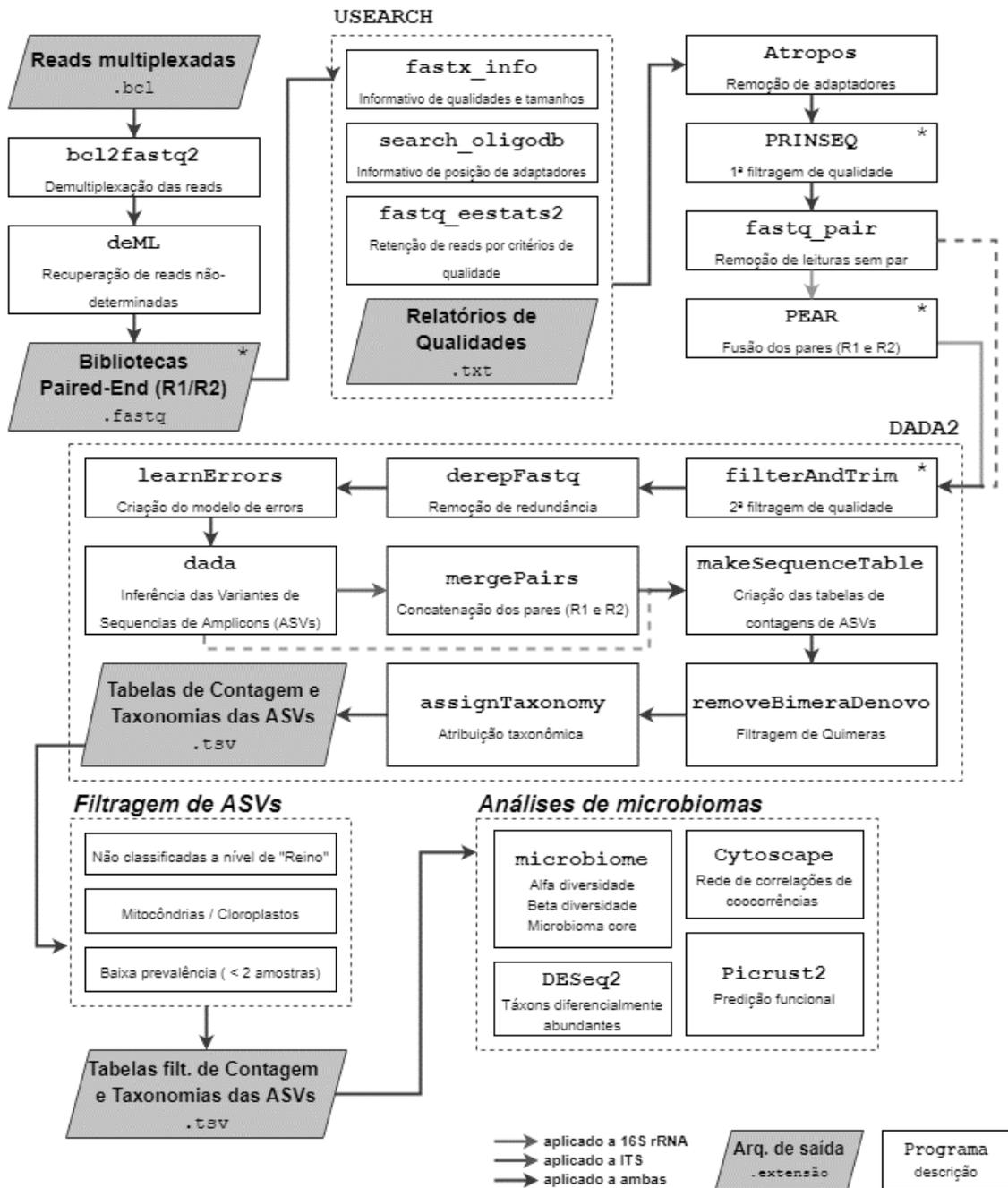
4.8.1. Demultiplexação

O processo de demultiplexação das bibliotecas de *amplicons* foi implementada utilizando o programa “bcl2fastq” (v.2.20.0.422; Illumina®), com os parâmetros *default* estabelecidos pelos autores. Assim, obtivemos as bibliotecas de *reads*, no formato *FASTQ*, separadas de acordo com a dupla de indexador único, referente a amostra de origem. Adicionalmente, nós utilizamos o programa “deML” (v.1.1.3; Renaud et al., 2015) o qual, por meio de uma abordagem probabilística, foi capaz de recuperar, em média, 21,8% e 17% das *reads* não demultiplexadas inicialmente, para as bibliotecas de 16S rRNA e ITS, respectivamente.

4.8.2. Controle de qualidade

Os procedimentos para garantir boa qualidade das *reads* de *amplicons* foram implementadas em diversas etapas do processamento (Figura 2). Inicialmente, foram utilizadas funções do pacote “USEARCH” (v.11.0; Edgar, 2010) para visualização da qualidade e auxílio no estabelecimento de parâmetros de corte que foram utilizados a jusante, no fluxo de processamento dos dados. A função “fastx_info” nos forneceu um resumo das qualidades e erros esperados (EE), por biblioteca; “search_oligodb” para

o estabelecimento da posição dos *primers* nas sequências e “fastq_eestats2”, que proveu uma estimativa de perda de *reads* com base em um gradiente de valores de corte de tamanho e qualidade máximos permitidos.



* Relatórios de qualidade foram obtidos após essas etapas, com o programa FastQC.

Figura 2. Fluxo de trabalho do processamento dos dados.

As bases aleatórias inseridas no PCR 1 (tópico 3.6), assim como as bases correspondentes ao *primer* biológico, encontravam-se inicialmente nas *reads*. Portanto, utilizamos o programa “Atropos” (v.1.1.25; Didion et al., 2017) para realizar

a remoção dessas. Como entrada, as bibliotecas *forward* (R1) e *reverse* (R2) de cada amostra e conjunto de *amplicons* (16S rRNA e ITS) foram fornecidas, em conjunto com seus respectivos pares de *primers* (6Ns + *primer* biológico). Utilizamos, também, parâmetros para garantir tamanho mínimo das sequências de saída (*--minimum-length* = 200 [16S rRNA] / 150 [ITS]), exclusão de *reads* sem pares (*--pair-filter* = *any*) e sem adaptadores (*--discard-untrimmed*). Para as sequências de ITS, foi necessário, ainda, a alteração do valor de porcentagem de erro aceito (*--error-rate*, *i.e.* *mismatches*) de 0,1 (*default*) para 0,17.

Após a remoção dos adaptadores, foi realizada uma poda dinâmica da extremidade 3' das sequências. Esse processo foi conduzido com o programa "PRINSEQ-lite" (v.0.20.3.; Schmieder e Edwards, 2011), em duas etapas. Na primeira, as bases da extremidade 3' cuja qualidade média de um conjunto de três bases (*--trim_qual_window* 3) fosse menor que 18 (*--trim_qual_right* 18), eram removidas. Após isso, se o tamanho da sequência de bases resultante fosse menor que um valor mínimo (*--min-len* 220 [16S rRNA] / 210 [ITS]), essas *reads* eram movidas, intactas, para uma segunda etapa. Na segunda etapa, todas as *reads* eram podadas para o valor mínimo, independentemente de suas qualidades. Assim, concatenamos as *reads* que atenderam os requisitos da primeira etapa, com as *reads* podadas na segunda etapa. Por fim, as bibliotecas de *reads* pareadas foram submetidas ao programa "fastq_pair" (v.1.0; Edwards e Edwards, 2019), onde removeu-se qualquer *read* que tenha perdido seu par durante o processamento de qualidade.

4.8.3. Fusão dos pares de *reads* (ITS)

O processo de fusão das *reads* pareadas (R1 e R2) foi realizado de forma distinta para os conjuntos de dados de 16S rRNA e ITS. Isso se deu por conta do maior tamanho de inserto das regiões V3 e V4 do gene 16S rRNA que, após a poda de bases de baixa qualidade da porção terminal das sequências, resultou em baixa proporção de fusão por sobreposição de R1 e R2. Assim, optamos por apenas concatenar os pares de *reads* de *amplicons* 16S, em um passo que será melhor descrito no tópico seguinte.

Para os pares de bibliotecas de *amplicons* ITS, o processo de fusão foi implementado com o programa “PEAR” (v.0.9.6; Zhang et al., 2014). 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 10 bases (*default*) e um teste estatístico interno de probabilidade de fusão correta (*--p-value* 0.05). Sequências fundidas com tamanho menor que 200 pb foram descartadas (*--min-assembly-length* 200).

4.8.4. Obtenção de Variantes de Sequências de *Amplicons* (ASVs)

Ambos os conjuntos de dados de *amplicons* (16S e ITS) foram encaminhados para a detecção de Variantes de Sequências de *Amplicons* (ASVs, do inglês *Amplicon Sequence Variants*), com pequenas diferenças entre eles. As ASVs são conceitualmente similares as, tradicionalmente utilizadas em análises metataxonômicas, OTUs. Contudo, devido ao aprimoramento dos algoritmos de correção de erros oriundos do sequenciamento, a abordagem de ASVs permite o estabelecimento de um consenso exato de sequências, enquanto que na abordagem de clusterização utilizada para estabelecimento de OTUs, os erros são incorporados pelo afrouxamento da circunscrição que define suas unidades, geralmente aceitando agrupar sequências com 97% a 99% de similaridades entre si (Callahan et al., 2017).

Para a obtenção das ASVs, utilizamos o pacote R: “DADA2” (v.1.14.1; Callahan et al., 2016). Para os dados de 16S, as bibliotecas *forward* e *reverse* foram fornecidas para a função “filterAndTrim”. Nessa função, realizou-se uma truncagem de tamanhos (*truncLen* = 210 [*forward*] / 155 [*reverse*]), que foi especialmente restritiva para as *reads* das bibliotecas *reverse*, as quais apresentaram maior queda de qualidade nas bases finais. Adicionalmente, filtros de EE máximo (*maxEE* = 4) e de sequências de controle da Illumina® (*rm.phix* = *TRUE*) foram implementados. As sequências resultantes seguiram para o algoritmo aprendizado de taxa de erros, através da função “learnErrors”, e tiveram a redundância reduzida, com a função “derepFastq”. Na continuidade, as sequências tiveram seus erros corrigidos com base nos modelos obtidos anteriormente, através da função “dada”. Exclusivamente para as bibliotecas de 16S, a função “mergePairs” foi utilizada com o parâmetro (*justConcatenate* = *TRUE*), assim obtendo as *reads* concatenadas desse conjunto de dados. A função

“removeBimeraDenovo” foi implementada para a detecção de fusões (ITS) ou concatenações (16S) espúrias.

As bibliotecas de ITS passaram pelo mesmo fluxo de processamento, porém com pequenas alterações, já que estas já se encontravam fundidas no momento inicial. Na etapa da função “filterAndTrim”, não houve truncagem dos tamanhos (*truncLen* = 0), devido a heterogeneidade de tamanhos de insertos possíveis para a região ITS2. Porém, uma poda de 15 bases terminais (*trimRight* = 15), foi realizada. Todas as outras etapas, excetuando-se o processo de concatenação, foi idêntico ao descrito acima para o conjunto de dados de 16S rRNA. Desta forma, obtivemos as tabelas de contagens de ASVs para cada amostra e conjunto de *amplicons* (16S e ITS).

4.8.5. Atribuição taxonômica e filtragem de ASVs

A atribuição taxonômica das ASVs ocorreu de forma integrada aos processamentos do “DADA2” (tópico 3.8.4), pela função “assignTaxonomy”. Para isso, em adição às sequências, provemos bancos de dados contendo conjuntos de sequências-referência. Para as ASVs de bactérias (16S), utilizamos o banco de dados “RefSeq + RDP” (RefSeq do *National Center for Biotechnology Information* [NCBI] suplementado com sequências do banco de dados do *Ribosomal Database Project* [RDP]) (v.2.0) como referência principal. Contudo, essas ASVs também foram anotadas contra os bancos: RDP (solo) (v.16), GTDB (v.1.0), e SILVA (v.138), os quais foram considerados para a remoção de possíveis sequências contaminantes. Para ASVs de fungos (ITS), o banco de dados de referências taxonômicas utilizado foi o UNITE (v.8.2).

Após a atribuição taxonômica, nós implementamos alguns filtros para remover sequências espúrias e contaminantes. Esses filtros consistiram na remoção de ASVs não-classificadas a nível taxonômico de Reino (16S – Bacteria; ITS – Fungi), daquelas anotadas como mitocôndrias ou cloroplastos por ao menos um dos bancos de referências e, por fim, ASVs presentes em apenas uma amostra (*i.e.* filtro de baixa prevalência). Assim, obtivemos as ASVs que foram consideradas para as análises comparativas dos microbiomas.

4.9. Análise de microbiomas

4.9.1. Alfa e Beta diversidade

As análises de diversidade foram conduzidas com o pacote R, “microbiome” (v.1.10.0; Lahti e Shetty, 2012), a partir das tabelas de contagens e taxonomias das ASVs convertidas para objeto “phyloseq” (pacote R, “phyloseq”; v.1.32.0; McMurdie e Holmes 2013). Para o estabelecimento da alfa diversidade, foram consideradas a riqueza observada de ASVs (riqueza de espécies), e os índices de diversidade de Shannon e Gini-Simpson, que ponderam a riqueza pela equitabilidade de forma moderada e elevada, respectivamente. Para as médias dos valores de diversidade alfa obtidas em cada nicho, foi realizada a comparação estatística, entre os tratamentos, com o teste não-paramétrico de Wilcoxon. Além disso, o teste Kruskal-Wallis foi realizado para avaliação de diferença de média das diversidades alfa dos nichos, e comparação interna (*post-hoc*), conduzida, também, com o teste Wilcoxon. Os testes estatísticos foram obtidos a partir da função “compare_means” do pacote “ggpubr”. Representações gráficas dos gradientes de diversidade dos nichos foram obtidas através da plotagem da série de Hill (Hill, 1973), considerando as ordens de diversidade q^0 (riqueza de espécies), q^1 (índice de Shannon) e q^2 (índice de Simpson). Para isso, utilizou-se o pacote R: “hilldiv” (v.1.5.3; Alberdi, 2019).

Para a avaliação da beta diversidade, as distâncias das dissimilaridades de Bray-Curtis foram obtidas com a função “distance” do pacote “phyloseq”. A matriz de distâncias foi utilizada para a realização de uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA, *Principal Coordinate Analysis*). Para avaliação estatística do agrupamento em função das variáveis categóricas (tratamento, nicho e conjunção destas), utilizou-se a Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA), usando a função “adonis”, do pacote “vegan” (v.2.5.6; Oksanen et al., 2019) do R. As distâncias das dissimilaridades também foram utilizadas para a obtenção de um dendrograma dos agrupamentos hierárquicos das amostras.

4.9.2. Microbioma essencial

Para a identificação de táxons que possuíram alta prevalência nas amostras de cana, independentemente do nicho e sistema de cultivo, o microbioma essencial, foram considerados aqueles com presença mínima em, ao menos, 75% das amostras, e com abundância relativa maior que 1%. Essa análise foi obtida e representada com a função “plot_core” do pacote “microbiome”. Todos os níveis taxonômicos, de filo a espécie, foram prospectados.

4.9.3. Táxons diferencialmente abundantes

As ASVs foram colapsadas para cada nível taxonômico, e prospectou-se táxons Diferencialmente Abundantes (DA) nos nichos, entre suas contrapartes de cada tratamento. Para isso, utilizamos a abordagem do DESeq2 (Love et al., 2014), através da interface web “MicrobiomeAnalyst”² (Dhariwal et al., 2017). Foram considerados táxons DA aqueles cujo p-valor ajustado por FDR, foi menor ou igual a 0,1.

4.9.4. Redes de correlação de coocorrência

Para cada sistema de cultivo e conjunto de *amplicons* (16S e ITS), obteve-se uma rede de coocorrência ao nível dos gêneros microbianos presentes. As redes foram obtidas com base nos coeficientes de correlação de Pearson. Para o cálculo dos coeficientes, as tabelas de contagens de ASVs e anotações taxonômicas foram submetidas a “*Correlation Analysis*” da plataforma “MicrobiomeAnalyst”, considerando como parâmetros: correlação mínima (*correlation threshold*) de 0,5 (positivas ou negativas) e p-valor (*p-value threshold*) de 0,05.

As tabelas contendo os coeficientes de correlação de Pearson, foram fornecidas ao programa “Cytoscape” (v.3.8.0; Kohl et al., 2011), onde as visualizações das redes foram obtidas utilizando os parâmetros de *layout* padrão (*default*). As somas das abundâncias relativas foram utilizadas para a determinação do tamanho dos nós de cada gênero observado. Neste programa também foram calculadas as medidas

² www.microbiomeanalyst.ca

de centralidade das redes (*Tools > Analyze Network*), as quais foram comparadas estatisticamente entre os sistemas de cultivos mediante ao teste de Wilcoxon.

4.9.5. Predição funcional

O programa “PICRUSt2” (v.2.3.0-b; Douglas et al., 2020) foi utilizado para inferir as capacidades dos microrganismos presentes em cada conjunto de dados. As capacidades funcionais foram identificadas de acordo com a classificação no banco de referências do “MetaCyc” (Caspi, 2006) e comparadas entre os sistemas de cultivo para identificação vias metabólicas diferencialmente expressas. A comparação estatística das capacidades funcionais ocorreu utilizando o programa “STAMP” (v.2.1.3; Parks et al., 2014), por meio do teste não-paramétrico de White e considerando um p-valor < 0,01 – de acordo com os parâmetros recomendados pelos autores do “PICRUSt2”.

5. RESULTADOS

5.1. Análise das propriedades edáficas

As análises dos parâmetros físico-químicos do solo revelaram diferenças mínimas entre os sistemas de cultivo (Tabela 4). Entre as diferenças, nota-se um solo levemente mais ácido no sistema de cultivo convencional em relação ao orgânico, evidenciado por menores medidas de pH, soma e saturação de bases, em oposição a uma maior porcentagem de saturação de alumínio. Em termos de nutrientes, apesar de todos os insumos e suplementos utilizados (Tabela 2), apenas a quantificação de K e S variou entre os sistemas, com valores acrescidos no tratamento convencional. Em relação a textura do solo, avaliada por meio da análise granulométrica, encontra-se um solo mais arenoso no cultivo convencional.

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

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

As médias foram comparadas utilizando o teste não-paramétrico Wilcoxon, considerando um gradiente de significância (Sig.) para o p-valor de: **** (p < 0,001); *** (p ≤ 0,01); ** (p ≤ 0,05); * (p ≤ 0,1); ns (não-significativo; p > 0,1).

5.2. Sequenciamento e Processamento dos Amplicons

No total, foram produzidas 84 bibliotecas a partir das amostras, sendo 42 ([7 nichos x 3 réplicas] x 2 tratamentos) de cada conjunto de *amplicons* (16S rRNA e ITS). O sequenciamento de alto rendimento, gerou um total de 31.496.735 pares de *reads* brutas de 16S rRNA, com uma média de 749.922 ($\pm 2,53 \times 10^5$) por biblioteca. Para as bibliotecas de ITS, gerou-se um total de 38.654.100 pares de *reads*, cuja média foi de 920.336 ($\pm 5,94 \times 10^5$) *reads* brutas por amostra. Os dados brutos do sequenciamento podem ser acessados na base de dados públicos *NCBI - Sequence Read Archive* (SRA), sob o número de acesso: [PRJNA682758](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA682758).

O controle rigoroso de qualidade, ocasionou redução considerável da quantidade de *reads* iniciais em relação as que foram utilizadas para as análises dos microbiomas (Tabela 5; Figura 3). O processamento das *reads* e controle de qualidade afetou as sequências oriundas dos diferentes nichos de forma não-uniforme, já que, apesar do tratamento preventivo com PNA-*clamp* (tópico 3.6), as bibliotecas de nichos endofíticos do conjunto de dados de 16S rRNA, especialmente aquelas de tecidos acima do solo (colmo e folhas), apresentaram quantidades expressivas de sequências contaminantes oriundas de mitocôndrias e cloroplastos (Figura 3.a). A alta prevalência de material genético de organelas da cana-de-açúcar, parecem também ter afetado as bibliotecas de ITS, ocasionando uma grande proporção de DNA não-fúngico, resultando na presença de dímeros de adaptadores sem insertos que foram removidos na etapa inicial de controle de qualidade (Figura 3.b).

Tabela 5. Contagem das *reads* antes (brutas) e depois (usáveis) do processamento de qualidade e das ASVs encontradas em cada nicho.

Nicho	Convencional			Orgânico			
	Brutas	Usáveis	ASVs	Brutas	Usáveis	ASVs	
Bactérias (16S)	Solo Livre	1.500.309	741.725	5.881	1.447.942	641.946	5.460
	Raiz: Epifítico	2.026.072	910.809	7.396	2.511.085	764.589	6.250
	Raiz: Endofítico	2.746.008	1.025.630	4.573	2.436.912	609.859	3.049
	Colmo: Epifítico	2.213.603	1.163.535	1.722	2.490.652	997.025	1.255
	Colmo: Endofítico	2.232.820	67.762	472	2.809.740	266.749	581
	Folhas: Epifítico	1.757.495	922.882	637	2.764.455	1.225.033	615
	Folhas: Endofítico	1.870.400	6.586	69	2.689.242	149.514	88
Fungos (ITS)	Solo Livre	1.799.734	703.381	783	1.671.659	485.381	758
	Raiz: Epifítico	2.116.055	1.221.265	1.331	1.077.709	417.503	1.121
	Raiz: Endofítico	3.383.960	2.575.851	1.039	5.224.585	3.815.095	994
	Colmo: Epifítico	5.498.797	4.748.210	1.040	3.512.235	3.114.597	802
	Colmo: Endofítico	1.772.316	277.101	217	1.458.197	517.010	188
	Folhas: Epifítico	3.427.854	2.376.236	1.254	3.346.953	2.678.526	1.193
	Folhas: Endofítico	2.791.632	169.345	207	1.572.414	339.778	242

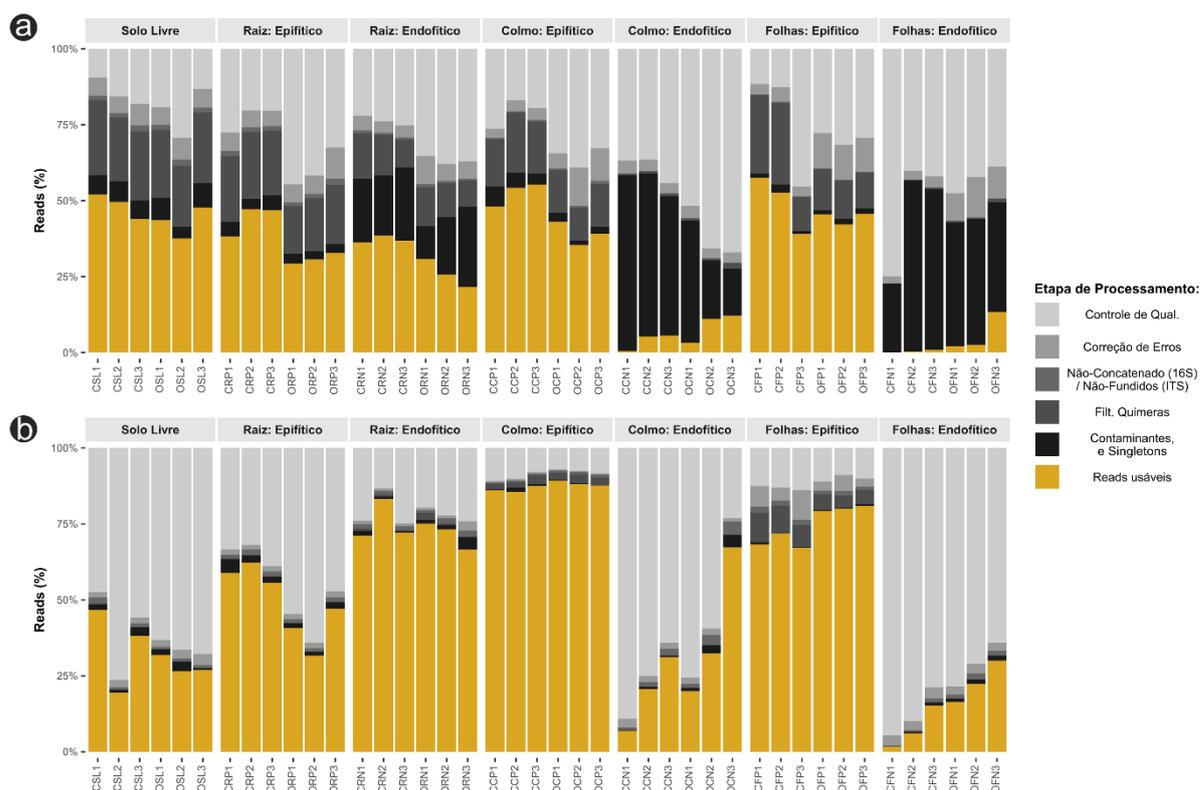


Figura 3. Porcentagens de *reads* perdidas nos passos de processamento dos dados de *amplicons* de 16S rRNA (a) e ITS (b). As *reads* usáveis (amarelas) foram consideradas para as análises de microbiomas.

No total, foram identificadas 12.839 ASVs bacterianas e 3.222 fúngicas. Apesar de grande variação do número de ASVs encontradas nos nichos (Tabela 5), as curvas de rarefação das ASVs observadas indicam que os resultados encontrados tendem a representar corretamente a quantidade de espécies esperadas para os habitats avaliados, com exceção de algumas amostras vindas dos ambientes endofíticos de colmo e folha, que não atingiram a saturação de ASVs por profundidade de sequenciamento (Figura 4).

A maior parte das ASVs bacterianas foram identificadas nos nichos de “solo livre” e dos compartimentos epifíticos e endofíticos de raízes (Tabela 5). Dentre os fundos, a distribuição de ASVs foi mais equilibrada em relação à ambientes/nichos, com exceção dos compartimentos endofíticos de tecidos da parte área da cana. Avaliando o compartilhamento de ASVs entre os diferentes tecidos/ambientes, é notado que há grande intersecção de ASVs, principalmente de ambientes mais próximos como solo/raiz e colmo/folhas, para ambos conjuntos de *amplicons* (Figura 5.a.i e 5.b.i). Contudo, a presença de ASVs únicas de cada tecido/ambiente é ainda

maior, revelando grande especificidade de habitats. Além disso, notou-se a presença de ASVs ubíquas, comuns a todos os locais. Sendo encontradas 60 e 41 ASVs bacterianas nessa condição para sistemas de cultivo convencional e orgânico, respectivamente, e 205 e 151, fúngicas, seguindo a mesma ordem. Os resultados também evidenciam que há grande compartilhamento de ASVs entre os sistemas de cultivo (Figura 5.a.ii e 5.b.ii).

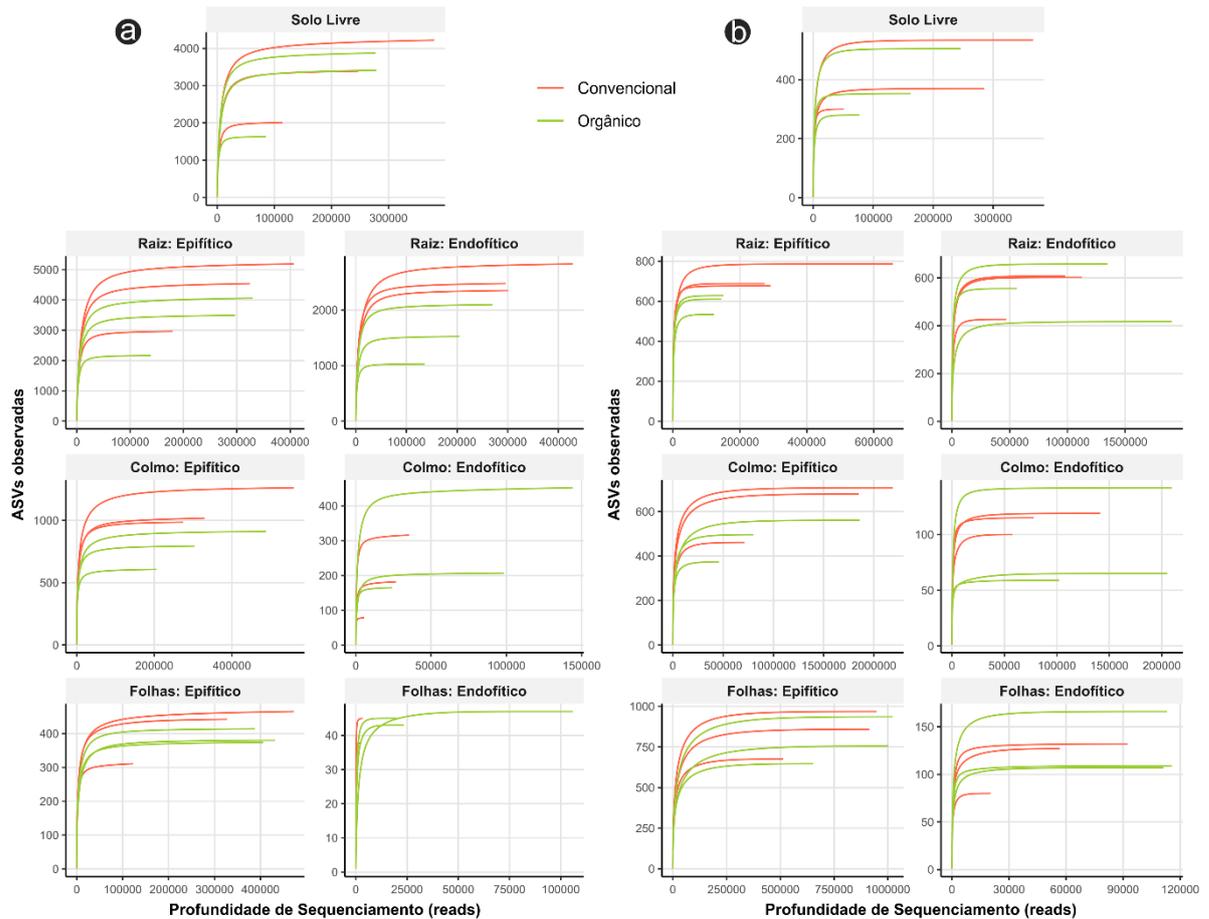


Figura 4. Curvas de rarefação relacionando o número de ASVs bacterianas (a) e fúngicas (b) observadas, em função da profundidade de sequenciamento.

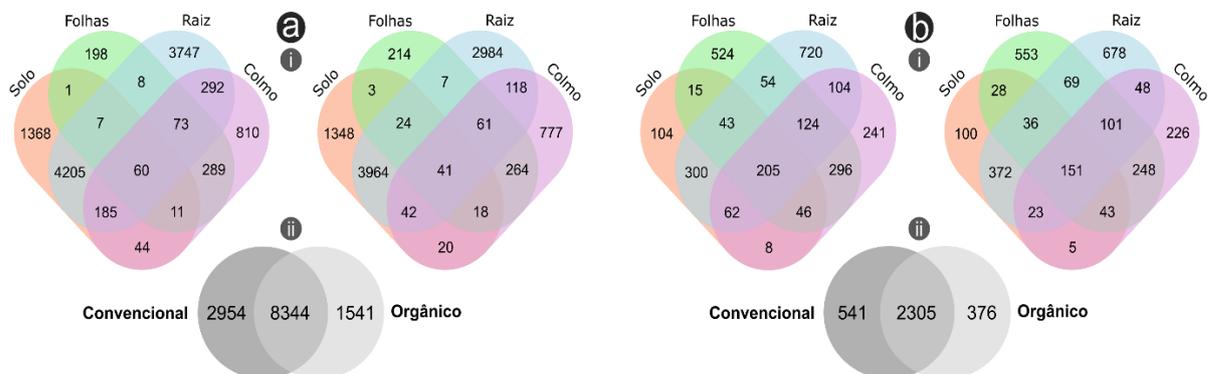


Figura 5. Diagramas de Venn demonstrando o compartilhamento entre as ASVs de bactérias (a) e fungos (b) entre os ambientes/tecidos vegetais (i) e sistemas de cultivo (ii).

5.3. Medidas ecológicas e composição microbiana

Os resultados das métricas de alfa diversidade revelam que houveram diferenças gerais entre os nichos de cada tratamento e para cada fração microbiana estudada (Kruskal Wallis: p -valor $\leq 0,05$) (Tabela 6). Os testes *post-hoc* evidenciam que as maiores riquezas e diversidades de espécies bacterianas, em ambos os tratamentos, estariam relacionadas com os nichos de raízes e solo livre (Tabela 6). Para a fração fúngica, os resultados mostram-se mistos, com uma tendência de maior riqueza e diversidade para nichos de colonização epifítica e, também, o solo livre.

Tabela 6. Médias das métricas de alfa diversidade das frações microbianas presentes nos nichos em cada sistema de cultivo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os nichos de um mesmo sistema e grupo microbiano (teste *post-hoc*).

Nicho	Riqueza Observada			Índice Shannon			Índice Gini-Simpson			
	Con.	Org.	sig.	Con.	Org.	sig.	Con.	Org.	sig.	
Bactérias (16S)	Solo Livre	3206,67 ^{ab}	2973,33 ^{ab}	ns	7,27 ^a	7,24 ^a	ns	1 ^a	1 ^a	ns
	Raiz: Epifítico	4229 ^a	3238,33 ^a	ns	7,51 ^a	7,25 ^a	ns	1 ^a	1 ^{ab}	ns
	Raiz: Endofítico	2551,33 ^b	1549,33 ^b	*	6,47 ^b	6,08 ^b	ns	0,99 ^b	0,99 ^{bc}	ns
	Colmo: Epifítico	1088,33 ^c	770,67 ^c	*	5,41 ^c	5,3 ^c	ns	0,99 ^c	0,99 ^c	ns
	Colmo: Endofítico	192,33 ^d	274,67 ^d	ns	4,3 ^d	4,04 ^d	ns	0,97 ^{cd}	0,94 ^d	ns
	Folhas: Epifítico	406 ^d	389 ^d	ns	3,91 ^d	3,69 ^d	ns	0,93 ^{de}	0,91 ^d	ns
	Folhas: Endofítico	31 ^e	45 ^e	ns	2,73 ^e	0,78 ^e	*	0,89 ^e	0,25 ^e	*
Fungos (ITS)	Solo Livre	401,33 ^b	379,33 ^c	ns	4,32 ^a	4,22 ^a	ns	0,96 ^a	0,95 ^a	ns
	Raiz: Epifítico	717 ^a	590,67 ^b	*	4,51 ^a	4,72 ^a	ns	0,94 ^{ab}	0,95 ^{abc}	ns
	Raiz: Endofítico	545,33 ^b	543,33 ^{abc}	ns	3,14 ^b	3,09 ^{bc}	ns	0,86 ^{bc}	0,81 ^{bcd}	ns
	Colmo: Epifítico	615,67 ^{ab}	477 ^{bc}	ns	2,75 ^b	2,49 ^c	ns	0,84 ^c	0,79 ^d	*
	Colmo: Endofítico	111,33 ^c	88,67 ^d	ns	2,98 ^b	2,56 ^c	ns	0,89 ^{bc}	0,83 ^{cd}	ns
	Folhas: Epifítico	834,33 ^a	779,67 ^a	ns	4,33 ^a	3,67 ^b	*	0,96 ^a	0,91 ^b	*
	Folhas: Endofítico	113 ^c	127,33 ^d	ns	2,94 ^b	2,73 ^c	ns	0,87 ^{bc}	0,83 ^c	ns

As médias dos nichos e suas contrapartes no tratamento oposto, foram comparadas utilizando o teste não-paramétrico Wilcoxon, considerando um gradiente de significância (Sig.) para o p -valor de: **** ($p < 0,001$); *** ($p \leq 0,01$); ** ($p \leq 0,05$); * ($p \leq 0,1$); ns (não-significativo; $p > 0,1$).

Na parcela bacteriana, as únicas diferenças entre os tratamentos se deram por maiores riquezas de espécies para as amostras de raízes endofíticas e colmos epifíticos (Tabela 6), que não se confirma quando se considera os índices de diversidade – Shannon e Gini-Simpson – os quais não ensejaram diferenças significativas para esses nichos. O nicho endofítico de folhas, por sua vez, não apresentou diferença na riqueza de espécies observadas, porém notou-se diferenças nos índices de diversidade, com valores consideravelmente baixos para o sistema de cultivo orgânico, denotando a presença de ASVs dominantes nas folhas endofíticas desse tratamento. Em fungos, também houveram diferenças entre os sistemas de cultivo. O nicho epifítico de raiz apresentou maior média de espécies no cultivo

convencional, considerando-se a riqueza observada (Tabela 6). Ponderando-se pelos índices de diversidade, as diferenças ficam em torno dos nichos epifíticos de colmo (apenas Gini-Simpson) e folhas (Shannon e Gini-Simpson), com ambos apresentando diversidades superiores das medidas dos índices para o sistema de cultivo convencional.

As representações gráficas das diversidades dos nichos reafirmam as observações da tabela das médias (Tabela 6), onde nota-se o descolamento da riqueza de espécies (q^0) de bactérias observadas nos nichos significativamente distintos (Raiz: Endofítico e Colmo: Epifítico) (Figura 6.a). Em contrapartida, o descolamento dos nichos endofíticos de folhas e colmo, tenderam a ocorrer nos índices de diversidade (q^1 – equivalente à Shannon, q^2 – equivalente à Simpson), embora o ultimo não tenha sido considerado significativo (Tabela 6). Em relação aos fungos (Figura 6.b), assim como observados para as médias, temos uma diferença mais sutil entre os sistemas de cultivo.

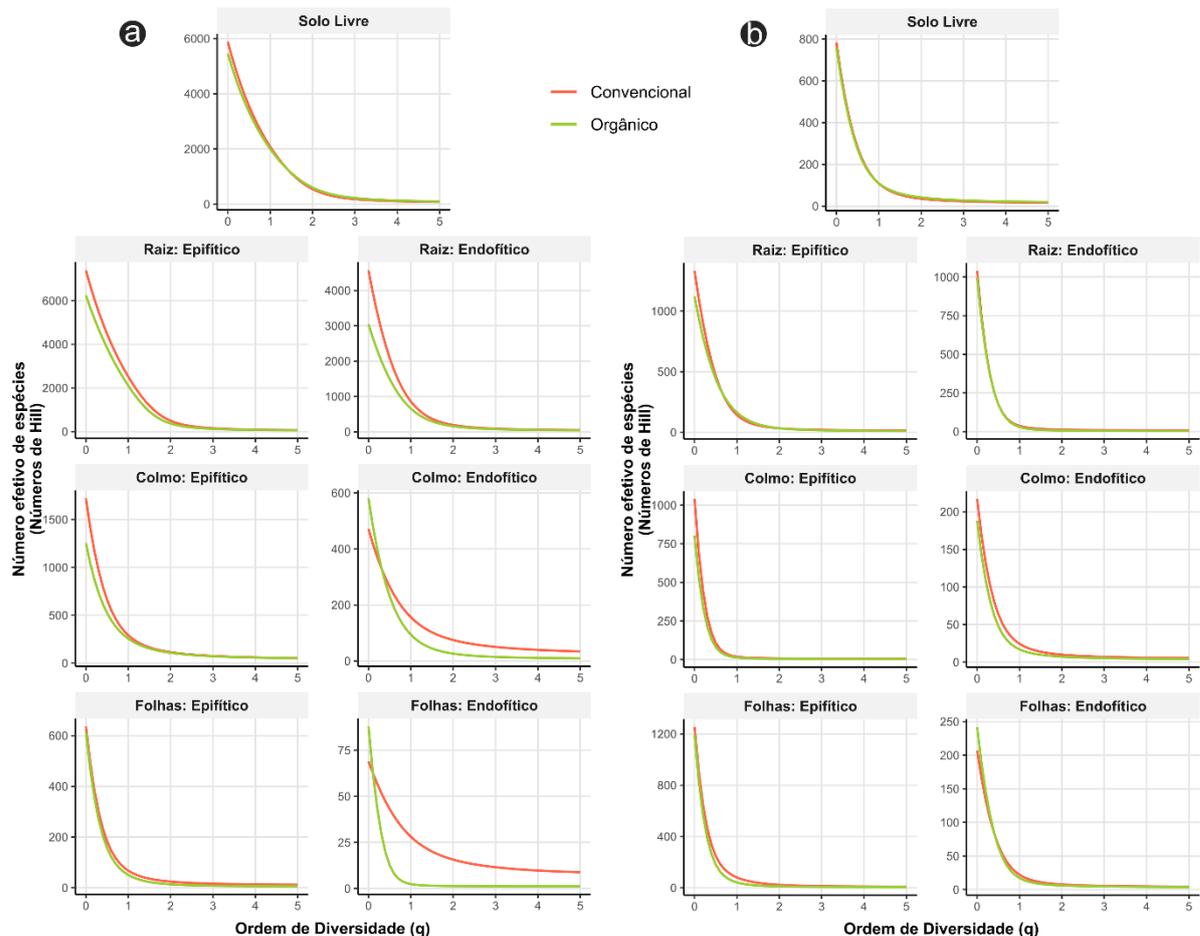


Figura 6. Série de Hill das frações bacterianas (a) e fúngicas (b) encontradas nos nichos dos sistemas de cultivo contrastantes. A curva representa o número efetivo de espécies ao longo das ordens de diversidade (q), que se inicia pelo n^o de espécies observadas (q^0) e incrementa gradativamente o peso da equitabilidade nas ordens acima.

A partir das classificações taxonômicas das ASVs bacterianas, foram identificados um total de 25 filios, 71 classes, 56 ordens, 152 famílias, 468 gêneros e 795 espécies. Para as ASVs de fungos, os valores foram de: 9 filios, 35 classes, 100 ordens, 234 famílias, 481 gêneros e 622 espécies. A visualização dos volumes relativos de ASVs classificadas em cada nicho de cada fração microbiana pode ser visualizado na Figura 7. As porcentagens de classificações indicam que grande parte (> 75%) das ASVs bacterianas que compõem os diferentes nichos puderam ser classificadas pelo menos até o nível de gênero, em ambos tratamentos (Figura 7.a). Contudo, para amostras relacionadas com nichos acima do solo das bibliotecas de ITS, a classificações foi relativamente baixa para os níveis taxonômicos mais específicos (Figura 7.b).

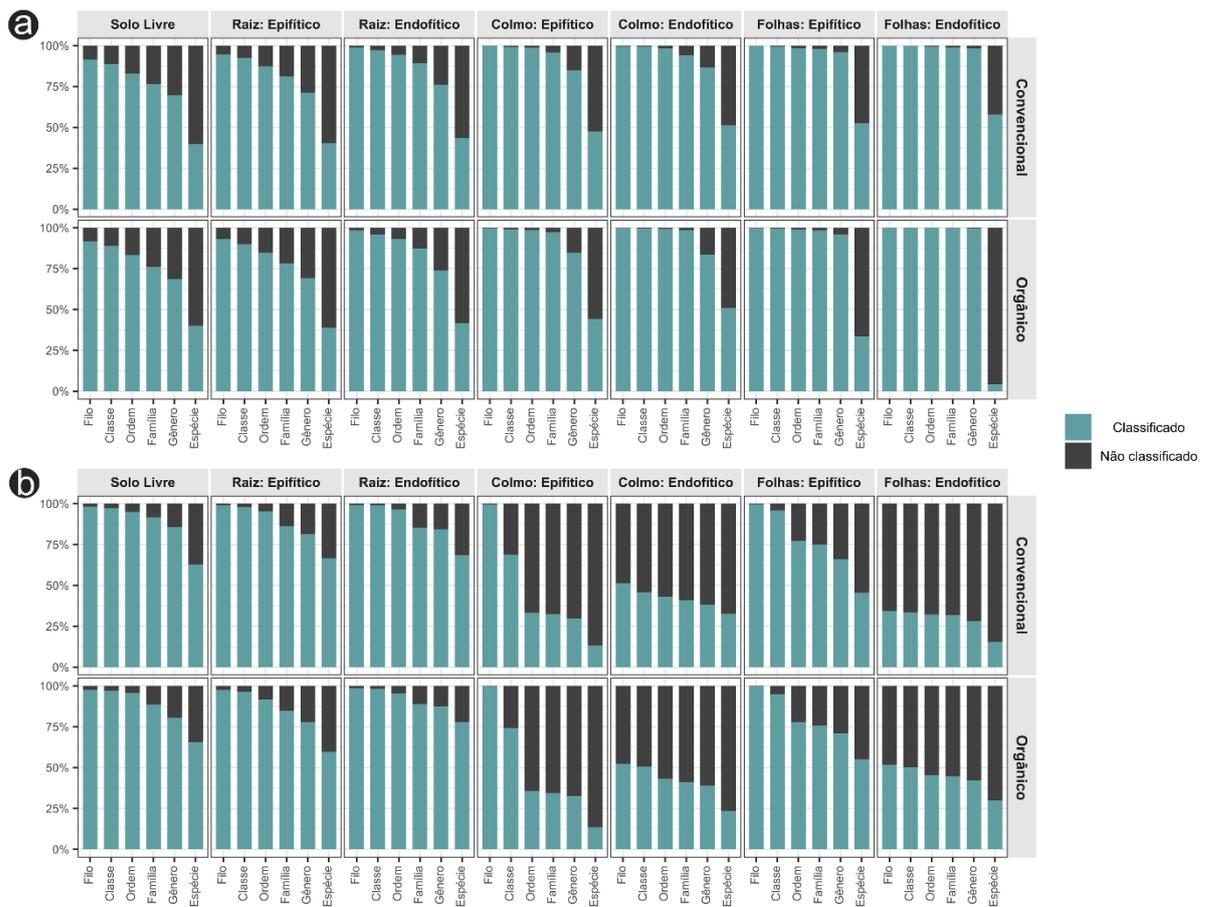


Figura 7. Percentagem de ASVs de bactérias (a) e fungos (b) classificadas até determinado nível taxonômico.

Ao avaliar a composição bacteriana ao longo dos nichos (Figura 8.a), considerando-se o agrupamento das ASVs ao nível taxonômico de Ordem, tem-se que grande parte dos táxons de maior abundância são pertencentes ao filo *Proteobacteria*. Outros, dentre os mais abundantes, mas em menor proporção são *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* e *Gemmatimonadetes*. Nota-se ainda a presença considerável de ASVs não classificadas mesmo ao nível de Filo, cuja abundância é especialmente alta nas amostras de nichos relacionados ao solo (solo livre e epifítico de raiz). Ainda em relação aos nichos diretamente relacionados ao solo, estes denotam possuir uma maior diversidade de ordens, uma vez que o grupo “outros”, que corresponde a conjunção de ordens de menor abundancia relativa, representa uma parcela significativa da composição destes nichos.

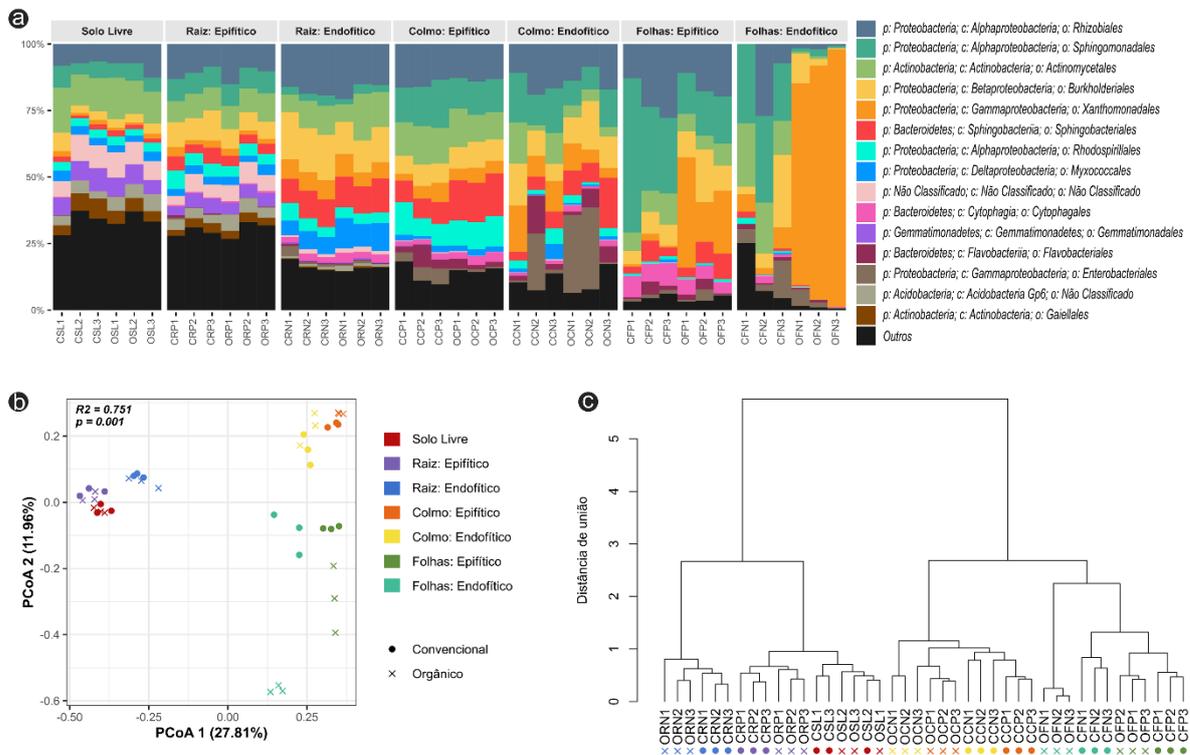


Figura 8. Composição bacteriana dos nichos. (a) Abundância relativa das 15 ASVs bacterianas mais abundantes, colapsadas ao nível taxonômico de “ordem”, ordens menos abundantes estão agrupadas sob a categoria “Outros”. Representação gráfica da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (b) e dendrograma do agrupamento hierárquico das amostras (c), ambos baseados nas distâncias de dissimilaridades de Bray-Curtis.

A comparação da diversidade entre as amostras dos nichos (beta diversidade) foi obtida através das distâncias de dissimilaridades de Bray-Curtis. Em relação ao agrupamento das amostras na tangente bacteriana, é evidenciado, por meio da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (Figura 8.b), que o principal fator descritor da composição é o nicho. O resultado da análise PERMANOVA, mostra que não há

significância (p -valor $> 0,05$) quando se avalia apenas o tratamento (convencional ou orgânico) como fator descritivo da variância observada. Porém, em relação ao “nicho”, houve diferenças significativas (PERMANOVA: $R^2 = 0,577$; p -valor $< 0,001$). Contudo, quando se associa ambos fatores, há uma explicação ainda maior da variância obtida (Figura 8.b; PERMANOVA: $R^2 = 0,751$; p -valor $< 0,001$). Em consonância ao gráfico de PCoA, o agrupamento hierárquico das amostras da fração bacteriana dos nichos aponta a uma separação em dois grandes grupos: Nichos associados ao solo (Solo livre e raízes: epifíticas e endofíticas) e acima do solo (folhas e colmo). Contudo, ainda que com baixa distância de união (Figura 8.c), nota-se uma separação interna das amostras associadas a cada sistema de cultivo em grande parte dos nichos estudados.

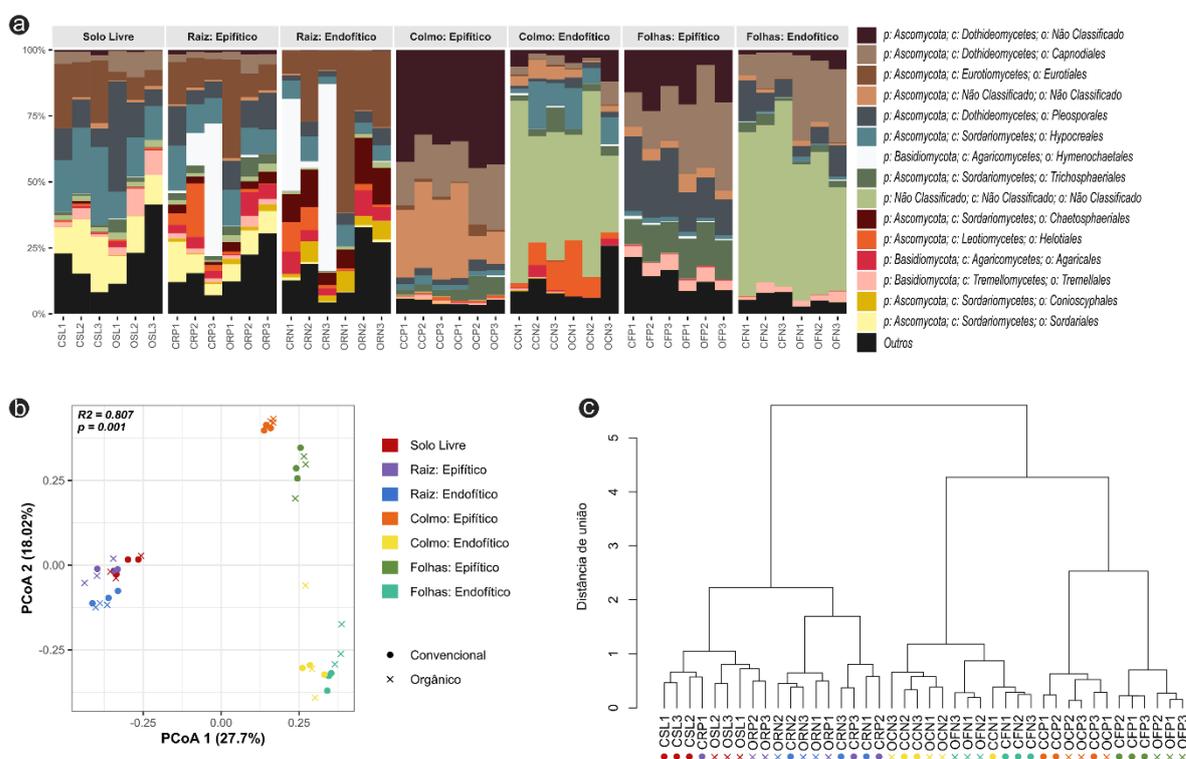


Figura 9. Composição fúngica dos nichos. (a) Abundância relativa das 15 ASVs fúngicas mais abundantes, colapsadas ao nível taxonômico de “ordem”, ordens menos abundantes estão agrupadas sob a categoria “Outros”. Representação gráfica da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (b) e dendrograma do agrupamento hierárquico das amostras (c), ambos baseados nas distâncias de dissimilaridades de Bray-Curtis.

Em contraste ao conjunto de dados de *amplicons* bacterianos, grande parte das sequências de fungos de nichos relacionados a parte aérea da cana, não foram classificadas mesmo ao nível de ordem (Figura 7). Com isso, é notado nesses nichos uma parcela considerável de ASVs não classificadas dentre as mais abundantes, incluindo a de maior importância nos nichos endofíticos de colmo e folhas, que não

possuíram classificação nem ao nível de filo (Figura 9.a). Todos os outros táxons fúngicos de maior abundância relativa nas amostras foram pertencentes aos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota*. O perfil composicional mostra-se semelhante entre as amostras provenientes do habitat edáfico, já entre as relacionadas com nichos acima do solo, as similaridades parecem estar associadas ao compartimento de colonização.

Na parcela fúngica, assim como ocorreu para as bactérias, a variância das composições não pode ser explicada pelo tratamento de forma isolada (PERMANOVA: p-valor > 0,05). Como visto no PCoA das distâncias de Bray-Curtis, o agrupamento das amostras também parece ocorrer de acordo com os nichos, confirmado pelo teste de variância ($R^2 = 0,688$; p-valor < 0,001). Mas de forma similar a contraparte bacteriana, as variações das composições fúngicas são ainda melhor explicadas pela soma dos fatores: nicho e tratamento (Figura 9.b; $R^2 = 0,807$, p < 0,001). O agrupamento hierárquico das amostras (Figura 9.c) segue o padrão observado no perfil composicional ao nível de ordem (Figura 9.a), onde o agrupamento é notado em três graus de distinção: (1) uma separação mais distante, relacionada com ser ou não relacionada ao solo, (2) o agrupamento de amostras em função do compartimento de colonização e (3) uma separação interna em razão do tratamento, em alguns casos, como nas amostras de folhas (epifíticas e endofíticas) e solo livre (Figura 9.c).

5.4. O microbioma essencial

O microbioma essencial refere-se aos fungos e bactérias presentes nas amostras (> 75%) da cana, excluindo-se solo, representando ao menos 1% da abundância relativa por amostra. Em relação as bactérias (Figura 10.a), foram considerados pertencentes ao microbioma essencial: 3 filios, 5 classes, 6 ordens, 4 famílias e 2 gêneros. Grande parte dos táxons essenciais, incluindo aqueles de níveis mais específicos como família (*Shingomonadaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Rhizobiaceae* e *Comamonadaceae*) e gênero (*Sphingomonas* e *Rhizobium*), são pertencentes ao filo *Proteobacteria*, que por sua vez, apresentou alta abundância ao longo das amostras (média: 66,1%).

O microbioma essencial dos fungos compreendeu: 2 filios, 4 classes, 4 ordens, uma família e um gênero (Figura 10.b). O filo essencial de menor prevalência e abundância, *Basidiomycota*, teve a classe *Agaricomycetes* como seu único elemento essencial da composição das amostras de cana-de-açúcar. Todos os outros táxons essenciais encontrados foram pertencentes ao filo *Ascomycota*. O gênero *Nigrospora*, único pertencente de sua família (*Trichosphaeriaceae*) e ordem (*Trichosphaeriales*), possuiu alta prevalência e abundancia nas amostras, portanto, levando o status de sua linhagem de táxon essenciais das plantas avaliadas.

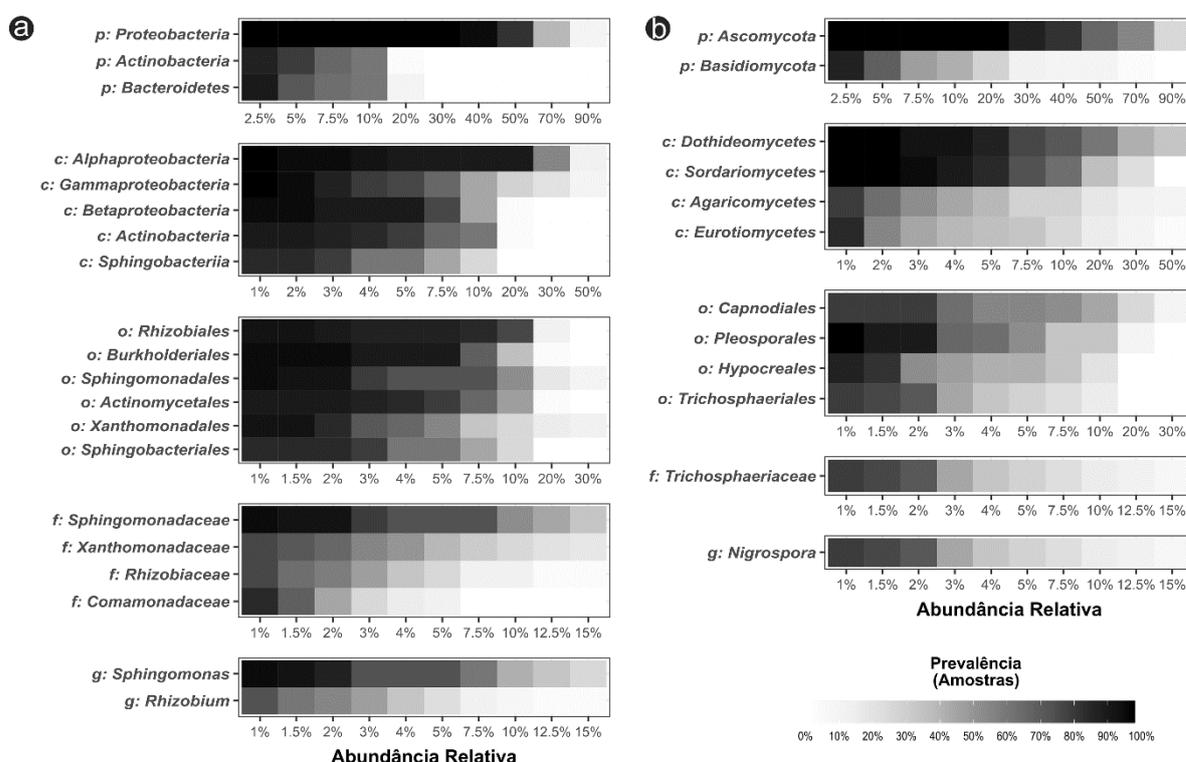


Figura 10. Microbioma essencial da cana-de-açúcar. Táxons bacterianos (a) e fúngicos (b) de alta prevalência (> 75%) nas amostras dos tecidos vegetais, independentemente do sistema de cultivo ou nicho. O nível taxonômico pode ser identificado pelos prefixos: "p" (*phylum*), "c" (*classe*), "o" (*ordem*), "f" (*família*), e "g" (*gênero*).

5.5. Diferenças composicionais

Para avaliar as diferenças composicionais entre as comunidades microbianas presentes nos nichos de cada sistema de cultivo, realizou-se a prospecção de táxons diferencialmente abundantes (DA) entre os tratamentos. No total, 389 e 401 táxons DA foram encontrados para bactérias e fungos, respectivamente. Todos os táxons DA, bem como a proporção de diferença entre estes nos nichos e suas contrapartes do sistema contratante, podem ser encontrados nos Apêndices A e B.

A fim de identificar quais táxons DA foram os maiores indicadores das diferenças entre os sistemas de cultivo, foi relacionada a abundância relativa com a ocorrência de abundância diferencial (Figuras 11 e 12). Para bactérias, os três filios mais abundantes nas amostras de cana-de-açúcar – *Proteobacteria*, *Actinobacteria* e *Acidobacteria* – apresentaram diferenças, contudo apenas no nicho endofítico de folhas (Figura 11). É notado, porém, que tal diferença pode ser adereçada ao gênero *Xanthomonas* (filio: *Proteobacteria*), uma vez que é notada uma presença massiva deste nas amostras dos nichos de folha, especialmente endofítico, do sistema de cultivo orgânico (Figura 11). No mais, além do gênero *Xanthomonas*, outros como *Kosakonia*, *Pseudomonas* e *Solirubrobacter*, foram identificados como DA para um mesmo tratamento, nas partes vegetais, independentemente da forma de colonização.

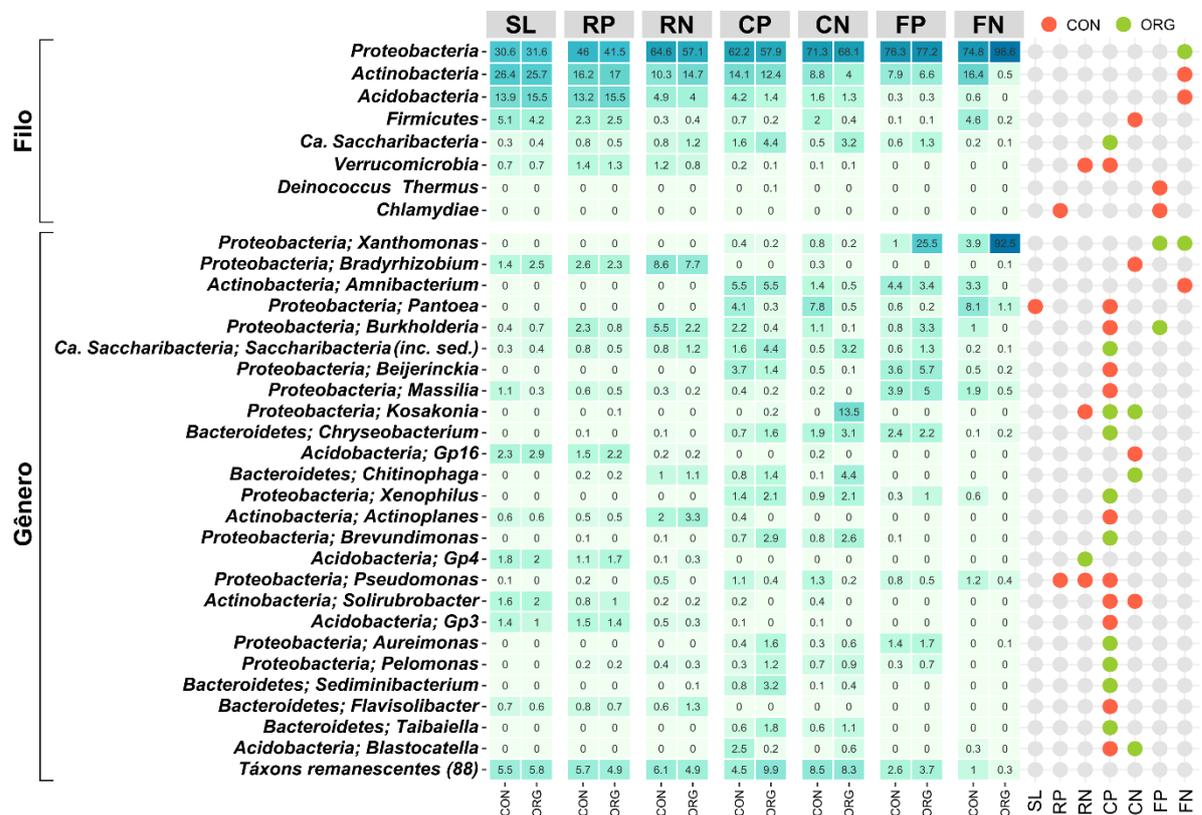


Figura 11. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes (DA). Ao nível de "Filo", todos os filios DA são demonstrados. Ao nível de "Gênero", apenas os 25 gêneros DA de maior prevalência são demonstrados, com os de menor abundância agrupados na categoria "Táxons remanescentes". Ambos níveis se apresentam ordenados pela soma das abundâncias relativas. O *heatmap* (esquerda) demonstra a abundância relativa dos táxons em cada nicho (SL - Solo livre; RP - Raiz: epifítico; RN - Raiz: endofítico; CP - Colmo: epi.; CN - Colmo: endo.; FP - Folhas: epi.; FN - Folhas: endo.) e o *dot plot* (direita) revela em quais nichos ocorreram diferença de abundâncias entre os sistemas de cultivo (CON - Convencional; ORG - Orgânico).

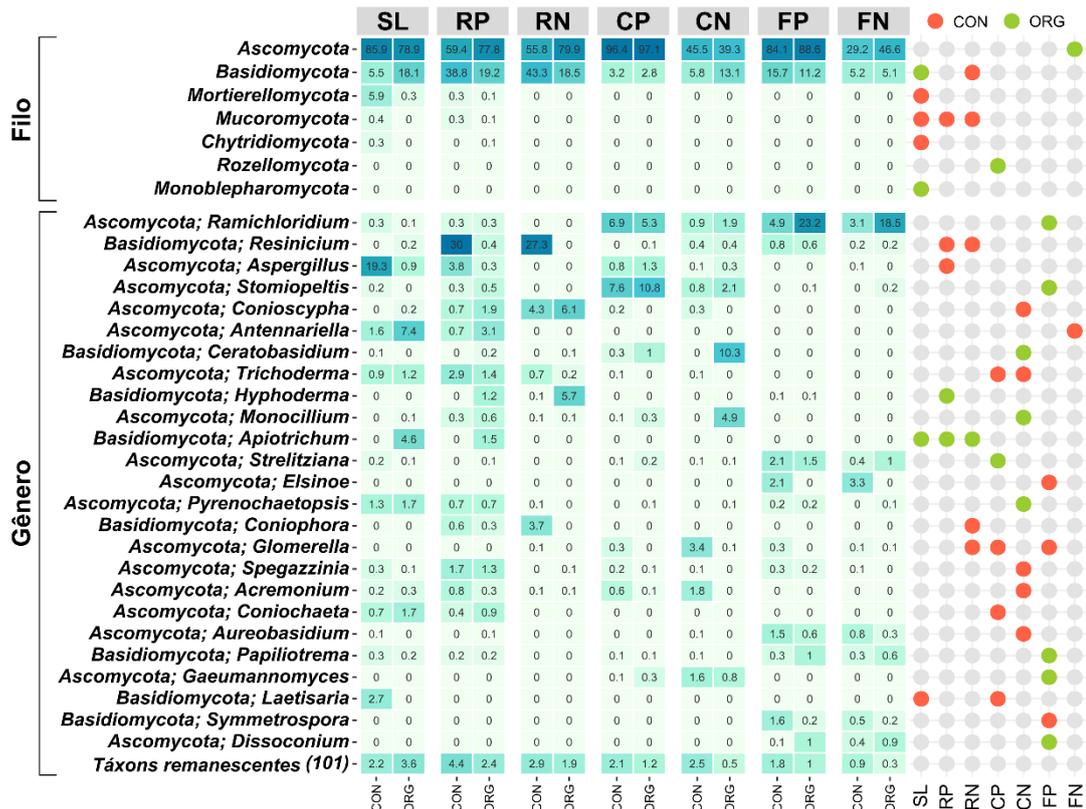


Figura 12. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes (DA). Ao nível de “Filo”, todos os filios DA são demonstrados. Ao nível de “Gênero”, apenas os 25 gêneros DA de maior prevalência são demonstrados, com os de menor abundância agrupados na categoria “Táxons remanescentes”. Ambos níveis se apresentam ordenados pela soma das abundâncias relativas. O *heatmap* (esquerda) demonstra a abundância relativa dos táxons em cada nicho (SL - Solo livre; RP - Raiz: epifítico; RN - Raiz: endofítico; CP - Colmo: epi.; CN - Colmo: endo.; FP - Folhas: epi.; FN - Folhas: endo.) e o *dot plot* (direita) revela em quais nichos ocorreram diferença de abundâncias entre os sistemas de cultivo (CON - Convencional; ORG - Orgânico).

Para fungos, as disparidades de abundância à nível taxonômico de filo, ocorreram em 7 dos 9 identificados (Figura 12). Dentre os menos abundantes, nota-se a presença incrementada dos filios *Mortierellomycota*, *Mucoromycota* e *Chytridiomycota* para nichos do solo do sistema de cultivo convencional, enquanto que os filios *Rozellomycota* e *Monoblepharomycota* foram DA para nichos orgânicos, ainda que a abundância desses sejam ínfimas (< 0,01%) nos seus respectivos nichos de maior expressividade. Em meio aos filios mais prevalentes, o filo *Ascomycota* apresentou-se DA para o nicho de folhas: endofítico, no sistema de cultivo orgânico. Tal diferença pode ser atribuída primariamente ao gênero *Ramichloridium* que, embora tenha sido considerado DA (p-valor ajustado < 0,1) apenas no compartimento epifítico, apresentou alta abundância relativa no nicho endofítico de folhas do sistema orgânico (média: 18,5%), quando comparado com o tratamento convencional (média: 3,1%). No filo *Basidiomycota*, há diferença de abundância para os dois sistemas em

nichos distintos, apresentando-se DA para solo livre do sistema orgânico e raiz (endofítico) das plantas tratadas convencionalmente. No que se refere a segunda diferença, nota-se a presença expressiva e DA do gênero *Resinicium* (filo: *Basidiomycota*) em amostras de raízes das plantas sob cultivo convencional, com respectivamente, 30% e 27,3% das abundâncias relativas dos compartimentos epifíticos e endofíticos (Figura 12).

5.6. Estruturação dos microbiomas

Para se obter um melhor entendimento da estruturação das comunidades microbianas, realizou-se uma análise de redes de cocorrência dos gêneros bacterianos (Figura 13) e fúngicos (Figura 14) identificados nas amostras.

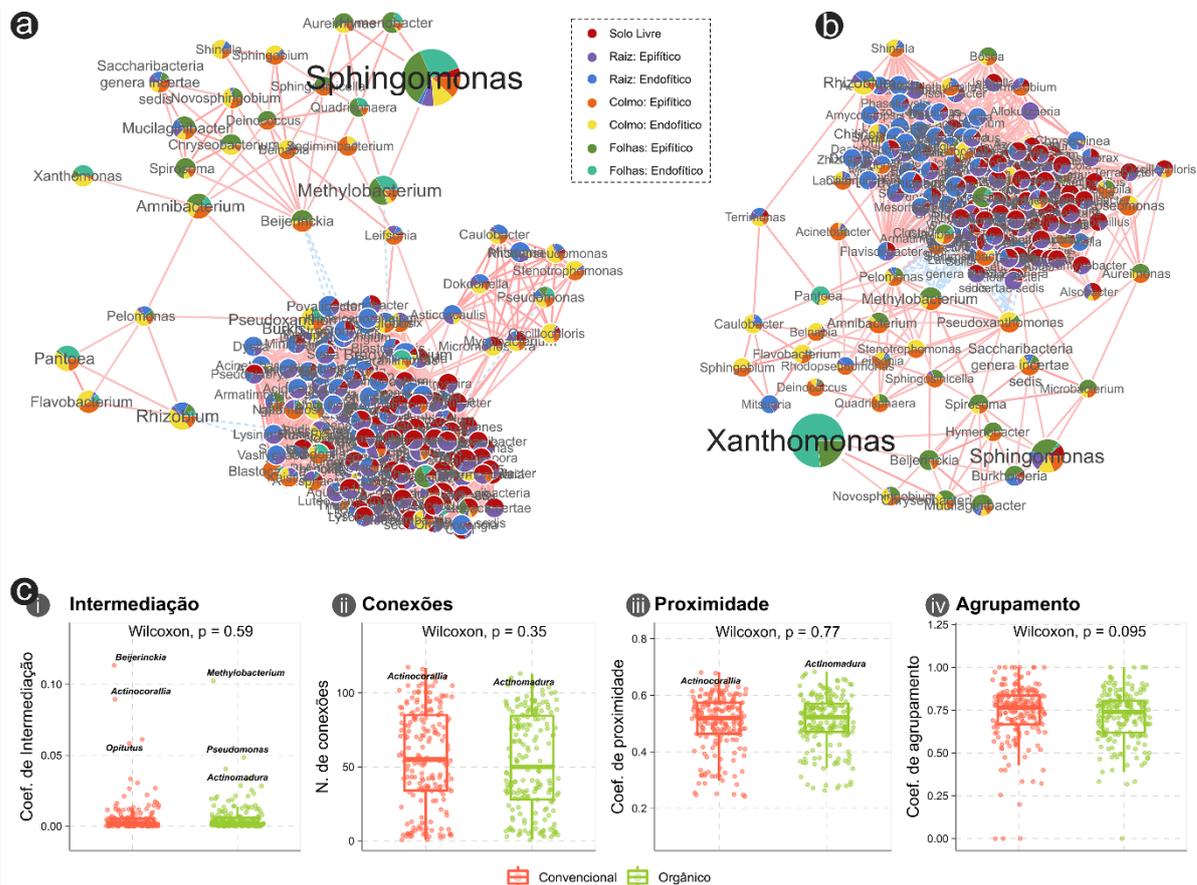


Figura 13. Redes de cocorrência dos gêneros bacterianos presentes nos sistemas de cultivo convencional (a) e orgânico (b). As redes foram construídas com base nos valores de correlação de Pearson, que são representados pelas conexões vermelhas (correlação positiva; $r \geq 0,05$) ou azuis (correlação negativa; $r \leq -0,05$). Os nós representam os gêneros, e seus tamanhos são proporcionais a soma das abundâncias relativas do gênero. A coloração interna dos nós indicam a abundância do gênero em cada nicho. As medidas de centralidade (c.i-iv) dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Wilcoxon. Gêneros considerados elementos centrais das redes, encontram-se destacados nos *boxplots*.

Dentre os 468 gêneros de bactérias identificados neste trabalho, 195 e 192 atenderam os limiares de correlação e foram considerados para a obtenção das redes convencional e orgânica, respectivamente. Em inspeção visual da rede de coocorrência do sistema de cultivo convencional (Figura 13.a), revela-se a presença de uma subrede central e altamente densa, composta, principalmente, de gêneros de alta abundância nos nichos relacionados ao solo. Há ainda, a presença de subredes menores e bem definidas nesse sistema de cultivo, composta de gêneros de maior presença em nichos presentes em colmo e folhas. A rede do sistema de cultivo orgânico (Figura 13.b) demonstra padrão semelhante a convencional, no que se refere a subrede central e maior composta por bactérias de maior prevalência nas amostras de raízes e solo. Contudo, as subredes periféricas são mais difusas e menos densas que sua contraparte convencional. A diferença na tendência à formação de agrupamentos, pode ser verificada por um coeficiente de agrupamento médio ligeiramente maior na rede do tratamento convencional (0,731) em comparação ao orgânico (0,714), considerando-se um p-valor de 0,1. No mais, nenhuma outra diferença foi detectada entre as propriedades de centralidade das redes. Ainda assim, é notável que gêneros de destaque entre as redes, por possuírem as maiores medidas de centralidade, foram distintos entre as redes opostas (Figura 13.c.i-iii). Os gêneros *Actinocorallia* e *Actinomadura*, ambos pertencentes à família *Thermomonosporaceae*, foram elementos centrais nas redes, respectivamente, convencional e orgânica, destacando-se por seus altos coeficientes de intermediação (Figura 13.c.i) e números de conexões com outros gêneros (Figura 13.c.ii). Ainda que ambos estejam presentes nos dois sistemas, e sem qualquer abundância diferencial significativa, estes parecem ter exercido papéis intercambiáveis de destaque, ao passo que na rede de tratamento oposto possuem um papel menor na estruturação das comunidades microbianas.

Na fração fúngica, grande parte dos 481 gêneros identificados possuíram correlação entre si, sendo 455 utilizados para a construção da rede convencional (Figura 14.a) e 441 para a orgânica (Figura 14.b). Ambas redes de coocorrência possuíram padrões bem definidos de agrupamento, em função das abundâncias dos gêneros nos nichos. Além disso, nota-se também uma maior proximidade dos nichos relacionados ao solo, nos dois tratamentos. A rede do sistema de cultivo convencional apresentou um coeficiente de agrupamento médio ligeiramente maior sua contraparte

convencional, de 0,772 contra 0,752, a um nível de confiança de 95% (Figura 14.c.iv). Neste mesmo contraste, nota-se uma maior proximidade entre os táxons pertencentes ao cultivo orgânico, o qual possui um coeficiente médio de proximidade de 0,39 contra 0,36 do convencional. Por fim, assim como nas redes bacterianas, os componentes-chave das redes fúngicas foram distintos entre os sistemas de cultivo (Figura 14.c.i-iii).

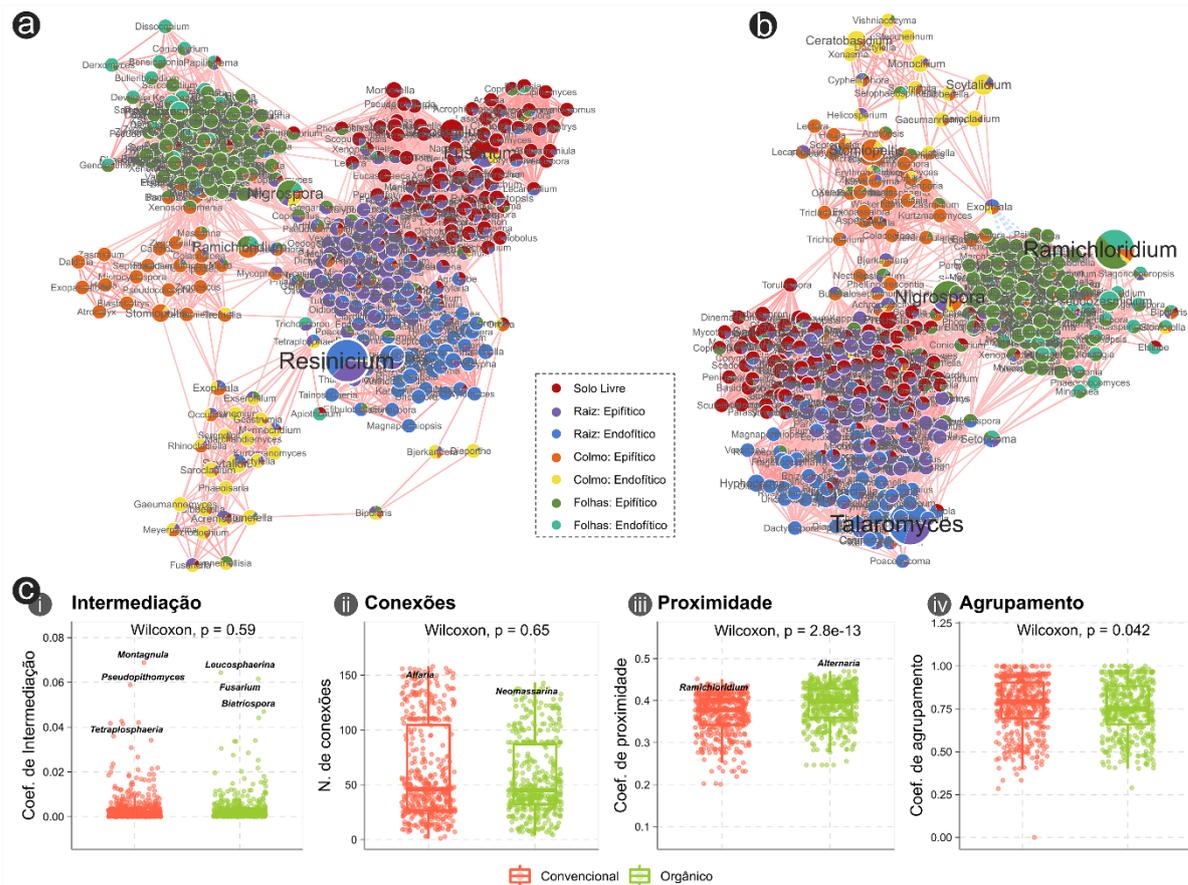
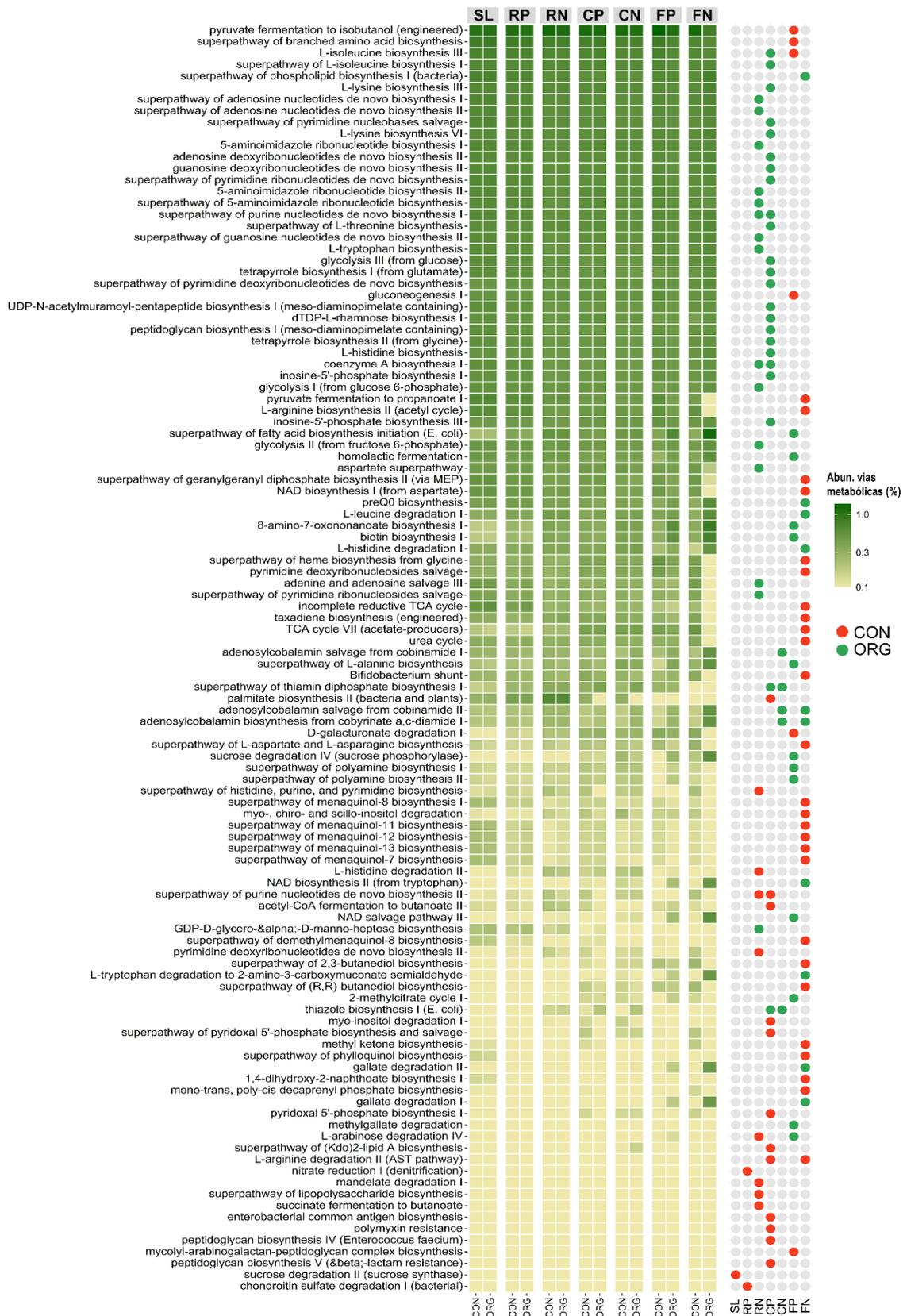


Figura 14. Redes de cocorrência dos gêneros fúngicos presentes nos sistemas de cultivo convencional (a) e orgânico (b). As redes foram construídas com base nos valores de correlação de Pearson, que são representados pelas conexões vermelhas (correlação positiva; $r \geq 0,05$) ou azuis (correlação negativa; $r \leq -0,05$). Os nós representam os gêneros, e seus tamanhos são proporcionais a soma das abundâncias relativas do gênero. A coloração interna dos nós indicam a abundância do gênero em cada nicho. As medidas de centralidade (c.i-iv) dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Wilcoxon. Gêneros considerados elementos centrais das redes, encontram-se destacados nos *boxplots*.

5.7. Diferenças das capacidades funcionais

Em adição as diferenças composicionais e estruturais, procurou-se explorar as diferenças expressas nas capacidades funcionais dos microrganismos associados com os sistemas de cultivo. Para isso, realizou-se uma predição funcional com base nas classificações taxonômicas das ASVs.



No total, foram identificadas 427 vias metabólicas relacionadas as ASVs bacterianas. Destas, 110 foram diferencialmente expressas entre os tratamentos ao longo dos nichos avaliados (Figura 15). Os nichos que possuíram as maiores concentrações de vias enriquecidas foram: Folhas (endofítico) e Colmo (epifítico), com 36 e 35 vias enriquecidas, respectivamente. Além disso, duas vias foram enriquecidas para sistemas oposto, porém em nichos distintos, sendo estas: “*L-isoleucine biosynthesis III*” (ID MetaCyc: PWY-5103) e “*L-arabinose degradation IV*” (PWY-7295).

Na porção fúngica da microbiota associada à cana-de-açúcar sob diferentes formas de cultivo, identificou-se 73 vias metabólicas, das quais 13 foram enriquecidas entre sistemas (Figura 16). É válido destacar que 10 das 13 vias, encontraram-se enriquecidas para o sistema de cultivo convencional.

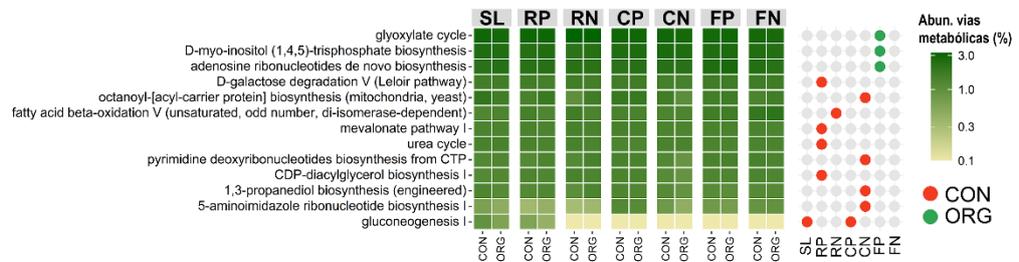


Figura 16. Vias metabólicas de fungos, diferencialmente abundantes entre os sistemas de cultivo. O *heatmap* representa as abundâncias relativas das vias em cada nicho.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar as modificações nas comunidades microbianas, causadas pelos sistemas de cultivo na cultura da cana-de-açúcar, cultivada sob condições similares de campo. Para isso, amostrou-se plantas de talhões adjacentes, mas que possuíam práticas contrastantes no que se refere à utilização de insumos de suplementação nutricional e de controle de estressores bióticos, como pragas e patógenos. Ainda que possuíam grande proximidade, com uma distância mínima de aprox. 230m, nota-se diferenças mínimas e pontuais nos parâmetros físico-químicos dos solos (Tabela 4). Parte das diferenças obtidas são relacionadas com a acidez do solo, uma característica crítica para a definição da composição microbiana deste habitat (Lauber et al., 2009; Zorraonaindia et al., 2015; Qi et al., 2018). Contudo, as diferenças aqui notadas não foram suficientes para causar alterações significativas mesmo em filos sensíveis à pH, tais como *Actinobacteria* (Jenkins et al., 2009) e *Acidobacteria* (Sait et al., 2006) (Figura 11), nos nichos relacionados ao solo. Mesmo à níveis mais específicos, subgrupos de *Acidobacteria* que possuem maior relação com o pH do solo (Bartram et al., 2014; de Chaves et al., 2019), tais como subgrupo 4 e 16 (*Acidobacteria Gp4* e *Acidobacteria Gp16*; Apêndice A), não tiveram qualquer alteração de abundância significativa entre os nichos relacionados ao solo. Além disso, é esperado que ambientes menos ácidos, como observado no sistema de cultivo orgânico (Tabela 4), possuíam maior diversidade geral de fungos e bactérias (Rousk et al., 2010); no entanto, o que se observa é o contrário, onde quando houve diferenças entre os sistemas de cultivo, os valores de riqueza e diversidade foram superiores no convencional (Tabela 6). Com isso, pode-se inferir que os parâmetros físico-químicos que apresentaram diferenças entre os sistemas, não se refletem na composição e diversidade observada, ao menos de forma isolada.

A avaliação independente dos compartimentos epifíticos e endofíticos dos tecidos vegetais, nos permitiu avaliar, de forma aprofundada, as alterações provocadas pelos sistemas de cultivo. Os testes *post-hoc* da distribuição das riquezas e diversidades dentro de cada sistema de cultivo e grupo microbiano (Tabela 6), mostrou que as maiores diversidades, quando houve diferenças, localizavam-se na

face externa do tecido, ou seja, no compartimento epifítico. Nesse sentido, os resultados são consistentes aos obtidos por de Souza et al. (2016); ao passo que estes autores, em esforço extensivo para descrever o microbioma associado à cana, observam uma menor riqueza de espécies em amostras endofíticas, quando comparadas com suas contrapartes epifíticas. É válido mencionar, que tais autores relatam, de forma similar ao observado no presente trabalho (Figura 3), a presença massiva de DNA plastídial e mitocondrial nos tecidos endofíticos, mesmo com a utilização de PNA-*clamp*.

De forma geral, os nichos relacionados com o solo demonstraram grande diversidade bacteriana dentre os avaliados, especialmente naquele onde ocorre a interface do solo livre com a planta, aqui representado pelo nicho epifítico de raiz (Tabela 6). Esse ambiente, conhecido como rizosférico, é considerado extremamente favorável à presença de diversidade microbiana (Kuzyakov and Razavi, 2019), uma vez que, localiza-se ali uma ampla gama de nutrientes e condições propiciadas pelas raízes das plantas e seus exsudatos (Lynch e de Leij, 2012). Apesar disso, nota-se que as diferenças das alfas diversidades entre os tratamentos se deram apenas na riqueza do compartimento interno das raízes, bem como no nicho epifítico do colmo (Tabela 6). Enquanto que a colonização epifítica pode ser resultado de uma cadeia de eventos estocásticos, os quais pode ou não envolver mecanismos da planta hospedeira (Schlechter et al., 2019), sabe-se que a colonização endofítica é substancialmente mais complexa (Bacon e White, 2016), já que depende da permeabilidade da planta a qual pode ser alterada por uma série de fatores estressores bióticos ou abióticos (Venturi e Keel 2016; Pieterse et al., 2016). Assim nos permitindo supor que o tratamento e suas particularidades, possa ser considerado um fator modulador da colonização interna das raízes, tendo em vista a grande variação de riqueza entre os sistemas (Tabela 6; Figura 6.a).

As comunidades fúngicas, por sua vez, denotam uma maior alfa diversidade relacionada com nichos de colonização epifítica, mas não dependente da proximidade do tecido com o solo (Tabela 6). Interessantemente, a única diferença entre os sistemas de cultivo, no que se refere a riqueza de espécies, se deu pelo nicho epifítico de raiz, cuja média de ASVs observadas foi incrementada para o sistema de cultivo convencional – apesar da aplicação de fungicidas neste tratamento (Tabela 2). Algo

parecido é observado por Gdanetz e Trail (2017), que reportaram que comunidades fúngicas presentes em plantas de trigo tratadas com fungicidas, não apresentam qualquer alteração ou impacto em sua incidência.

Os padrões vistos para ambos grupos microbianos avaliados neste estudo, estão em linha com o observado na literatura, onde a diversidade bacteriana tende a ser maior no ambiente edáfico, ao passo que a diversidade de fungos é mais distribuída entre os tecidos vegetais (Coleman-Derr et al., 2016; de Souza et al., 2016; Gdanetz e Trail, 2017). No entanto, os valores superiores de alfa diversidades no sistema de cultivo convencional diferem de estudos com propostas semelhantes voltados a outras culturas. Wassermann et al. (2019), encontraram uma maior diversidade bacteriana em tecidos de maçãs orgânicas, quando comparadas contra às cultivadas convencionalmente. O mesmo é notado para tomates cultivados sob práticas agrícolas contrastantes, onde diversidade de ambos, fungos e bactérias, foi maior em rizosfera de solos orgânicos (Schmidt et al., 2019). Hartmann et al. (2015), atribuem maiores riquezas de espécies à solos de plantações que utilizam menores quantidades de fertilizantes, mas reconhecem que há também uma menor diversidade nessas comunidades, similar ao que foi visto neste estudo, já que quando houve diferenças nos índices de diversidade (Shannon e Gini-Simpson), os menores valores se deram para o sistema de cultivo orgânico (Tabela 6). É válido ressaltar que intervenções inerentes do sistema de cultivo orgânico são mais frequentes nas culturas citadas, quando comparadas a cana-de-açúcar, onde as aplicações foram feitas apenas no momento de plantio. Além disso, o longo prazo após as aplicações (11 meses) podem ter sido suficientes para a recuperação das comunidades microbianas, uma vez que a comparação dos índices sugere um padrão de pós-distúrbio, onde comunidades em processo de sucessão ecológica podem apresentar um incremento momentâneo de riqueza de espécies, até o momento de estabilização dos microbiomas (Shade et al. 2012; Willig e Presley, 2018).

Outra grande diferença notada das sequências de 16S rRNA, é em relação a diferença dos índices de Shannon e Gini-Simpson no nicho endofítico de folhas (Tabela 6), o qual evidencia baixa diversidade para o sistema de cultivo orgânico, denotando possível dominância de espécies. Avaliando as informações composicionais das amostras (Figura 8.a), nota-se que esta dominância se dá pela

ordem *Xanthomonadales*. Esse táxon foi de alta predominância nas amostras epifíticas e, especialmente, endofíticas de folhas no sistema de cultivo orgânico, compondo, em média, 26,51% e 92,56% das abundâncias encontradas nesses nichos, respectivamente, explicando, assim, a baixa diversidade encontrada nesse segundo. Acompanhando as classificações taxonômicas abaixo desta ordem, temos 392 ASVs, sendo 25 destas atribuídas ao gênero *Xanthomonas*, o qual sozinho é responsável por 92,5% da composição bacteriana encontrada em amostras epifíticas de folha orgânica, ao passo que, no sistema convencional, esse gênero é detentor de apenas 3,1% da abundância relativa (Figura 11). No momento de obtenção das amostras, foram selecionadas apenas plantas visualmente saudáveis; contudo, é conhecido que espécies de *Xanthomonas*, tais como *X. albilineans* e *X. campestris* pv. *vasculorum* são patógenos importantes da cultura da cana-de-açúcar (Ricaud e Ryan, 1989; Destéfano et al., 2003), no Brasil e em outros países produtores (Rott e Davis, 2000; Tardiani et al., 2014). Também é estabelecido, que estes microrganismos possuem um refinado sistema de infecção (Pieretti et al., 2015) e pode possuir longo período de latência, ou mesmo ocorrer de forma assintomática (Ricaud e Ryan, 1989; Urashima e Zavaglia, 2012). Além disso, é notada a abundância diferencialmente incrementada do gênero bacteriano *Pantoea* nos nichos do cultivo convencional (Figura 11), reportado por possuir antagonizar a ação patogênica da *X. albilineans* (Zhang e Birch, 1997; Vieweg et al., 2015), e ainda, que não tenha sido DA especificamente no nicho endofítico de folhas, nota-se uma abundância de 8,1% contra 1,1% do cultivo orgânico, permitindo-nos sugerir se houve algum papel na proteção das plantas do cultivo convencional.

Táxons diferencialmente abundantes podem ser indicativos das mudanças causadas pelos tratamentos (Schmidt et al., 2019). Além dos gêneros *Xanthomonas* e *Pantoea*, foram encontrados outros com alta abundância relativa e diferenças de proporção entre os tratamentos (Figuras 11 e 12). O gênero bacteriano *Kosakonia*, cujo certas espécies endofíticas podem promover o crescimento da cana-de-açúcar através de fixação biológica de nitrogênio (Taulé et al., 2019; Carolina et al., 2018), encontrou-se em alta abundância nas amostras endofíticas de colmo da planta orgânica (Figura 11). Os gêneros *Chryseobacterium* e *Chitinophaga*, também reportados por conterem traços de promoção de crescimento (Domenech et al., 2006;

Gandhi Pragash et al., 2009; Montero-Calasanz et al., 2013; Armanhi et al., 2018), são encontrados em maior abundância nas amostras de colmo epifítico e colmo endofítico, respectivamente, das plantas tratadas organicamente (Figura 11). Curiosamente, dentre os microrganismos aplicados como inoculantes no sistema de cultivo orgânico (Tabela 2), apenas o gênero *Azospirillum* resultou em abundância diferencial para este tratamento (Apêndice A). Assim, faz-se notável as observações de Berg et al. (2020), a respeito da total ausência de alteração nas composições microbianas dos solos e raízes de cana-de-açúcar inoculadas com produtos bioestimulantes.

Fungos do filo *Ascomycota*, os quais foram incrementados para o sistema de cultivo orgânico (Figura 12), vão em concordância com o observado para maçãs cultivadas sob o mesmo sistema (Abdelfattah et al., 2016). Além disso, os mesmos autores encontraram uma abundância acrescida de fungos do filo *Basidiomycota* em frutas obtidas de plantas cultivadas convencionalmente, também verificado nas nossas amostras do nicho endofítico de raiz (Figura 12). O gênero *Resinisium*, que contém espécies capazes de exercer controle biológico de patógenos (Holmer e Stenlid, 1997; Woods et al., 2005), foi o maior representante do filo *Basidiomycota* e, assim como este filo, possuiu grande abundância nas amostras de raízes do sistema de cultivo convencional. Curiosamente, de forma contrastante ao observado anteriormente, Paungfoo-Lonhienne et al. (2015) encontraram uma resposta negativa deste gênero à fertilização nitrogenada.

Grande parte das ASVs foram encontradas em ambos os tratamentos (Figura 5). Nesse sentido, buscou-se identificar quais seriam os microrganismos essenciais, ou seja, aqueles de alta prevalência, independentemente do sistema de cultivo ou nicho (Figura 10). Das famílias bacterianas encontradas, temos *Shingomonadaceae* e *Rhizobiaceae* em consonância com o obtido por de Souza et al., (2016), os quais evidenciaram a presença dessas famílias nas amostras de cana-de-açúcar, sem predisposição a nichos específicos. Com isso, acrescentamos que não foi possível observar diferenças relevantes quanto ao sistema de cultivo. A família *Comamonadaceae* possui membros considerados como colonizadores eficientes da cultura da cana-de-açúcar (Armanhi et al., 2018), já a família *Xanthomonadaceae*, ainda que em menor abundância no sistema convencional, também foi encontrada como táxon essencial, podendo ser resultante da condição de cultivo em campo, onde

as linhagens patogênicas possuem alta capacidade de dispersão (Lin et al., 2018). Para fungos, a família *Trichosphaeriaceae* e seu único gênero detectado, *Nigrospora*, foram comuns à vasta maioria das amostras, considerando-os elementos centrais nas condições do estudo. Esse gênero é tido como um fungo epifítico ubíquo de plantas (Wang et al., 2017), com presença amplamente reportada na cultura da cana-de-açúcar (Reddi et al., 1978; Raza et al., 2019).

A avaliação dos fatores condutores das composições fúngicas e bacterianas, através do PCoA das distâncias de Bray-Curtis, revelaram que, em um primeiro momento, o sistema de cultivo não possui um papel significativo na explicação da variância das comunidades (PERMANOVA: p-valor > 0,1). Assim como visto por de Souza et al., (2016), o principal fator explanatório das composições foram os nichos (Figura 8.b – bactérias; Figura 9.b – fungos). Contudo, a porcentagem da variância explicada pela combinação dos fatores “nichos” e “sistema de cultivo” é ainda maior. Esse resultado implica que, conforme visto nos dendrograma de agrupamento hierárquico das amostras (Figura 8.c – bactérias; Figura 9.c – fungos), determinados nichos possuem uma separação completa das amostras em função do tratamento recebido pelas plantas de cana-de-açúcar. Tal característica também foi observada por Wassermann et al. (2019), ao notar que o isolamento dos tecidos de frutos e sementes, em maçãs, havia o agrupamento completo das amostras provenientes dos tratamentos distintos.

Outra alteração associada à estruturação das comunidades que poderia estar relacionada ao sistema de cultivo, ocorreu nas redes de coocorrência (Figuras 13 e 14). Ambas frações microbianas denotaram tendência a modularidade no sistema de cultivo convencional (Figura 13.a – bactérias; Figura 14.a – fungos), inferido a partir de maiores médias dos coeficientes de agrupamentos destas (Wilcoxon: p-valor < 0,1), quando comparadas as suas contrapartes orgânicas (Figura 13.c.iv – bactérias; Figura 14.c.iv – fungos). Na rede de fungos, essa característica foi ainda mais evidente, já que os módulos ainda tenderam a se manter mais distantes entre si (Figura 14.c.iii). Embora as implicações dos arranjos estruturais das redes nas capacidades funcionais dos microbiomas ainda sejam pouco estabelecidas, van der Heijden e Hartmann (2016) sugerem que os efeitos percebidos pelos hospedeiros, podem variar de acordo com suas propriedades. Assim como visto nos conjuntos de

dados do presente estudo, esses autores também identificaram redes contendo diferentes táxons-chave em cultivos sob manejo convencional e orgânico, e relacionam ainda a presença de módulos à possíveis interações biológicas do microbioma. Nesse sentido, a característica de possuir formação de módulos dentro da rede pode ser reflexo de processos biológicos, tais como filtragem por nichos e heterogeneidade ambiental, ou ainda indicativo de complementariedade de vias de degradação por parte dos elementos que às compõe (Ma et al., 2020). Agler et al. (2016), estabelecem ainda a importância desproporcional de certos táxons centrais para as redes e sua conformação, sendo que mudanças nesses elementos pivotais seriam capazes de, não somente, alterar as propriedades de centralidade das redes, mas também impactar em medidas de diversidade, ao induzir ou reprimir a riqueza e abundância de espécies microbianas.

Por fim, as mudanças nas capacidades funcionais dos microbiomas associados com as plantas tratadas de forma convencional ou orgânica foram acessadas através de uma análise de enriquecimento de vias metabólicas. Grande parte das vias encontradas enriquecidas para um sistema de cultivo ou outro, se referiram a processos biológicos e estruturais sem qualquer relação óbvia com as implicações do manejo; contudo, algumas alterações poderiam estar relacionadas com seleção ambiental nesse sentido. Dentre essas, as diferenças mais notáveis, são identificadas como enriquecidas para o sistema de cultivo convencional, onde verifica-se o enriquecimento das vias de desnitrificação ("*nitrate reduction I (denitrification)*"; Figura 15) e ciclagem de ureia ("*urea cycle*"; Figuras 15 e 16), sendo esta última enriquecida, no sistema convencional, para ambas frações microbianas avaliadas. Yeoh et al. (2016), ao acessarem o impacto da fertilização nitrogenada no microbioma de solos e raízes de cana-de-açúcar, reportaram resultados semelhantes aos vistos aqui, através da constatação do número elevado de genes relacionados a diferentes processos da ciclagem do nitrogênio quando na presença desses insumos. Ainda nesse sistema, nota-se o enriquecimento de vias associadas com resistência à antibióticos ("*peptidoglycan biosynthesis V (beta-lactam resistance)*" e "*polymyxin resistance*"; Figura 15); assim, reforçando a suposição de que a pressão exercida pela aplicação de pesticidas poderia aumentar as taxas de desenvolvimento de tais resistências (Ramakrishnan et al., 2019).

O tratamento orgânico, por sua vez, demonstrou potencial para a prospecção de bactérias de interesse biotecnológico, sendo que vias relacionadas com degradação de lignina (“*gallate degradation I*”, “*gallate degradation II*” e “*methylgallate degradation*”; Figura 15), precursores de antibióticos (“*preQ0 biosynthesis*”; Figura 15) e fitormônios (“*superpathway of geranylgeranyl diphosphate biosynthesis II (via MEP)*”, Figura 15), foram identificadas como enriquecidas nesse sistema de cultivo.

7. CONCLUSÕES

Através das análises propostas por esse estudo, fomos capazes de identificar uma série de alterações nos microbiomas associados a plantas de cana-de-açúcar tratadas de forma convencional e orgânica.

Os resultados atestam que as diferenças ocorreram em vários graus das propriedades dos microbiomas presentes nos nichos, que vão desde medidas de diversidade à composição taxonômica, além de alterações estruturais e funcionais.

Quando se olha para as comunidades fúngicas e bacterianas, todos os nichos avaliados, com exceção dos nichos de “Solo livre” e “Colmo: Endofítico”, possuíram alguma diferença nas medidas de alfa diversidade entre os tratamentos, ao se considerar os índices de riqueza e diversidade.

Quanto a composição das comunidades microbianas associadas à cana-de-açúcar, temos que a obtenção em função dos nichos foi essencial, uma vez que esse fator foi considerado o principal fator de definição das comunidades observadas. Apesar disso, temos que o sistema de cultivo age de forma impactante, porém secundária, onde ocasionou uma separação interna mais sutil das amostras dos nichos contrastados.

O enriquecimento de vias metabólicas associadas com capacidade de resistência a antibióticos visto no microbioma do sistema de cultivo convencional, pode ser um motivo de atenção, no que se refere a seleção desse traço diante da utilização de pesticidas.

Por fim, mediante as alterações notadas nas microbiotas das plantas sob os diferentes sistemas de cultivo, nos é permitido inferir que as práticas inerentes do sistema de cultivo convencional atuam como um modo de distúrbio leve nos microhabitats, ocasionando uma heterogeneidade de condições ambientais e, portanto, incrementando assim a riqueza e diversidade de espécies presente, em detrimento de comunidades mais estáveis e coesas, como as vistas no sistema de cultivo orgânico.

8. REFERÊNCIAS

- Abarenkov K, Henrik Nilsson R, Larsson K-H, Alexander IJ, Eberhardt U, Erland S, Høiland K, Kjølner R, Larsson E, Pennanen T, others (2010) The UNITE database for molecular identification of fungi—recent updates and future perspectives. **New Phytologist** 186: 281–285.
- Abdelfattah A, Wisniewski M, Droby S, Schena L (2016) Spatial and compositional variation in the fungal communities of organic and conventionally grown apple fruit at the consumer point-of-purchase. **Horticulture Research** 3: 16047. <https://doi.org/10.1038/hortres.2016.47>
- Agler MT, Ruhe J, Kroll S, Morhenn C, Kim S-T, Weigel D, Kemen EM (2016) Microbial Hub Taxa Link Host and Abiotic Factors to Plant Microbiome Variation. Waldor MK (Ed.). **PLOS Biology** 14: e1002352. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002352>
- Alberdi A (2019) hilldiv: an R package for the integral analysis of diversity based on Hill numbers. **bioRxiv**. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/545665v1>.
- Aloo BN, Makumba BA, Mbega ER (2019) The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. **Microbiological Research** 219: 26–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>
- Andrade GM de, Sartoretto LM, Brasileiro ACM (2003) Biologia molecular do processo de infecção por *Agrobacterium* spp. **Fitopatologia Brasileira** 28: 465–476. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000500001>
- Andreote FD, Azevedo JL, Araújo WL (2009) Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants. **Brazilian Journal of Microbiology** 40: 417–432. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000300001>
- Arkhipova TN, Veselov SU, Melentiev AI, Martynenko EV, Kudoyarova GR (2005) Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil** 272: 201–209. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-5047-x>
- Armanhi JSL, de Souza RSC, Damasceno N de B, de Araújo LM, Imperial J, Arruda P (2018) A Community-Based Culture Collection for Targeting Novel Plant Growth-Promoting Bacteria from the Sugarcane Microbiome. **Frontiers in Plant Science** 8: 2191. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02191>
- Armougom F (2009) Exploring Microbial Diversity Using 16S rRNA High-Throughput Methods. **Journal of Computer Science & Systems Biology** 02. <https://doi.org/10.4172/jcsb.1000019>
- Arshad M, Frankenberger WT (1997) Plant Growth-Regulating Substances in the Rhizosphere: Microbial Production and Functions. In: *Advances in Agronomy*. Elsevier, 45–151. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60567-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60567-2)
- Aude MI da S (1993) Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade. **Ciência rural** 23: 241–248.

Bacon CW, White JF (2016) Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. **Symbiosis** 68: 87–98. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>

Bartram AK, Jiang X, Lynch MDJ, Masella AP, Nicol GW, Dushoff J, Neufeld JD (2014) Exploring links between pH and bacterial community composition in soils from the Craibstone Experimental Farm. **FEMS Microbiology Ecology** 87: 403–415. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12231>

Bastian M, Heymann S, Jacomy M (2009) Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks. In: Proceedings of the International AAAI Conference on Web and Social Media.

Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science** 17: 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>

Berg S, Dennis PG, Paungfoo-Lonhienne C, Anderson J, Robinson N, Brackin R, Royle A, DiBella L, Schmidt S (2020) Effects of commercial microbial biostimulants on soil and root microbial communities and sugarcane yield. **Biology and Fertility of Soils** 56: 565–580. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01412-4>

Blakney AJC, Patten CL (2011) A plant growth-promoting pseudomonad is closely related to the *Pseudomonas syringae* complex of plant pathogens: A PGPR is closely related to *P. syringae* pathovars. **FEMS Microbiology Ecology** 77: 546–557. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01136.x>

Boddey RM, Urquiaga S, Alves BJR, Reis V (2003) Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil** 252: 139–149. <https://doi.org/10.1023/A:1024152126541>

Boote K, Jones J, Mishoe J, Berger R (1983) Coupling pests to crop growth simulators to predict yield reductions [Mathematical models]. **Phytopathology (USA)**.

Brandt J, Albertsen M (2018) Investigation of Detection Limits and the Influence of DNA Extraction and Primer Choice on the Observed Microbial Communities in Drinking Water Samples Using 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing. **Frontiers in Microbiology** 9: 2140. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02140>

Brasil (2003) Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003: Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p. 8.

Brasil (2007) Decreto-lei nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p. 2.

Brasil (2011) Instrução normativa nº 46, de 06 de outubro de 2011. Lei nº 10831, de 23 de dezembro de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF. Seção 1, p. 8.a

- Brodie E, Edwards S, Clipson N (2002) Bacterial Community Dynamics across a Floristic Gradient in a Temperate Upland Grassland Ecosystem. **Microbial Ecology** 44: 260–270. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-2012-1>
- Bruto M, Prigent-Combaret C, Muller D, Moënne-Loccoz Y (2015) Analysis of genes contributing to plant-beneficial functions in plant growth-promoting rhizobacteria and related Proteobacteria. **Scientific Reports** 4: 6261. <https://doi.org/10.1038/srep06261>
- Bukin YS, Galachyants YP, Morozov IV, Bukin SV, Zakharenko AS, Zemskaya TI (2019) The effect of 16S rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. **Scientific Data** 6: 190007. <https://doi.org/10.1038/sdata.2019.7>
- Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, van Themaat EVL, Schulze-Lefert P (2013) Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. **Annual Review of Plant Biology** 64: 807–838. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods** 13: 581.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP (2017) Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. **The ISME journal** 11: 2639–2643.
- Callahan BJ, Wong J, Heiner C, Oh S, Theriot CM, Gulati AS, McGill SK, Dougherty MK (2019) High-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene with single-nucleotide resolution. **Nucleic Acids Research** 47: e103–e103. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz569>
- Camargo JMO, Gallego-Ríos JM, Neto AMP, Antonio GC, Modesto M, Leite JTC (2020) Characterization of sugarcane straw and bagasse from dry cleaning system of sugarcane for cogeneration system. **Renewable Energy** 158: 500–508. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.107>
- Carolina KK, Felipe I de SF, Eny ISF, Marcos PMA, Heloiza RB (2018) Sugarcane growth promotion by *Kosakonia* sp. ICB117 an endophytic and diazotrophic bacterium. **African Journal of Microbiology Research** 12: 105–114. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8738>
- Carson JK, Gonzalez-Quiñones V, Murphy DV, Hinz C, Shaw JA, Gleeson DB (2010) Low Pore Connectivity Increases Bacterial Diversity in Soil. **Applied and Environmental Microbiology** 76: 3936–3942. <https://doi.org/10.1128/AEM.03085-09>
- Caspi R (2006) MetaCyc: a multiorganism database of metabolic pathways and enzymes. **Nucleic Acids Research** 34: D511–D516. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj128>
- Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D (2007) A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. **Journal of Microbiological Methods** 69: 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005>

- Chen T, Nan Z (2015) Effects of phytopathogens on plant community dynamics: A review. **Acta Ecologica Sinica** 35: 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2015.09.003>
- Coelho ST, Goldemberg J (2019) Sustainability and Environmental Impacts of Sugarcane Biofuels. In: Khan MT, Khan IA (Eds), Sugarcane Biofuels. Springer International Publishing, Cham, 409–444. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18597-8_18
- Cole JR, Wang Q, Fish JA, Chai B, McGarrell DM, Sun Y, Brown CT, Porras-Alfaro A, Kuske CR, Tiedje JM (2014) Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. **Nucleic Acids Research** 42: D633–D642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>
- Coleman-Derr D, Desgarennes D, Fonseca-Garcia C, Gross S, Clingenpeel S, Woyke T, North G, Visel A, Partida-Martinez LP, Tringe SG (2016) Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. **New Phytologist** 209: 798–811. <https://doi.org/10.1111/nph.13697>
- Compant S, Clément C, Sessitsch A (2010) Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry** 42: 669–678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Conab (2020) 7 Acomp. safra bras. cana, v. 7 - Safra 2019/20, n. 3 - Terceiro levantamento. Conab Brasília, 62 pp.
- Cortez LAB (2018) Proálcool 40 anos: Universidades e empresas: 40 anos de ciência e tecnologia para o etanol brasileiro. Editora Blucher.
- Costa PB da, Granada CE, Ambrosini A, Moreira F, de Souza R, dos Passos JFM, Arruda L, Passaglia LMP (2014) A Model to Explain Plant Growth Promotion Traits: A Multivariate Analysis of 2,211 Bacterial Isolates. Daffonchio D (Ed.). **PLoS ONE** 9: e116020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116020>
- Creer S, Deiner K, Frey S, Porazinska D, Taberlet P, Thomas WK, Potter C, Bik HM (2016) The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. Freckleton R (Ed.). **Methods in Ecology and Evolution** 7: 1008–1018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12574>
- Crowder DW, Reganold JP (2015) Financial competitiveness of organic agriculture on a global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 112: 7611–7616. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423674112>
- Daniel R (2004) The soil metagenome – a rich resource for the discovery of novel natural products. **Current Opinion in Biotechnology** 15: 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2004.04.005>
- Daniels J, Daniels C (1993) Sugarcane in prehistory. **Archaeology in Oceania** 28: 1–7.

David BV, Chandrasehar G, Selvam PN (2018) *Pseudomonas fluorescens*: a plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with potential role in biocontrol of pests of crops. In: Crop improvement through microbial biotechnology. Elsevier, 221–243.

de Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA, others (2001) Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.

de Chaves MG, Silva GGZ, Rossetto R, Edwards RA, Tsai SM, Navarrete AA (2019) Acidobacteria Subgroups and Their Metabolic Potential for Carbon Degradation in Sugarcane Soil Amended With Vinasse and Nitrogen Fertilizers. **Frontiers in Microbiology** 10: 1680. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01680>

de Souza RSC, Okura VK, Armanhi JSL, Jorrín B, Lozano N, da Silva MJ, González-Guerrero M, de Araújo LM, Verza NC, Bagheri HC, Imperial J, Arruda P (2016) Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. **Scientific Reports** 6: 28774. <https://doi.org/10.1038/srep28774>

de Vries FT, Manning P, Tallwin JRB, Mortimer SR, Pilgrim ES, Harrison KA, Hobbs PJ, Quirk H, Shipley B, Cornelissen JHC, Kattge J, Bardgett RD (2012) Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. Johnson N (Ed.). **Ecology Letters** 15: 1230–1239. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01844.x>

Destéfano SAL, Almeida IMG, Rodrigues Neto J, Ferreira M, Balani DM (2003) Differentiation of *Xanthomonas* species Pathogenic to Sugarcane by PCR-RFLP Analysis. **European Journal of Plant Pathology** 109: 283–288. <https://doi.org/10.1023/A:1022894907176>

Dhariwal A, Chong J, Habib S, King IL, Agellon LB, Xia J (2017) MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. **Nucleic Acids Research** 45: W180–W188. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>

Didion JP, Martin M, Collins FS (2017) Atropos: specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. **PeerJ** 5: e3720. <https://doi.org/10.7717/peerj.3720>

Domenech J, Reddy MS, Kloepper JW, Ramos B, Gutierrez-Mañero J (2006) Combined Application of the Biological Product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for Growth Promotion and Biological Control of Soil-Borne Diseases in Pepper and Tomato. **Biocontrol** 51: 245–258. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-2940-z>

Donagema GK, de Campos DB, Calderano SB, Teixeira WG, Viana JM (2011) Manual de métodos de análise de solo. **Embrapa Solos-Documentos (INFOTECA-E)**.

Douglas GM, Maffei VJ, Zaneveld JR, Yurgel SN, Brown JR, Taylor CM, Huttenhower C, Langille MGI (2020) PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. **Nature Biotechnology** 38: 685–688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>

Eddleston M, Karalliedde L, Buckley N, Fernando R, Hutchinson G, Isbister G, Konradsen F, Murray D, Piola JC, Senanayake N, Sheriff R, Singh S, Siwach S, Smit L (2002) Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list. **The Lancet** 360: 1163–1167. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11204-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11204-9)

- Edgar R (2010) Usearch. Lawrence Berkeley National Lab.(LBNL), Berkeley, CA (United States)
- Europea C (2007) Reglamento (CE) n° 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n° 2092/91. **Diario Oficial de la Unión Europea** 20: 1–23.
- Edwards JA, Edwards RA (2019) Fastq-pair: efficient synchronization of paired-end fastq files. *Bioinformatics*. preprint <https://doi.org/10.1101/552885>
- Elshahat MR, Ahmed AA, Enas AH, Fekria MS (2016) Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. **African Journal of Microbiology Research** 10: 486–504. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7714>
- Fadrosh DW, Ma B, Gajer P, Sengamalay N, Ott S, Brotman RM, Ravel J (2014) An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. **Microbiome** 2: 6. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-6>
- Faltin F, Lottmann J, Grosch R, Berg G (2004) Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Canadian Journal of Microbiology** 50: 811–820. <https://doi.org/10.1139/w04-063>
- Fierer N (2017) Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology** 15: 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
- Fierer N, Jackson RB (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 103: 626–631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Fisher MC, Henk Daniela, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL, Gurr SJ (2012) Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. **Nature** 484: 186–194. <https://doi.org/10.1038/nature10947>
- França BHC, Jasinski M (2007) Cultivo de cana-de-açúcar. Rio de Janeiro: Dossiê Técnico, 19pp.
- Franche C, Lindström K, Elmerich C (2009) Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil** 321: 35–59. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9833-8>
- Gdanetz K, Trail F (2017) The Wheat Microbiome Under Four Management Strategies, and Potential for Endophytes in Disease Protection. **Phytobiomes Journal** 1: 158–168. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-05-17-0023-R>
- Glick BR (2012) Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica** 2012: 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Godshall MA (2007) Sugar and Other Sweeteners. In: Kent JA (Ed.), *Kent and Riegel's Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. Springer US, Boston, MA, 1657–1693. https://doi.org/10.1007/978-0-387-27843-8_35
- Gouda S, Kerry RG, Das G, Paramithiotis S, Shin H-S, Patra JK (2018) Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture.

Microbiological Research 206: 131–140.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>

Gourmelon V, Maggia L, Powell JR, Gigante S, Hortal S, Gueunier C, Letellier K, Carriconde F (2016) Environmental and Geographical Factors Structure Soil Microbial Diversity in New Caledonian Ultramafic Substrates: A Metagenomic Approach. Daffonchio D (Ed.). **PLOS ONE** 11: e0167405.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167405>

Griffiths BS, Philippot L (2013) Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. **FEMS Microbiology Reviews** 37: 112–129.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>

Handelsman J (2004) Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 68: 669–685.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004>

Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM (1998) Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chemistry & Biology** 5: R245–R249. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(98\)90108-9](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(98)90108-9)

Hahn MW, Koll U, Schmidt J (2019) Isolation and Cultivation of Bacteria. In: Hurst CJ (Ed.), *The Structure and Function of Aquatic Microbial Communities*. Advances in Environmental Microbiology. Springer International Publishing, Cham, 313–351.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-16775-2_10

Hartmann M, Frey B, Mayer J, Mäder P, Widmer F (2015) Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. **The ISME Journal** 9: 1177–1194. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.210>

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences** 270: 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>

Hill GT, Mitkowski NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramirez S, Lynch ST, Nelson EB (2000) Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. **Applied Soil Ecology** 15: 25–36.
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00069-X)

Hill MO (1973) Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. **Ecology** 54: 427–432. <https://doi.org/10.2307/1934352>

Hirano H, Takemoto K (2019) Difficulty in inferring microbial community structure based on co-occurrence network approaches. **BMC Bioinformatics** 20: 329.
<https://doi.org/10.1186/s12859-019-2915-1>

Hofer U (2018) The majority is uncultured. **Nature Reviews Microbiology** 16: 716–717. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0097-x>

Holmer L, Stenlid J (1997) *Resinicium bicolor*; a potential biological control agent for *Heterobasidion annosum*. **Forest Pathology** 27: 159–172.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1997.tb00857.x>

Inman-Bamber NG (2004) Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research** 89: 107–122. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.01.018>

Islam S, Akanda AM, Prova A, Islam MdT, Hossain MdM (2016) Isolation and Identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Cucumber Rhizosphere and Their Effect on Plant Growth Promotion and Disease Suppression. **Frontiers in Microbiology** 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01360>

Jain H (2010) The Green Revolution: history, impact and future. **The Green Revolution: history, impact and future**.

Jenkins SN, Waite IS, Blackburn A, Husband R, Rushton SP, Manning DC, O'Donnell AG (2009) Actinobacterial community dynamics in long term managed grasslands. **Antonie van Leeuwenhoek** 95: 319–334. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9317-8>

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

Kellogg EA (2013) Phylogenetic Relationships of Saccharinae and Sorghinae. In: Paterson AH (Ed.), *Genomics of the Saccharinae*. Springer New York, New York, NY, 3–21. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5947-8_1

Khan AL, Waqas M, Asaf S, Kamran M, Shahzad R, Bilal S, Khan MA, Kang S-M, Kim Y-H, Yun B-W, Al-Rawahi A, Al-Harrasi A, Lee I-J (2017) Plant growth-promoting endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 alleviates salinity stress in *Solanum pimpinellifolium*. **Environmental and Experimental Botany** 133: 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.09.009>

Khan AL, Waqas M, Kang S-M, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, Al-Khiziri S, Ullah I, Ali L, Jung H-Y, Lee I-J (2014) Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. **Journal of Microbiology** 52: 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>

Kirk JL, Beaudette LA, Hart M, Moutoglis P, Klironomos JN, Lee H, Trevors JT (2004) Methods of studying soil microbial diversity. **Journal of Microbiological Methods** 58: 169–188. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.04.006>

Kogel K-H, Franken P, Hüchelhoven R (2006) Endophyte or parasite – what decides? **Current Opinion in Plant Biology** 9: 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.001>

Kohl M, Wiese S, Warscheid B (2011) Cytoscape: Software for Visualization and Analysis of Biological Networks. In: Hamacher M, Eisenacher M, Stephan C (Eds), *Data Mining in Proteomics. Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, 291–303. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-987-1_18

Kumar M, Shrivastava N, Teotia P, Goyal P, Varma A, Sharma S, Tuteja N, Kumar V (2017) Omics: Tools for Assessing Environmental Microbial Diversity and Composition. In: Varma A, Sharma AK (Eds), *Modern Tools and Techniques to Understand Microbes*. Springer International Publishing, Cham, 273–283. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49197-4_18

Kumar R, Eipers P, Little RB, Crowley M, Crossman DK, Lefkowitz EJ, Morrow CD (2014) Getting Started with Microbiome Analysis: Sample Acquisition to Bioinformatics. **Current Protocols in Human Genetics** 82. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg1808s82>

Kuzyakov Y, Razavi BS (2019) Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. **Soil Biology and Biochemistry** 135: 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>

Lagos L, Maruyama F, Nannipieri P, Mora ML, Ogram A, Jorquera MA (2015) Current overview on the study of bacteria in the rhizosphere by modern molecular techniques: a mini review. **Journal of soil science and plant nutrition**: 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000042>

Lahti L, Shetty S (2012) microbiome R package.

Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N (2009) Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. **Applied and Environmental Microbiology** 75: 5111–5120. <https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09>

Leach JE, Gold S, Tolin S, Eversole K (2003) A plant-associated microbe genome initiative. **Phytopathology** 93: 524–527.

Lear G, Dickie I, Banks J, Boyer S, Buckley H, Buckley T, Cruickshank R, Dopheide A, Handley K, Hermans S, Kamke J, Lee C, MacDiarmid R, Morales S, Orlovich D, Smissen R, Wood J, Holdaway R (2018) Methods for the extraction, storage, amplification and sequencing of DNA from environmental samples. **New Zealand Journal of Ecology**. <https://doi.org/10.20417/nzjecol.42.9>

Lebonah DE, Dileep A, Chandrasekhar K, Sreevani S, Sreedevi B, Pramoda Kumari J (2014) DNA Barcoding on Bacteria: A Review. **Advances in Biology** 2014: 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/541787>

Lin L-H, Ntambo MS, Rott PC, Wang Q-N, Lin Y-H, Fu H-Y, Gao S-J (2018) Molecular detection and prevalence of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald, in China. **Crop Protection** 109: 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.027>

Liu H, Blouin C, Keselj V (2009) Identifying interaction sentences from biological literature using automatically extracted patterns. In: Proceedings of the BioNLP 2009 Workshop. 133–141.

Liu Y-X, Qin Y, Chen T, Lu M, Qian X, Guo X, Bai Y (2020) A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. **Protein & Cell**. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>

Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology** 15: 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

Lundberg DS, Yourstone S, Mieczkowski P, Jones CD, Dangl JL (2013) Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. **Nature Methods** 10: 999–1002. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2634>

MacRae RJ, Frick B, Martin RC (2007) Economic and social impacts of organic production systems. **Canadian Journal of Plant Science** 87: 1037–1044.

Madsen EL (2011) Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. **Current Opinion in Biotechnology** 22: 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.008>

McMurdie PJ, Holmes S (2013) phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE** 8: e61217.

Montero-Calasanz MDC, Göker M, Rohde M, Spröer C, Schumann P, Busse H-J, Schmid M, Tindall BJ, Klenk H-P, Camacho M (2013) *Chryseobacterium hispalense* sp. nov., a plant-growth-promoting bacterium isolated from a rainwater pond in an olive plant nursery, and emended descriptions of *Chryseobacterium defluvii*, *Chryseobacterium indologenes*, *Chryseobacterium wanjuense* and *Chryseobacterium gregarium*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 63: 4386–4395. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.052456-0>

Moore PH, Botha FC (Eds) (2013) Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology: Moore/Sugarcane. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK. <https://doi.org/10.1002/9781118771280>

Mordecai EA (2011) Pathogen impacts on plant communities: unifying theory, concepts, and empirical work. **Ecological Monographs** 81: 429–441. <https://doi.org/10.1890/10-2241.1>

Muller A, Schader C, El-Hage Scialabba N, Brüggemann J, Isensee A, Erb K-H, Smith P, Klocke P, Leiber F, Stolze M, Niggli U (2017) Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture. **Nature Communications** 8: 1290. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01410-w>

Muñoz CMG, Gómez MGS, Soares JPG, Junqueira AMR (2016) Normativa de Produção Orgânica no Brasil: a percepção dos agricultores familiares do assentamento da Chapadinha, Sobradinho (DF). **Revista de Economia e Sociologia Rural** 54: 361–376. <https://doi.org/10.1590/1234.56781806-947900540209>

Newman MM, Hoilett N, Lorenz N, Dick RP, Liles MR, Ramsier C, Kloepper JW (2016) Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities. **Science of The Total Environment** 543: 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.008>

OECD, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020) OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029. OECD. <https://doi.org/10.1787/1112c23b-en>

Oerke EC (2006) Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science** 144: 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H (2019)

vegan: Community Ecology Package. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Olanrewaju OS, Glick BR, Babalola OO (2017) Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 33: 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

Orr CH, Stewart CJ, Leifert C, Cooper JM, Cummings SP (2015) Effect of crop management and sample year on abundance of soil bacterial communities in organic and conventional cropping systems. **Journal of Applied Microbiology** 119: 208–214. <https://doi.org/10.1111/jam.12822>

Padmanabhan SY (1973) The Great Bengal Famine. **Annual Review of Phytopathology** 11: 11–24. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.11.090173.000303>

Pahari A, Pradhan A, Nayak SK, Mishra BB (2017) Bacterial Siderophore as a Plant Growth Promoter. In: Patra JK, Vishnuprasad CN, Das G (Eds), *Microbial Biotechnology*. Springer Singapore, Singapore, 163–180. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_7

Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, Beiko RG (2014) STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics** 30: 3123–3124. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu494>

Paterson AH, Moore PH, Tew TL (2013) The Gene Pool of Saccharum Species and Their Improvement. In: Paterson AH (Ed.), *Genomics of the Saccharinae*. Springer New York, New York, NY, 43–71. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5947-8_3

Paungfoo-Lonhienne C, Yeoh YK, Kasinadhuni NRP, Lonhienne TGA, Robinson N, Hugenholtz P, Ragan MA, Schmidt S (2015) Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific Reports** 5: 8678. <https://doi.org/10.1038/srep08678>

Pieretti I, Pesic A, Petras D, Royer M, Süßmuth RD, Cociancich S (2015) What makes *Xanthomonas albilineans* unique amongst xanthomonads? **Frontiers in Plant Science** 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00289>

Pieterse CMJ, de Jonge R, Berendsen RL (2016) The Soil-Borne Supremacy. **Trends in Plant Science** 21: 171–173. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.018>

Pingali PL (2012) Green Revolution: Impacts, limits, and the path ahead. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 109: 12302–12308. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912953109>

Piperidis G, Piperidis N, D'Hont A (2010) Molecular cytogenetic investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane. **Molecular Genetics and Genomics** 284: 65–73. <https://doi.org/10.1007/s00438-010-0546-3>

Plummer E, Twin J (2015) A Comparison of Three Bioinformatics Pipelines for the Analysis of Preterm Gut Microbiota using 16S rRNA Gene Sequencing Data. **Journal of Proteomics & Bioinformatics** 8. <https://doi.org/10.4172/jpb.1000381>

Porrás-Alfaro A, Liu K-L, Kuske CR, Xie G (2014) From Genus to Phylum: Large-Subunit and Internal Transcribed Spacer rRNA Operon Regions Show Similar

Classification Accuracies Influenced by Database Composition. **Applied and Environmental Microbiology** 80: 829–840. <https://doi.org/10.1128/AEM.02894-13>

Prodan A, Tremaroli V, Brolin H, Zwinderman AH, Nieuwdorp M, Levin E (2020) Comparing bioinformatic pipelines for microbial 16S rRNA amplicon sequencing. Seo J-S (Ed.). **PLOS ONE** 15: e0227434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227434>

Qi D, Wieneke X, Tao J, Zhou X, Desilva U (2018) Soil pH Is the Primary Factor Correlating With Soil Microbiome in Karst Rocky Desertification Regions in the Wushan County, Chongqing, China. **Frontiers in Microbiology** 9: 1027. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01027>

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2012) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research** 41: D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>

R Core Team (2020) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <https://www.R-project.org/>.

Raaijmakers JM, Paulitz TC, Steinberg C, Alabouvette C, Moënne-Loccoz Y (2009) The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant and Soil** 321: 341–361. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9568-6>

Rai A, Rai PK, Singh S (2017) Exploiting Beneficial Traits of Plant-Associated Fluorescent Pseudomonads for Plant Health. In: Singh JS, Seneviratne G (Eds), *Agro-Environmental Sustainability*. Springer International Publishing, Cham, 19–41. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49724-2_2

Ramakrishnan B, Venkateswarlu K, Sethunathan N, Megharaj M (2019) Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? **Science of The Total Environment** 654: 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.041>

Raza M, Zhang Z-F, Hyde KD, Diao Y-Z, Cai L (2019) Culturable plant pathogenic fungi associated with sugarcane in southern China. **Fungal Diversity** 99: 1–104. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00434-5>

Reddi CS, Ramakrishna V, Sreeramulu T (1978) Vertical profiles of spore concentrations within and above a sugarcane crop. In: *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B*. Springer, 309.

Redman RS, Dunigan DD, Rodriguez RJ (2001) Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: who controls the outcome, host or invader? **New Phytologist** 151: 705–716. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00210.x>

Reganold JP, Wachter JM (2016) Organic agriculture in the twenty-first century. **Nature Plants** 2: 15221. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.221>

- Renaud G, Stenzel U, Maricic T, Wiebe V, Kelso J (2015) deML: robust demultiplexing of Illumina sequences using a likelihood-based approach. **Bioinformatics** 31: 770–772. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu719>
- Ricaud C, Ryan C (1989) Leaf scald. **Diseases of sugarcane. Major diseases**: 39–58.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2010) edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. **Bioinformatics** 26: 139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Rodríguez H, Fraga R (1999) Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances** 17: 319–339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2)
- Rott P, Davis MJ (2000) Leaf scald. **A guide to sugarcane diseases** 38: 44.
- Röttjers L, Faust K (2018) From hairballs to hypotheses—biological insights from microbial networks. **FEMS Microbiology Reviews** 42: 761–780. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy030>
- Rousk J, Bååth E, Brookes PC, Lauber CL, Lozupone C, Caporaso JG, Knight R, Fierer N (2010) Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **The ISME Journal** 4: 1340–1351. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>
- Sagar K, Singh SP, Goutam KK, Konwar BK (2014) Assessment of five soil DNA extraction methods and a rapid laboratory-developed method for quality soil DNA extraction for 16S rDNA-based amplification and library construction. **Journal of Microbiological Methods** 97: 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.11.008>
- Saha M, Sarkar S, Sarkar B, Sharma BK, Bhattacharjee S, Tribedi P (2016) Microbial siderophores and their potential applications: a review. **Environmental Science and Pollution Research** 23: 3984–3999. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4294-0>
- Sait M, Davis KER, Janssen PH (2006) Effect of pH on Isolation and Distribution of Members of Subdivision 1 of the Phylum Acidobacteria Occurring in Soil. **Applied and Environmental Microbiology** 72: 1852–1857. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1852-1857.2006>
- Saleem M, Nazir M, Ali MS, Hussain H, Lee YS, Riaz N, Jabbar A (2010) Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. **Nat. Prod. Rep.** 27: 238–254. <https://doi.org/10.1039/B916096E>
- Schippers B, Bakker AW, Bakker PAHM (1987) Interactions of Deleterious and Beneficial Rhizosphere Microorganisms and the Effect of Cropping Practices. **Annual Review of Phytopathology** 25: 339–358. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.002011>
- Schlechter RO, Miebach M, Remus-Emsermann MNP (2019) Driving factors of epiphytic bacterial communities: A review. **Journal of Advanced Research** 19: 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.003>
- Schmidt JE, Vannette RL, Igwe A, Blundell R, Casteel CL, Gaudin ACM (2019) Effects of Agricultural Management on Rhizosphere Microbial Structure and Function in

Processing Tomato Plants. Cann I (Ed.). **Applied and Environmental Microbiology** 85: e01064-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01064-19>

Schmieder R, Edwards R (2011) Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. **Bioinformatics** 27: 863–864. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr026>

Schmitz A, Riesner D (2006) Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. **Analytical Biochemistry** 354: 311–313. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.014>

Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, (...), Schindel D (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 109: 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Scholz MB, Lo C-C, Chain PS (2012) Next generation sequencing and bioinformatic bottlenecks: the current state of metagenomic data analysis. **Current Opinion in Biotechnology** 23: 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.11.013>

Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C (2011) Metagenomic biomarker discovery and explanation. **Genome biology** 12: 1–18.

Shade A, Peter H, Allison SD, Baho DL, Berga M, Bürgmann H, Huber DH, Langenheder S, Lennon JT, Martiny JBH, Matulich KL, Schmidt TM, Handelsman J (2012) Fundamentals of Microbial Community Resistance and Resilience. **Frontiers in Microbiology** 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00417>

Sharma R, Sharma PK (2018) Metatranscriptome sequencing and analysis of agriculture soil provided significant insights about the microbial community structure and function. **Ecological Genetics and Genomics** 6: 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.egg.2017.10.001>

Sivasubramaniam D, Franks AE (2016) Bioengineering microbial communities: Their potential to help, hinder and disgust. **Bioengineered** 7: 137–144. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1187346>

Souza R de, Ambrosini A, Passaglia LMP (2015) Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology** 38: 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>

Stockdale EA, Lampkin NH, Hovi M, Keatinge R, Lennartsson EKM, Macdonald DW, Padel S, Tattersall FH, Wolfe MS, Watson CA (2001) Agronomic and environmental implications of organic farming systems. In: *Advances in Agronomy*. Elsevier, 261–327. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(01\)70007-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(01)70007-7)

Strange RN, Scott PR (2005) Plant Disease: A Threat to Global Food Security. **Annual Review of Phytopathology** 43: 83–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.113004.133839>

Streit WR, Schmitz RA (2004) Metagenomics – the key to the uncultured microbes. **Current Opinion in Microbiology** 7: 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002>

- Tan ZX, Lal R, Wiebe KD (2005) Global Soil Nutrient Depletion and Yield Reduction. **Journal of Sustainable Agriculture** 26: 123–146. https://doi.org/10.1300/J064v26n01_10
- Tardiani AC, Perecin D, Peixoto-Junior RF, Sanguino A, Landell MMG, Beriam LO, Nunes DS, Camargo LEA, Creste S (2014) Molecular and Pathogenic Diversity Among Brazilian Isolates of *Xanthomonas albilineans* Assessed with SSR Marker Loci. **Plant Disease** 98: 540–546. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0762-RE>
- Taulé C, Luizzi H, Beracochea M, Mareque C, Platero R, Battistoni F (2019) The Mo- and Fe-nitrogenases of the endophyte *Kosakonia* sp. UYSO10 are necessary for growth promotion of sugarcane. **Annals of Microbiology** 69: 741–750. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01466-7>
- Thomas T, Gilbert J, Meyer F (2012) Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. **Microbial Informatics and Experimentation** 2: 3. <https://doi.org/10.1186/2042-5783-2-3>
- Thomson BC, Ostle N, McNamara N, Bailey MJ, Whiteley AS, Griffiths RI (2010) Vegetation Affects the Relative Abundances of Dominant Soil Bacterial Taxa and Soil Respiration Rates in an Upland Grassland Soil. **Microbial Ecology** 59: 335–343. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9575-z>
- Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 108: 20260–20264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116437108>
- Timmusk S (2003) Mechanism of action of the plant growth promoting bacterium *Paenibacillus polymyxa*. Acta Universitatis Upsaliensis : Univ.-bibl. [distributör]
- Torsvik V (2002) Prokaryotic Diversity--Magnitude, Dynamics, and Controlling Factors. **Science** 296: 1064–1066. <https://doi.org/10.1126/science.1071698>
- Ulloa-Ogaz A, Muñoz-Castellanos L, Nevárez-Moorillón G (2015) Biocontrol of phytopathogens: antibiotic production as mechanism of control. **Méndez-Vilas A, The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs**: 305–309.
- Urashima AS, Zavaglia AC (2012) Comparação de dois métodos diagnósticos de escaldadura-das-folhas (*Xanthomonas albilineans*) da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica** 38: 155–158. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000200009>
- van der Heijden MGA, Hartmann M (2016) Networking in the Plant Microbiome. **PLOS Biology** 14: e1002378. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002378>
- van der Weijde T, Alvim Kamei CL, Torres AF, Vermerris W, Dolstra O, Visser RGF, Trindade LM (2013) The potential of C4 grasses for cellulosic biofuel production. **Frontiers in Plant Science** 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00107>
- Vejan P, Abdullah R, Khadiran T, Ismail S, Nasrulloha Boyce A (2016) Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules** 21: 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>

- Venturi V, Keel C (2016) Signaling in the Rhizosphere. **Trends in Plant Science** 21: 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>
- Vieweg L, Kretz J, Pesic A, Kerwat D, Grätz S, Royer M, Cociancich S, Mainz A, Süssmuth RD (2015) The Albicidin Resistance Factor AlbD Is a Serine Endopeptidase That Hydrolyzes Unusual Oligoaromatic-Type Peptides. **Journal of the American Chemical Society** 137: 7608–7611. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b04099>
- Vilela M de M, Del-Bem L-E, Van Sluys M-A, de Setta N, Kitajima JP, Cruz GMQ, Sforça DA, de Souza AP, Ferreira PCG, Grativol C, Cardoso-Silva CB, Vicentini R, Vincentz M (2017) Analysis of three sugarcane homo/homeologous regions suggests independent polyploidization events of *Saccharum officinarum* and *Saccharum spontaneum*. **Genome Biology and Evolution**: evw293. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw293>
- Walker V, Bruto M, Bellvert F, Bally R, Muller D, Prigent-Combaret C, Moënné-Loccoz Y, Comte G (2013) Unexpected Phytostimulatory Behavior for *Escherichia coli* and *Agrobacterium tumefaciens* Model Strains. **Molecular Plant-Microbe Interactions®** 26: 495–502. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-12-0298-R>
- Wang M, Liu F, Crous PW, Cai L (2017) Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi** 39: 118–142. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2017.39.06>
- Wang W, Wang H, Feng Y, Wang L, Xiao X, Xi Y, Luo X, Sun R, Ye X, Huang Y, Zhang Z, Cui Z (2016) Consistent responses of the microbial community structure to organic farming along the middle and lower reaches of the Yangtze River. **Scientific Reports** 6: 35046. <https://doi.org/10.1038/srep35046>
- Wani ZA, Ashraf N, Mohiuddin T, Riyaz-Ul-Hassan S (2015) Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology** 99: 2955–2965. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6487-3>
- Wassermann B, Müller H, Berg G (2019) An Apple a Day: Which Bacteria Do We Eat With Organic and Conventional Apples? **Frontiers in Microbiology** 10: 1629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01629>
- White RA, Rivas-Ubach A, Borkum MI, Köberl M, Bilbao A, Colby SM, Hoyt DW, Bingol K, Kim Y-M, Wendler JP, Hixson KK, Jansson C (2017) The state of rhizospheric science in the era of multi-omics: A practical guide to omics technologies. **Rhizosphere** 3: 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.05.003>
- Willer H, Lernoud J (2019) The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends 2019. Research Institute of Organic Agriculture FiBL and IFOAM Organics International.
- Willig MR, Presley SJ (2018) Biodiversity and Disturbance. In: Encyclopedia of the Anthropocene. Elsevier, 45–51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809665-9.09813-X>
- Woods CM, Woodward S, Redfern DB (2005) In vitro interactions in artificial and wood-based media between fungi colonizing stumps of Sitka spruce. **Forest Pathology** 35: 213–229. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2005.00403.x>

- Yeoh YK, Paungfoo-Lonhienne C, Dennis PG, Robinson N, Ragan MA, Schmidt S, Hugenholtz P (2016) The core root microbiome of sugarcanes cultivated under varying nitrogen fertilizer application: N fertilizer and sugarcane root microbiota. **Environmental Microbiology** 18: 1338–1351. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12925>
- Yuttavanichakul W, Lawongsa P, Wongkaew S, Teaumroong N, Boonkerd N, Nomura N, Tittabutr P (2012) Improvement of peanut rhizobial inoculant by incorporation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biocontrol against the seed borne fungus, *Aspergillus niger*. **Biological Control** 63: 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.06.008>
- Zarraonaindia I, Owens SM, Weisenhorn P, West K, Hampton-Marcell J, Lax S, Bokulich NA, Mills DA, Martin G, Taghavi S, van der Lelie D, Gilbert JA (2015) The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota. Jansson JK (Ed.). **mBio** 6: e02527-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02527-14>
- Zeng N, Zhao F, Collatz GJ, Kalnay E, Salawitch RJ, West TO, Guanter L (2014) Agricultural Green Revolution as a driver of increasing atmospheric CO₂ seasonal amplitude. **Nature** 515: 394–397. <https://doi.org/10.1038/nature13893>
- Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A (2014) PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. **Bioinformatics** 30: 614–620. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt593>
- Zhang L, Birch RG (1997) Mechanisms of biocontrol by *Pantoea dispersa* of sugar cane leaf scald disease caused by *Xanthomonas albilineans*. **Journal of Applied Microbiology** 82: 448–454. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00135.x>
- Zhou J, He Z, Yang Y, Deng Y, Tringe SG, Alvarez-Cohen L (2015) High-Throughput Metagenomic Technologies for Complex Microbial Community Analysis: Open and Closed Formats. **mBio** 6: e02288-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02288-14>

APÊNDICES

Apêndice A. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>p: Actinobacteria</i>	-2,42	0,000	OFN/CFN	<i>f: Brucellaceae</i>	-21,69	0,000	OSL/CSL	<i>f: Solirubrobacteraceae</i>	-2,75	0,000	OCP/CCP
<i>p: Proteobacteria</i>	3,06	0,000	OFN/CFN	<i>f: Oxalobacteraceae</i>	-1,67	0,076	OSL/CSL	<i>f: Chitinophagaceae</i>	1,39	0,000	OCP/CCP
<i>p: Acidobacteria</i>	-7,57	0,039	OFN/CFN	<i>f: Ruminococcaceae</i>	8,27	0,076	OSL/CSL	<i>f: Cystobacteraceae</i>	1,80	0,000	OCP/CCP
<i>p: Chlamydiae</i>	-8,07	0,000	OFF/CFP	<i>f: Xanthomonadaceae</i>	7,21	0,000	OFN/CFN	<i>f: Lactobacillaceae</i>	-8,27	0,002	OCP/CCP
<i>p: Deinococcus Thermus</i>	-1,46	0,083	OFF/CFP	<i>f: Bradyrhizobiaceae</i>	6,65	0,052	OFN/CFN	<i>f: Caulobacteraceae</i>	1,68	0,003	OCP/CCP
<i>p: Verrucomicrobia</i>	-0,83	0,036	ORN/CRN	<i>f: Aurantimonadaceae</i>	7,43	0,052	OFN/CFN	<i>f: Cytophagaceae</i>	0,79	0,007	OCP/CCP
<i>p: Chlamydiae</i>	-9,25	0,001	ORP/CRP	<i>f: Fimbriimonadaceae</i>	-23,02	0,000	OFF/CFP	<i>f: Paenibacillaceae 1</i>	-6,39	0,010	OCP/CCP
<i>p: Firmicutes</i>	-2,64	0,017	OCN/CCN	<i>f: Xanthomonadaceae</i>	4,59	0,000	OFF/CFP	<i>f: Burkholderiales inc. sed.</i>	1,03	0,010	OCP/CCP
<i>p: Candidatus Saccharibacteria</i>	1,47	0,010	OCP/CCP	<i>f: Cryptosporangiaceae</i>	-21,16	0,000	OFF/CFP	<i>f: Comamonadaceae</i>	0,98	0,011	OCP/CCP
<i>p: Verrucomicrobia</i>	-1,12	0,082	OCP/CCP	<i>f: Geodermatophilaceae</i>	-2,22	0,000	OFF/CFP	<i>f: Beijerinckiaceae</i>	-1,28	0,014	OCP/CCP
<i>c: Gammaproteobacteria</i>	5,78	0,000	OFN/CFN	<i>f: Pseudonocardiaceae</i>	-8,25	0,000	OFF/CFP	<i>f: Cellulomonadaceae</i>	-7,48	0,031	OCP/CCP
<i>c: Fimbriimonadia</i>	-23,08	0,000	OFF/CFP	<i>f: Simkaniaceae</i>	-8,25	0,001	OFF/CFP	<i>f: Acidimicrobiaceae</i>	-7,24	0,057	OCP/CCP
<i>c: Gammaproteobacteria</i>	3,22	0,000	OFF/CFP	<i>f: Nakamurellaceae</i>	4,54	0,002	OFF/CFP	<i>f: Methylobacteriaceae</i>	0,54	0,061	OCP/CCP
<i>c: Chlamydia</i>	-8,36	0,001	OFF/CFP	<i>f: Alcaligenaceae</i>	-4,41	0,002	OFF/CFP	<i>f: Moraxellaceae</i>	6,89	0,061	OCP/CCP
<i>c: Chlamydia</i>	-8,81	0,003	ORP/CRP	<i>f: Burkholderiaceae</i>	2,19	0,010	OFF/CFP	<i>f: Micromonosporaceae</i>	-3,52	0,081	OCP/CCP
<i>c: Acidobacteria Gp16</i>	-22,94	0,000	OCN/CCN	<i>f: Kineosporiaceae</i>	-1,39	0,047	OFF/CFP	<i>g: Vasilyevaea</i>	23,24	0,000	OSL/CSL
<i>c: Bacilli</i>	-3,73	0,001	OCN/CCN	<i>f: Clostridiaceae 1</i>	21,09	0,000	ORN/CRN	<i>g: Rhodomicrobium</i>	22,64	0,000	OSL/CSL
<i>c: Sphingobacteriia</i>	0,91	0,000	OCP/CCP	<i>f: Nakamurellaceae</i>	-7,58	0,043	ORN/CRN	<i>g: Methylocystis</i>	22,59	0,000	OSL/CSL
<i>c: Opitutae</i>	-9,09	0,001	OCP/CCP	<i>f: Burkholderiaceae</i>	-1,52	0,056	ORN/CRN	<i>g: Pantoea</i>	-22,68	0,000	OSL/CSL
<i>c: Cytophagia</i>	0,65	0,005	OCP/CCP	<i>f: Xanthomonadaceae</i>	-1,21	0,056	ORN/CRN	<i>g: Brevibacillus</i>	10,03	0,000	OSL/CSL
<i>c: Acidobacteria Gp3</i>	-5,41	0,014	OCP/CCP	<i>f: Parachlamydiaceae</i>	-8,19	0,056	ORN/CRN	<i>g: Ochrobactrum</i>	-21,70	0,000	OSL/CSL
<i>c: Chloroflexia</i>	1,38	0,034	OCP/CCP	<i>f: Kofleriaceae</i>	1,18	0,056	ORN/CRN	<i>g: Leifsonia</i>	-21,48	0,000	OSL/CSL
<i>c: Gammaproteobacteria</i>	-0,66	0,074	OCP/CCP	<i>f: Pseudomonadaceae</i>	-3,19	0,056	ORN/CRN	<i>g: Achromobacter</i>	-8,32	0,002	OSL/CSL
<i>c: Acidobacteria Gp4</i>	-2,85	0,074	OCP/CCP	<i>f: Anaerolineaceae</i>	2,03	0,056	ORN/CRN	<i>g: Oxalibacterium</i>	-7,68	0,055	OSL/CSL
<i>o: Xanthomonadales</i>	7,05	0,000	OFN/CFN	<i>f: Neisseriaceae</i>	-6,94	0,062	ORN/CRN	<i>g: Porphyrobacter</i>	-7,54	0,063	OSL/CSL
<i>o: Fimbriimonadales</i>	-23,02	0,000	OFF/CFP	<i>f: Legionellaceae</i>	-6,98	0,075	ORN/CRN	<i>g: Xanthomonas</i>	7,77	0,017	OFN/CFN
<i>o: Xanthomonadales</i>	4,69	0,000	OFF/CFP	<i>f: Sphingobacteriaceae</i>	-0,94	0,080	ORN/CRN	<i>g: Pseudacidovorax</i>	8,53	0,017	OFN/CFN
<i>o: Chlamydiales</i>	-8,22	0,000	OFF/CFP	<i>f: Anaplasmataceae</i>	8,17	0,084	ORN/CRN	<i>g: Amnibacterium</i>	-9,65	0,017	OFN/CFN
<i>o: Burkholderiales</i>	1,03	0,032	OFF/CFP	<i>f: Aeromonadaceae</i>	-21,67	0,000	ORP/CRP	<i>g: Fimbriimonas</i>	-22,99	0,000	OFF/CFP
<i>o: Deinococcales</i>	-1,40	0,098	OFF/CFP	<i>f: Thermoanaerobacteraceae</i>	9,06	0,000	ORP/CRP	<i>g: Xanthomonas</i>	4,90	0,000	OFF/CFP
<i>o: Pseudomonadales</i>	-3,39	0,043	ORN/CRN	<i>f: Parachlamydiaceae</i>	-8,67	0,003	ORP/CRP	<i>g: Sodalis</i>	-10,52	0,002	OFF/CFP
<i>o: Alphaproteobacteria inc. sed.</i>	-1,86	0,043	ORN/CRN	<i>f: Coxiellaceae</i>	-4,18	0,006	ORP/CRP	<i>g: Actinomycetospora</i>	-8,33	0,005	OFF/CFP
<i>o: Neisseriales</i>	-6,95	0,043	ORN/CRN	<i>f: Burkholderiaceae</i>	-1,49	0,023	ORP/CRP	<i>g: Simkania</i>	-8,31	0,006	OFF/CFP
<i>o: Myxococcales</i>	0,79	0,043	ORN/CRN	<i>f: Micromonosporaceae</i>	-23,95	0,000	OCN/CCN	<i>g: Geodermatophilus</i>	-2,46	0,006	OFF/CFP
<i>o: Anaerolineales</i>	1,91	0,043	ORN/CRN	<i>f: Chloroflexaceae</i>	22,85	0,000	OCN/CCN	<i>g: Nakamurella</i>	4,18	0,009	OFF/CFP
<i>o: Aeromonadales</i>	-21,63	0,000	ORP/CRP	<i>f: Polyangiaceae</i>	-22,74	0,000	OCN/CCN	<i>g: Acidovorax</i>	5,43	0,010	OFF/CFP
<i>o: Thermoanaerobacterales</i>	9,17	0,002	ORP/CRP	<i>f: Nakamurellaceae</i>	9,18	0,000	OCN/CCN	<i>g: Variovorax</i>	-8,66	0,036	OFF/CFP
<i>o: Chlamydiales</i>	-8,62	0,009	ORP/CRP	<i>f: Pseudonocardiaceae</i>	-10,16	0,013	OCN/CCN	<i>g: Burkholderia</i>	2,06	0,098	OFF/CFP
<i>o: Anaerolineales</i>	1,42	0,070	ORP/CRP	<i>f: Burkholderiaceae</i>	-3,65	0,032	OCN/CCN	<i>g: Salmonella</i>	-25,61	0,000	ORN/CRN
<i>o: Pseudomonadales</i>	-2,33	0,091	ORP/CRP	<i>f: Solirubrobacteraceae</i>	-7,48	0,032	OCN/CCN	<i>g: Klebsiella</i>	-22,85	0,000	ORN/CRN
<i>o: Bacillales</i>	-3,66	0,003	OCN/CCN	<i>f: Chitinophagaceae</i>	2,30	0,047	OCN/CCN	<i>g: Kosakonia</i>	-21,99	0,000	ORN/CRN
<i>o: Sphingobacteriales</i>	0,94	0,000	OCP/CCP	<i>f: Aurantimonadaceae</i>	2,09	0,000	OCP/CCP	<i>g: Clostridium sensu stricto</i>	21,55	0,000	ORN/CRN
<i>o: Enterobacteriales</i>	-2,75	0,000	OCP/CCP	<i>f: Nakamurellaceae</i>	2,51	0,000	OCP/CCP	<i>g: Paucimonas</i>	-20,99	0,000	ORN/CRN
<i>o: Opitutales</i>	-21,69	0,000	OCP/CCP	<i>f: Enterobacteriaceae</i>	-2,62	0,000	OCP/CCP	<i>g: Stenotrophomonas</i>	-8,63	0,000	ORN/CRN
<i>o: Cytophagales</i>	0,68	0,000	OCP/CCP	<i>f: Opitutaceae</i>	-21,94	0,000	OCP/CCP	<i>g: Bryocella</i>	-9,05	0,000	ORN/CRN
<i>o: Chloroflexales</i>	1,49	0,008	OCP/CCP	<i>f: Burkholderiaceae</i>	-2,24	0,000	OCP/CCP	<i>g: Pedobacter</i>	-8,46	0,000	ORN/CRN
<i>o: Caulobacterales</i>	1,58	0,011	OCP/CCP	<i>f: Chloroflexaceae</i>	2,67	0,000	OCP/CCP	<i>g: Serratia</i>	-9,06	0,000	ORN/CRN

(Continuação) Apêndice A. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>g: Achromobacter</i>	-8,23	0,000	ORN/CRN	<i>g: Solirubrobacter</i>	-7,83	0,068	OCN/CCN	<i>g: Taibaiella</i>	2,23	0,033	OCP/CCP
<i>g: Flavitalea</i>	3,96	0,000	ORN/CRN	<i>g: Chitinophaga</i>	6,03	0,087	OCN/CCN	<i>g: Actinokineospora</i>	6,68	0,033	OCP/CCP
<i>g: Nitrospirillum</i>	-10,01	0,001	ORN/CRN	<i>g: Vampirovibrio</i>	8,17	0,094	OCN/CCN	<i>g: Weissella</i>	-6,18	0,033	OCP/CCP
<i>g: Acidipila</i>	-5,34	0,020	ORN/CRN	<i>g: Kosakonia</i>	25,66	0,000	OCP/CCP	<i>g: Massilia</i>	-1,06	0,033	OCP/CCP
<i>g: Nakamurella</i>	-7,19	0,020	ORN/CRN	<i>g: Rhizorhabdus</i>	12,18	0,000	OCP/CCP	<i>g: Quadrisphaera</i>	1,40	0,039	OCP/CCP
<i>g: Longilinea</i>	3,39	0,025	ORN/CRN	<i>g: Aureimonas</i>	2,15	0,000	OCP/CCP	<i>g: Azospirillum</i>	2,97	0,041	OCP/CCP
<i>g: Luteimonas</i>	-9,26	0,031	ORN/CRN	<i>g: Olivibacter</i>	24,53	0,000	OCP/CCP	<i>g: Microvirga</i>	1,34	0,041	OCP/CCP
<i>g: Bordetella</i>	-6,89	0,039	ORN/CRN	<i>g: Hydrogenophaga</i>	-23,71	0,000	OCP/CCP	<i>g: Methylophila</i>	5,32	0,048	OCP/CCP
<i>g: Gp4</i>	2,04	0,042	ORN/CRN	<i>g: Pantoea</i>	-3,74	0,000	OCP/CCP	<i>g: Aeromicrobium</i>	1,49	0,049	OCP/CCP
<i>g: Kibdelosporangium</i>	2,01	0,089	ORN/CRN	<i>g: Labrys</i>	-9,61	0,000	OCP/CCP	<i>g: Marmoricola</i>	-8,54	0,056	OCP/CCP
<i>g: Pseudomonas</i>	-4,85	0,097	ORN/CRN	<i>g: Byssovorax</i>	-22,95	0,000	OCP/CCP	<i>g: Nguyenibacter</i>	-8,82	0,060	OCP/CCP
<i>g: Methylibium</i>	22,95	0,000	ORP/CRP	<i>g: Elizabethkingia</i>	-22,44	0,000	OCP/CCP	<i>g: Pseudomonas</i>	-1,54	0,062	OCP/CCP
<i>g: Myroides</i>	-24,13	0,000	ORP/CRP	<i>g: Dyella</i>	-22,06	0,000	OCP/CCP	<i>g: Chryseobacterium</i>	1,33	0,070	OCP/CCP
<i>g: Acidovorax</i>	21,66	0,000	ORP/CRP	<i>g: Starkeya</i>	22,00	0,000	OCP/CCP	<i>g: Beijerinckia</i>	-1,17	0,074	OCP/CCP
<i>g: Klebsiella</i>	-21,69	0,000	ORP/CRP	<i>g: Opitutus</i>	-21,81	0,000	OCP/CCP	<i>g: Luteimonas</i>	6,82	0,075	OCP/CCP
<i>g: Aeromonas</i>	-21,40	0,000	ORP/CRP	<i>g: Rubrivivax</i>	21,73	0,000	OCP/CCP	<i>g: Bordetella</i>	-4,69	0,088	OCP/CCP
<i>g: Telmatospirillum</i>	-8,88	0,000	ORP/CRP	<i>g: Parafilimonas</i>	-12,16	0,000	OCP/CCP	<i>g: Xenophilus</i>	0,88	0,088	OCP/CCP
<i>g: Porphyrobacter</i>	-8,39	0,003	ORP/CRP	<i>g: Lactobacillus</i>	-8,21	0,000	OCP/CCP	<i>g: Luteibacter</i>	-1,94	0,096	OCP/CCP
<i>g: Serratia</i>	-9,63	0,004	ORP/CRP	<i>g: Micromonospora</i>	-8,87	0,000	OCP/CCP	<i>s: Massilia aerilata</i>	-10,71	0,000	OSL/CSL
<i>g: Bryocella</i>	-8,30	0,007	ORP/CRP	<i>g: Filimonas</i>	3,40	0,000	OCP/CCP	<i>s: Rhodomicrobium vanniellii</i>	22,80	0,000	OSL/CSL
<i>g: Lysinimonas</i>	-9,42	0,007	ORP/CRP	<i>g: Flavisolibacter</i>	-7,98	0,000	OCP/CCP	<i>s: Virgisporangium aurantiacum</i>	22,27	0,000	OSL/CSL
<i>g: Neochlamydia</i>	-8,39	0,010	ORP/CRP	<i>g: Asaia</i>	-9,18	0,000	OCP/CCP	<i>s: Flavisolibacter sp</i>	21,20	0,000	OSL/CSL
<i>g: Longilinea</i>	3,25	0,012	ORP/CRP	<i>g: Nakamurella</i>	2,53	0,000	OCP/CCP	<i>s: Massilia arvi</i>	-22,17	0,000	OSL/CSL
<i>g: Brevibacillus</i>	9,29	0,015	ORP/CRP	<i>g: Siphonobacter</i>	2,53	0,000	OCP/CCP	<i>s: Mycobacterium pallens</i>	-21,93	0,000	OSL/CSL
<i>g: Acidipila</i>	-6,14	0,025	ORP/CRP	<i>g: Endobacter</i>	9,15	0,000	OCP/CCP	<i>s: Bosea thiooxidans</i>	-21,84	0,000	OSL/CSL
<i>g: Sphingobacterium</i>	-8,79	0,025	ORP/CRP	<i>g: Solirubrobacter</i>	-2,72	0,000	OCP/CCP	<i>s: Pantoea wallisii</i>	-21,70	0,000	OSL/CSL
<i>g: Aquicella</i>	-3,97	0,025	ORP/CRP	<i>g: Cellulomonas</i>	-7,43	0,000	OCP/CCP	<i>s: Paenibacillus daejeonensis</i>	-21,69	0,000	OSL/CSL
<i>g: Pseudomonas</i>	-3,26	0,029	ORP/CRP	<i>g: Pelomonas</i>	1,86	0,001	OCP/CCP	<i>s: Stenotrophomonas maltophilia</i>	-21,68	0,000	OSL/CSL
<i>g: Starkeya</i>	-7,47	0,066	ORP/CRP	<i>g: Rathayibacter</i>	2,73	0,001	OCP/CCP	<i>s: Burkholderia caledonica</i>	-21,60	0,000	OSL/CSL
<i>g: Parafilimonas</i>	-2,73	0,079	ORP/CRP	<i>g: Nubsella</i>	12,87	0,001	OCP/CCP	<i>s: Nocardioides alpinus</i>	21,44	0,000	OSL/CSL
<i>g: Kineosporia</i>	-25,05	0,000	OCN/CCN	<i>g: Ilumatobacter</i>	-7,21	0,001	OCP/CCP	<i>s: Chryseobacterium sp</i>	-21,34	0,000	OSL/CSL
<i>g: Parafilimonas</i>	-24,52	0,000	OCN/CCN	<i>g: Rhodoferax</i>	8,13	0,001	OCP/CCP	<i>s: Mycobacterium brisbanense</i>	9,08	0,000	OSL/CSL
<i>g: Acidovorax</i>	25,23	0,000	OCN/CCN	<i>g: Saccharibacteria genera inc. sed.</i>	1,72	0,002	OCP/CCP	<i>s: Nitrosospora multiformis</i>	-8,25	0,002	OSL/CSL
<i>g: Micromonospora</i>	-22,96	0,000	OCN/CCN	<i>g: Roseiflexus</i>	3,00	0,003	OCP/CCP	<i>s: Cystobacter ferrugineus</i>	-10,14	0,003	OSL/CSL
<i>g: Rhodovarius</i>	-23,21	0,000	OCN/CCN	<i>g: Actinoplanes</i>	-5,88	0,004	OCP/CCP	<i>s: Paenibacillus alginolyticus</i>	-9,21	0,009	OSL/CSL
<i>g: Gp16</i>	-22,43	0,000	OCN/CCN	<i>g: Cystobacter</i>	1,85	0,004	OCP/CCP	<i>s: Steroidobacter denitrificans</i>	-7,69	0,011	OSL/CSL
<i>g: Conexibacter</i>	-22,35	0,000	OCN/CCN	<i>g: Pilimelia</i>	-6,85	0,004	OCP/CCP	<i>s: Singulisphaera acidiphila</i>	-7,67	0,013	OSL/CSL
<i>g: Roseiflexus</i>	22,06	0,000	OCN/CCN	<i>g: Burkholderia</i>	-2,18	0,007	OCP/CCP	<i>s: Nocardioides aestuarii</i>	9,04	0,016	OSL/CSL
<i>g: Byssovorax</i>	-21,48	0,000	OCN/CCN	<i>g: Gp3</i>	-5,38	0,010	OCP/CCP	<i>s: Hyphomicrobium zavarzinii</i>	-7,70	0,034	OSL/CSL
<i>g: Blastocatella</i>	21,60	0,000	OCN/CCN	<i>g: Brevundimonas</i>	2,39	0,010	OCP/CCP	<i>s: Xylanimicrobium pachnodae</i>	4,34	0,052	OSL/CSL
<i>g: Nubsella</i>	21,28	0,000	OCN/CCN	<i>g: Gluconacetobacter</i>	-6,68	0,014	OCP/CCP	<i>s: Actinomadura geliboluensis</i>	-8,59	0,059	OSL/CSL
<i>g: Kosakonia</i>	15,09	0,000	OCN/CCN	<i>g: Duganella</i>	-9,87	0,016	OCP/CCP	<i>s: metal contaminated soil</i>	2,56	0,061	OSL/CSL
<i>g: Terrimonas</i>	9,57	0,005	OCN/CCN	<i>g: Paenibacillus</i>	-6,66	0,024	OCP/CCP	<i>s: Thermomonospora curvata</i>	7,34	0,070	OSL/CSL
<i>g: Nakamurella</i>	9,16	0,008	OCN/CCN	<i>g: Blastocatella</i>	-3,91	0,032	OCP/CCP	<i>s: Bacteroidetes bacterium</i>	-7,16	0,077	OSL/CSL
<i>g: Bradyrhizobium</i>	-10,19	0,016	OCN/CCN	<i>g: Rivibacter</i>	9,60	0,032	OCP/CCP	<i>s: Pantoea ananatis</i>	9,60	0,030	OFN/CFN
<i>g: Pseudonocardia</i>	-9,68	0,023	OCN/CCN	<i>g: Sediminibacterium</i>	1,94	0,033	OCP/CCP	<i>s: Pseudacidovorax intermedius</i>	9,35	0,030	OFN/CFN
<i>g: Ancylobacter</i>	8,26	0,023	OCN/CCN	<i>g: Minicystis</i>	9,58	0,033	OCP/CCP	<i>s: Mucilaginibacter oryzae</i>	25,31	0,000	OFF/CFP

(Continuação) Apêndice A. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>Serratia marcescens</i>	23,99	0,000	OFp/CFP	<i>Nakamurella multipartita</i>	-6,94	0,049	ORN/CRN	<i>S. Cystobacter ferrugineus</i>	-9,15	0,036	ORP/CRP
<i>Aureimonas rubiginis</i>	-22,90	0,000	OFp/CFP	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	-6,86	0,065	ORN/CRN	<i>S. Fibrobacter intestinalis</i>	9,00	0,041	ORP/CRP
<i>S. Cystobacter ferrugineus</i>	-22,64	0,000	OFp/CFP	<i>Burkholderia bannensis</i>	-8,43	0,085	ORN/CRN	<i>S. Nocardioides aestuarii</i>	8,77	0,046	ORP/CRP
<i>S. Roseomonas aerophila</i>	-22,42	0,000	OFp/CFP	<i>S. Caulobacter sp</i>	-6,61	0,090	ORN/CRN	<i>S. Paenibacillus alginolyticus</i>	8,70	0,048	ORP/CRP
<i>S. Fimbriimonas ginsengisoli</i>	-22,19	0,000	OFp/CFP	<i>S. Luteimonas abyssii</i>	-8,24	0,091	ORN/CRN	<i>S. Kutzneria kofuensis</i>	-8,69	0,054	ORP/CRP
<i>S. Methylobacterium indicum</i>	-21,83	0,000	OFp/CFP	<i>S. Myroides sp</i>	-24,10	0,000	ORP/CRP	<i>S. Lacunisphaera parvula</i>	7,23	0,055	ORP/CRP
<i>S. Elizabethkingia miricola</i>	21,30	0,000	OFp/CFP	<i>S. Methylibium petroleiphilum</i>	22,87	0,000	ORP/CRP	<i>S. Steroidobacter denitrificans</i>	-6,72	0,058	ORP/CRP
<i>S. Gordonia jinhuaensis</i>	-8,91	0,000	OFp/CFP	<i>S. Chryseobacterium arachidiradicis</i>	22,37	0,000	ORP/CRP	<i>S. Povalibacter uvarum</i>	1,77	0,064	ORP/CRP
<i>S. Sphingomonas hankookensis</i>	-3,43	0,003	OFp/CFP	<i>S. Terrimonas rubra</i>	-21,98	0,000	ORP/CRP	<i>S. Xylanimicrobium pachnodae</i>	8,55	0,087	ORP/CRP
<i>S. Sphingomonas yunnanensis</i>	-3,89	0,005	OFp/CFP	<i>S. Kibdelosporangium lantanae</i>	21,88	0,000	ORP/CRP	<i>S. Arenimonas daechungensis</i>	-4,88	0,093	ORP/CRP
<i>S. Sphingomonas endophytica</i>	-4,24	0,008	OFp/CFP	<i>S. Acidovorax wautersii</i>	21,87	0,000	ORP/CRP	<i>S. Acidovorax wautersii</i>	26,12	0,000	OCN/CCN
<i>S. Nakamurella flavida</i>	4,73	0,008	OFp/CFP	<i>S. Phenylbacterium falsum</i>	-9,51	0,000	ORP/CRP	<i>S. Chitinophaga oryzae</i>	24,30	0,000	OCN/CCN
<i>S. Acidovorax wautersii</i>	6,13	0,017	OFp/CFP	<i>S. Amaricoccus kaplicensis</i>	-21,77	0,000	ORP/CRP	<i>S. Kineosporia mesophila</i>	-24,00	0,000	OCN/CCN
<i>S. Enterobacteriaceae bacterium</i>	-10,10	0,017	OFp/CFP	<i>S. Serratia marcescens</i>	-21,57	0,000	ORP/CRP	<i>S. Pseudomonas psychrotolerans</i>	-23,73	0,000	OCN/CCN
<i>S. Aureimonas phyllosphaerae</i>	-2,97	0,023	OFp/CFP	<i>S. Paenibacillus cellulosityticus</i>	21,46	0,000	ORP/CRP	<i>S. Filimonas sp</i>	-23,46	0,000	OCN/CCN
<i>S. Chryseobacterium culicis</i>	9,02	0,046	OFp/CFP	<i>S. Massilia aerilata</i>	21,44	0,000	ORP/CRP	<i>S. Blastocatella fastidiosa</i>	23,42	0,000	OCN/CCN
<i>S. Massilia yuzhufengensis</i>	2,44	0,054	OFp/CFP	<i>S. Fluviicola taffensis</i>	21,43	0,000	ORP/CRP	<i>S. Chryseobacterium sp</i>	-23,35	0,000	OCN/CCN
<i>S. Gaiella occulta</i>	8,55	0,054	OFp/CFP	<i>S. Aeromonas popoffii</i>	-21,37	0,000	ORP/CRP	<i>S. Flavobacterium longum</i>	-23,29	0,000	OCN/CCN
<i>S. Burkholderia plantarii</i>	-8,57	0,054	OFp/CFP	<i>S. Chryseobacterium sp</i>	-21,33	0,000	ORP/CRP	<i>S. Sphingomonas rosa</i>	-23,27	0,000	OCN/CCN
<i>S. Salmonella enterica</i>	-25,31	0,000	ORN/CRN	<i>S. Nocardioides alpinus</i>	21,25	0,000	ORP/CRP	<i>S. Caulobacter ginsengisoli</i>	23,26	0,000	OCN/CCN
<i>S. Terrimonas aquatica</i>	22,72	0,000	ORN/CRN	<i>S. Streptomyces marinus</i>	21,24	0,000	ORP/CRP	<i>S. Roseiflexus castenholzii</i>	23,26	0,000	OCN/CCN
<i>S. Klebsiella variicola</i>	-22,57	0,000	ORN/CRN	<i>S. Filimonas endophytica</i>	20,93	0,000	ORP/CRP	<i>S. Dokdonella fugitiva</i>	-23,19	0,000	OCN/CCN
<i>S. Flavobacterium phragmitis</i>	-22,21	0,000	ORN/CRN	<i>S. Ralstonia pickettii</i>	-9,48	0,000	ORP/CRP	<i>S. Nubsella zeaxanthinifaciens</i>	23,10	0,000	OCN/CCN
<i>S. Virgisorangium aurantiacum</i>	21,97	0,000	ORN/CRN	<i>S. Telmatosporillum siberiense</i>	-8,87	0,000	ORP/CRP	<i>S. Sphingomonas cynarae</i>	-22,71	0,000	OCN/CCN
<i>S. Lysobacter panaciterrae</i>	-21,95	0,000	ORN/CRN	<i>S. Cupriavidus yeoncheonensis</i>	-8,51	0,000	ORP/CRP	<i>S. Pantoea ananatis</i>	-22,63	0,000	OCN/CCN
<i>S. Cupriavidus sp</i>	21,81	0,000	ORN/CRN	<i>S. Stella humosa</i>	-8,37	0,000	ORP/CRP	<i>S. Pedobacter agri</i>	-22,23	0,000	OCN/CCN
<i>S. Kosakonia arachidis</i>	-21,72	0,000	ORN/CRN	<i>S. Enhydrobacter aerosaccus</i>	-9,22	0,000	ORP/CRP	<i>S. Massilia timonae</i>	-22,20	0,000	OCN/CCN
<i>S. Stenotrophobacter namibiensis</i>	21,14	0,000	ORN/CRN	<i>S. Stenotrophomonas maltophilia</i>	-9,07	0,000	ORP/CRP	<i>S. Rhodovarius lipocyclicus</i>	-22,14	0,000	OCN/CCN
<i>S. Actinomadura chibensis</i>	20,85	0,000	ORN/CRN	<i>S. Clostridium magnum</i>	8,34	0,001	ORP/CRP	<i>S. Terriglobus aquaticus</i>	-22,09	0,000	OCN/CCN
<i>S. Rhizobium sp</i>	-20,97	0,000	ORN/CRN	<i>S. Bryocella elongata</i>	-8,18	0,002	ORP/CRP	<i>S. Byssosvorax cruenta</i>	-22,02	0,000	OCN/CCN
<i>S. Mycobacterium pallens</i>	-20,87	0,000	ORN/CRN	<i>S. Pseudomonas hibiscicola</i>	8,34	0,002	ORP/CRP	<i>S. uncultured Acidobacteria</i>	-21,79	0,000	OCN/CCN
<i>S. Kibdelosporangium banguense</i>	11,20	0,000	ORN/CRN	<i>S. Neochlamydia hartmannellae</i>	-8,33	0,006	ORP/CRP	<i>S. Duganella radialis</i>	21,66	0,000	OCN/CCN
<i>S. Burkholderia tropica</i>	-9,85	0,000	ORN/CRN	<i>S. Starkeya koreensis</i>	-7,44	0,011	ORP/CRP	<i>S. Brevundimonas staleyii</i>	21,24	0,000	OCN/CCN
<i>S. Bryocella elongata</i>	-8,79	0,001	ORN/CRN	<i>S. Brevundimonas aveniformis</i>	-7,70	0,012	ORP/CRP	<i>S. Roseateles terrae</i>	21,16	0,000	OCN/CCN
<i>S. Enhydrobacter aerosaccus</i>	-8,68	0,003	ORN/CRN	<i>S. Longilinea arvoryzae</i>	3,25	0,013	ORP/CRP	<i>S. Taibaiella chishuiensis</i>	21,11	0,000	OCN/CCN
<i>S. Stenotrophomonas maltophilia</i>	-7,86	0,005	ORN/CRN	<i>S. Dyella koreensis</i>	-7,46	0,013	ORP/CRP	<i>S. Granulibacter thesedensis</i>	21,07	0,000	OCN/CCN
<i>S. Asticcacaulis taihuensis</i>	-8,77	0,005	ORN/CRN	<i>S. Burkholderia sp</i>	-5,48	0,015	ORP/CRP	<i>S. Fluviicola taffensis</i>	20,84	0,000	OCN/CCN
<i>S. Taibaiella koreensis</i>	-7,96	0,005	ORN/CRN	<i>S. Bacteroidetes bacterium</i>	-7,19	0,017	ORP/CRP	<i>S. Kosakonia arachidis</i>	16,02	0,000	OCN/CCN
<i>S. Sphingomonas koreensis</i>	-7,86	0,011	ORN/CRN	<i>S. Arthrobacter alkaliphilus</i>	9,59	0,019	ORP/CRP	<i>S. Terrimonas lutea</i>	10,53	0,006	OCN/CCN
<i>S. Chryseobacterium sp</i>	-8,05	0,015	ORN/CRN	<i>S. Sphingomonas yunnanensis</i>	-7,21	0,021	ORP/CRP	<i>S. Brevundimonas bacteroides</i>	11,74	0,019	OCN/CCN
<i>S. Luteolibacter pohnpieensis</i>	-7,42	0,015	ORN/CRN	<i>S. Aquicella siphonis</i>	-3,82	0,024	ORP/CRP	<i>S. Paenibacillus wenxiniae</i>	-10,55	0,048	OCN/CCN
<i>S. Chitinophaga sp</i>	-7,45	0,016	ORN/CRN	<i>S. Sphingomonas sp</i>	1,70	0,026	ORP/CRP	<i>S. Sphingomonas polyaromaticivorans</i>	-8,26	0,059	OCN/CCN
<i>S. Terriglobus aquaticus</i>	-8,29	0,016	ORN/CRN	<i>S. Roseomonas elaeocarpi</i>	9,54	0,026	ORP/CRP	<i>S. Sphingobium fanae</i>	9,30	0,069	OCN/CCN
<i>S. Catenulispora acidiphila</i>	-9,60	0,017	ORN/CRN	<i>S. Lysinimonas soli</i>	-9,37	0,027	ORP/CRP	<i>S. Nakamurella flavida</i>	9,76	0,078	OCN/CCN
<i>S. Serratia marcescens</i>	-7,47	0,021	ORN/CRN	<i>S. uncultured Holophaga</i>	-3,92	0,027	ORP/CRP	<i>S. Vampirovibrio chlorellavorus</i>	9,18	0,078	OCN/CCN
<i>S. Lyticum flagellatum</i>	8,96	0,037	ORN/CRN	<i>S. Stenotrophobacter roseus</i>	2,48	0,027	ORP/CRP	<i>S. Chryseobacterium caeni</i>	26,78	0,000	OCP/CCP
<i>S. Steroidobacter denitrificans</i>	-6,89	0,044	ORN/CRN	<i>S. Catenulispora acidiphila</i>	-8,96	0,034	ORP/CRP	<i>S. Kosakonia arachidis</i>	26,14	0,000	OCP/CCP

(Continuação) Apêndice A. Táxons bacterianos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>s: Flavobacterium phragmitis</i>	-25,73	0,000	OCP/CCP	<i>s: Rathayibacter caricis</i>	3,06	0,004	OCP/CCP
<i>s: Olivibacter sitiensis</i>	24,59	0,000	OCP/CCP	<i>s: Chthoniobacter flavus</i>	-7,28	0,005	OCP/CCP
<i>s: Acinetobacter soli</i>	24,51	0,000	OCP/CCP	<i>s: Nakamuraella flavida</i>	2,69	0,006	OCP/CCP
<i>s: Chitinophaga oryxiterrae</i>	23,64	0,000	OCP/CCP	<i>s: Roseiflexus castenholzii</i>	3,27	0,009	OCP/CCP
<i>s: Caulobacter ginsengisoli</i>	22,61	0,000	OCP/CCP	<i>s: uncultured Acidobacteria</i>	-7,56	0,009	OCP/CCP
<i>s: Mucilaginibacter ximonensis</i>	-22,54	0,000	OCP/CCP	<i>s: Dyadobacter hamtensis</i>	10,70	0,009	OCP/CCP
<i>s: alpha proteobacterium</i>	12,53	0,000	OCP/CCP	<i>s: Flavisolibacter ginsenosidimutans</i>	-6,67	0,012	OCP/CCP
<i>s: Flavobacterium longum</i>	-22,52	0,000	OCP/CCP	<i>s: Pelomonas puraquae</i>	2,19	0,012	OCP/CCP
<i>s: Byssovorax cruenta</i>	-22,49	0,000	OCP/CCP	<i>s: Aurantimonas ureilytica</i>	3,15	0,012	OCP/CCP
<i>s: Starkeya koreensis</i>	22,33	0,000	OCP/CCP	<i>s: Gluconacetobacter tumulisoli</i>	-6,32	0,023	OCP/CCP
<i>s: Phenylobacterium muchangponense</i>	-22,31	0,000	OCP/CCP	<i>s: Acidovorax wautersii</i>	10,21	0,023	OCP/CCP
<i>s: Olivibacter terrae</i>	22,21	0,000	OCP/CCP	<i>s: Rivibacter subsaxonicus</i>	9,92	0,026	OCP/CCP
<i>s: Actinoplanes subtropicus</i>	-22,20	0,000	OCP/CCP	<i>s: Sorangiineae bacterium</i>	9,78	0,029	OCP/CCP
<i>s: Dokdonella koreensis</i>	12,34	0,000	OCP/CCP	<i>s: Duganella sacchari</i>	-9,50	0,032	OCP/CCP
<i>s: Rubrivivax gelatinosus</i>	22,06	0,000	OCP/CCP	<i>s: Variovorax defluvii</i>	-9,16	0,040	OCP/CCP
<i>s: Pedobacter agri</i>	-22,01	0,000	OCP/CCP	<i>s: Sphingomonas panacis</i>	-9,07	0,043	OCP/CCP
<i>s: uncultivated soil</i>	-21,97	0,000	OCP/CCP	<i>s: uncultured Armatimonadetes</i>	1,62	0,046	OCP/CCP
<i>s: Novosphingobium oryzae</i>	-21,93	0,000	OCP/CCP	<i>s: Pantoea sp</i>	-5,97	0,055	OCP/CCP
<i>s: Hydrocarboniphaga effusa</i>	21,70	0,000	OCP/CCP	<i>s: Caulobacter sp</i>	-2,21	0,055	OCP/CCP
<i>s: Larkinella bovis</i>	-21,66	0,000	OCP/CCP	<i>s: Aureimonas rubiginis</i>	-8,49	0,073	OCP/CCP
<i>s: Opitutus terrae</i>	-21,66	0,000	OCP/CCP	<i>s: Aeromicrobium ponti</i>	2,57	0,074	OCP/CCP
<i>s: Dyella japonica</i>	-21,45	0,000	OCP/CCP	<i>s: Hymenobacter ginsengisoli</i>	1,99	0,084	OCP/CCP
<i>s: Pseudomonas beteli</i>	-21,44	0,000	OCP/CCP	<i>s: Sphingobium sufflavum</i>	8,19	0,084	OCP/CCP
<i>s: Methylobacterium indicum</i>	-21,41	0,000	OCP/CCP	<i>s: Pantoea dispersa</i>	-2,85	0,086	OCP/CCP
<i>s: Dokdonella fugitiva</i>	-11,09	0,000	OCP/CCP	<i>s: Actinoplanes rhizophilus</i>	-5,49	0,086	OCP/CCP
<i>s: Elizabethkingia miricola</i>	-20,66	0,000	OCP/CCP	<i>s: Nocardioides dilutus</i>	5,36	0,086	OCP/CCP
<i>s: Roseomonas oryzae</i>	20,02	0,000	OCP/CCP	<i>s: Acetobacteraceae bacterium</i>	-8,38	0,086	OCP/CCP
<i>s: Pantoea wallisii</i>	-3,69	0,000	OCP/CCP	<i>s: Luteimonas abyssi</i>	7,02	0,092	OCP/CCP
<i>s: Labrys wisconsinensis</i>	-9,21	0,000	OCP/CCP	<i>s: Mucilaginibacter composti</i>	-7,87	0,092	OCP/CCP
<i>s: Filimonas sp</i>	-11,72	0,000	OCP/CCP	<i>s: Blastocatella fastidiosa</i>	-3,59	0,092	OCP/CCP
<i>s: Luteolibacter pohnpeiensis</i>	-9,34	0,000	OCP/CCP	<i>s: Deinococcus citri</i>	5,25	0,095	OCP/CCP
<i>s: Cystobacter ferrugineus</i>	4,40	0,000	OCP/CCP	<i>s: uncultured bacterium</i>	2,51	0,096	OCP/CCP
<i>s: Burkholderia temeraria</i>	-8,84	0,000	OCP/CCP	<i>s: Rhizobium smilacinae</i>	-1,77	0,099	OCP/CCP
<i>s: Burkholderia concitans</i>	-8,46	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Pseudomonas psychrotolerans</i>	-3,71	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Lactobacillus fuchuensis</i>	-7,91	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Actinomycetales MC</i>	-8,60	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Massilia consociata</i>	-7,97	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Endobacter medicaginis</i>	9,24	0,001	OCP/CCP				
<i>s: Brevundimonas bacteroides</i>	3,85	0,001	OCP/CCP				
<i>s: Filimonas endophytica</i>	3,69	0,001	OCP/CCP				
<i>s: Rhodoferax antarcticus</i>	8,38	0,001	OCP/CCP				
<i>s: Burkholderia plantarii</i>	-3,13	0,001	OCP/CCP				
<i>s: Nubsella zeaxanthinifaciens</i>	13,15	0,002	OCP/CCP				
<i>s: Methylobacterium iners</i>	3,34	0,003	OCP/CCP				
<i>s: Siphonobacter aquaeclarae</i>	2,78	0,003	OCP/CCP				
<i>s: Sediminibacterium sp</i>	-4,50	0,004	OCP/CCP				

Apêndice B. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>p: Monoblepharomycota</i>	21,19	0,000	OSL/CSL	<i>o: Agaricomycetes inc. sed.</i>	-26,11	0,000	ORN/CRN	<i>f: Tremellales inc. sed.</i>	21,42	0,000	OFN/CFN
<i>p: Mucoromycota</i>	-5,47	0,006	OSL/CSL	<i>o: Boletales</i>	-8,84	0,003	ORN/CRN	<i>f: Cyphellaceae</i>	21,03	0,000	OFN/CFN
<i>p: Mortierellomycota</i>	-3,50	0,006	OSL/CSL	<i>o: Glomerellales</i>	-4,40	0,006	ORN/CRN	<i>f: Dissoconiaceae</i>	2,94	0,001	OFN/CFN
<i>p: Basidiomycota</i>	2,00	0,045	OSL/CSL	<i>o: Hymenochaetales</i>	-10,38	0,017	ORN/CRN	<i>f: Capnodiaceae</i>	-7,97	0,001	OFN/CFN
<i>p: Chytridiomycota</i>	-3,27	0,064	OSL/CSL	<i>o: Thelephorales</i>	-11,82	0,017	ORN/CRN	<i>f: Xylariaceae</i>	-7,84	0,027	OFN/CFN
<i>p: Ascomycota</i>	0,38	0,031	OFN/CFN	<i>o: Helotiales</i>	-2,76	0,061	ORN/CRN	<i>f: Chaetothyriales inc. sed.</i>	1,73	0,083	OFN/CFN
<i>p: Basidiomycota</i>	-2,14	0,054	ORN/CRN	<i>o: Trichosporonales</i>	9,01	0,100	ORN/CRN	<i>f: Lentitheciaceae</i>	-5,27	0,088	OFN/CFN
<i>p: Mucoromycota</i>	-3,26	0,054	ORN/CRN	<i>o: Jahnulales</i>	23,64	0,000	ORP/CRP	<i>f: Elsinaceae</i>	-8,95	0,000	OFP/CFP
<i>p: Mucoromycota</i>	-1,99	0,040	ORP/CRP	<i>o: Agaricomycetes inc. sed.</i>	-21,78	0,000	ORP/CRP	<i>f: Dissoconiaceae</i>	2,92	0,000	OFP/CFP
<i>p: Rozellomycota</i>	7,47	0,000	OCP/CCP	<i>o: GS02</i>	21,74	0,000	ORP/CRP	<i>f: Rhynchogastremataceae</i>	2,35	0,000	OFP/CFP
<i>c: Rhizophydiomycetes</i>	-22,04	0,000	OSL/CSL	<i>o: Ustilaginales</i>	-21,28	0,000	ORP/CRP	<i>f: Cyphellaceae</i>	2,81	0,000	OFP/CFP
<i>c: Monoblepharidomycetes</i>	21,62	0,000	OSL/CSL	<i>o: Hymenochaetales</i>	-6,64	0,000	ORP/CRP	<i>f: Polyporaceae</i>	7,59	0,002	OFP/CFP
<i>c: Tremellomycetes</i>	3,45	0,026	OSL/CSL	<i>o: Atheliales</i>	-10,92	0,001	ORP/CRP	<i>f: Symmetrosporaceae</i>	-2,05	0,004	OFP/CFP
<i>c: Mucoromycetes</i>	-5,71	0,044	OSL/CSL	<i>o: Trichosporonales</i>	6,85	0,001	ORP/CRP	<i>f: Erythrobasidiaceae</i>	-2,18	0,005	OFP/CFP
<i>c: Rozellomycotina inc. sed.</i>	8,46	0,075	OSL/CSL	<i>o: Mucorales</i>	-3,44	0,002	ORP/CRP	<i>f: Schizothyriaceae</i>	2,49	0,011	OFP/CFP
<i>c: Dothideomycetes</i>	0,71	0,001	OFN/CFN	<i>o: Helotiales</i>	-3,58	0,003	ORP/CRP	<i>f: Bulleraceae</i>	-1,85	0,011	OFP/CFP
<i>c: Eurotiomycetes</i>	1,03	0,004	OFN/CFN	<i>o: Filobasidiales</i>	2,28	0,007	ORP/CRP	<i>f: Phaeococcomycetaceae</i>	-3,60	0,036	OFP/CFP
<i>c: Spiculogloeomycetes</i>	-4,21	0,028	OFN/CFN	<i>o: Polyporales</i>	3,60	0,008	ORP/CRP	<i>f: Lachnocladiaceae</i>	-6,30	0,087	OFP/CFP
<i>c: Agaricomycetes</i>	0,93	0,092	OFN/CFN	<i>o: Thelephorales</i>	-9,14	0,020	ORP/CRP	<i>f: Lentitheciaceae</i>	-1,14	0,087	OFP/CFP
<i>c: Cystobasidiomycetes</i>	-2,08	0,000	OFP/CFP	<i>o: Erythrobasidiales</i>	21,82	0,000	OCN/CCN	<i>f: Agaricomycetes inc. sed.</i>	-25,57	0,000	ORN/CRN
<i>c: Arthoniomycetes</i>	-3,72	0,003	OFP/CFP	<i>o: Agaricostilbales</i>	-21,70	0,000	OCN/CCN	<i>f: Hyaloscyphaceae</i>	-23,71	0,000	ORN/CRN
<i>c: Spiculogloeomycetes</i>	-1,42	0,084	OFP/CFP	<i>o: Articulariales</i>	19,64	0,000	OCN/CCN	<i>f: Glomerellaceae</i>	-12,16	0,000	ORN/CRN
<i>c: Leotiomycetes</i>	-2,43	0,015	ORN/CRN	<i>o: Cantharellales</i>	9,06	0,000	OCN/CCN	<i>f: Microdochiaceae</i>	21,85	0,000	ORN/CRN
<i>c: Rozellomycotina inc. sed.</i>	22,44	0,000	ORP/CRP	<i>o: Conioscyphales</i>	-10,06	0,000	OCN/CCN	<i>f: Pluteaceae</i>	-21,80	0,000	ORN/CRN
<i>c: Ustilaginomycetes</i>	-20,70	0,000	ORP/CRP	<i>o: Myrmecridiales</i>	-10,99	0,002	OCN/CCN	<i>f: Hyaloriaceae</i>	-10,37	0,000	ORN/CRN
<i>c: Leotiomycetes</i>	-3,02	0,004	ORP/CRP	<i>o: Dothideales</i>	-8,43	0,045	OCN/CCN	<i>f: Niaceae</i>	12,19	0,000	ORN/CRN
<i>c: Mucoromycetes</i>	-2,78	0,028	ORP/CRP	<i>o: Pleurotheciales</i>	-7,59	0,097	OCN/CCN	<i>f: Cuniculitremaceae</i>	-8,09	0,003	ORN/CRN
<i>c: Saccharomycetes</i>	-22,03	0,000	OCN/CCN	<i>o: GS02</i>	7,61	0,002	OCP/CCP	<i>f: Coniophoraceae</i>	-8,40	0,003	ORN/CRN
<i>c: Tremellomycetes</i>	-3,92	0,028	OCN/CCN	<i>o: Agaricostilbales</i>	4,14	0,002	OCP/CCP	<i>f: Testudinaceae</i>	7,98	0,008	ORN/CRN
<i>c: Rozellomycotina inc. sed.</i>	7,53	0,000	OCP/CCP	<i>o: Corticiales</i>	-5,37	0,038	OCP/CCP	<i>f: Xylariales inc. sed.</i>	-6,71	0,023	ORN/CRN
<i>o: Sporidiobolales</i>	-23,37	0,000	OSL/CSL	<i>o: Trichosphaeriales</i>	1,94	0,038	OCP/CCP	<i>f: Hymenochaetales inc. sed.</i>	-9,71	0,024	ORN/CRN
<i>o: Rhizophydiales</i>	-23,25	0,000	OSL/CSL	<i>o: Filobasidiales</i>	-5,94	0,049	OCP/CCP	<i>f: Morosphaeriaceae</i>	7,05	0,045	ORN/CRN
<i>o: Agaricomycetes inc. sed.</i>	-21,75	0,000	OSL/CSL	<i>o: Glomerellales</i>	-2,24	0,049	OCP/CCP	<i>f: Cordycipitaceae</i>	-9,44	0,053	ORN/CRN
<i>o: Corticiales</i>	-14,15	0,000	OSL/CSL	<i>o: Microthyriales</i>	-5,91	0,049	OCP/CCP	<i>f: Agaricaceae</i>	-5,01	0,053	ORN/CRN
<i>o: Trichosporonales</i>	9,55	0,000	OSL/CSL	<i>f: Marasmiaceae</i>	-23,62	0,000	OSL/CSL	<i>f: Trichosporonaceae</i>	9,54	0,053	ORN/CRN
<i>o: Mucorales</i>	-6,89	0,004	OSL/CSL	<i>f: Kappamycetaceae</i>	-23,44	0,000	OSL/CSL	<i>f: Sebacinaceae</i>	-9,85	0,056	ORN/CRN
<i>o: Filobasidiales</i>	3,73	0,055	OSL/CSL	<i>f: Sporidiobolaceae</i>	-23,25	0,000	OSL/CSL	<i>f: Entolomataceae</i>	-4,26	0,076	ORN/CRN
<i>o: Myrmecridiales</i>	-8,29	0,057	OSL/CSL	<i>f: Coniothyriaceae</i>	22,34	0,000	OSL/CSL	<i>f: Stephanosporaceae</i>	-4,42	0,095	ORN/CRN
<i>o: Onygenales</i>	-8,79	0,076	OSL/CSL	<i>f: Glomeraceae</i>	-21,81	0,000	OSL/CSL	<i>f: Myxotrichaceae</i>	-24,79	0,000	ORP/CRP
<i>o: Spizellomycetales</i>	-3,89	0,081	OSL/CSL	<i>f: Peniophoraceae</i>	20,95	0,000	OSL/CSL	<i>f: Morosphaeriaceae</i>	24,60	0,000	ORP/CRP
<i>o: Mortierellales</i>	-3,60	0,091	OSL/CSL	<i>f: Corticiaceae</i>	-13,73	0,000	OSL/CSL	<i>f: Aliquandostipitaceae</i>	23,88	0,000	ORP/CRP
<i>o: Myriangiiales</i>	-9,00	0,000	OFP/CFP	<i>f: Trichosporonaceae</i>	10,00	0,000	OSL/CSL	<i>f: Onygenales inc. sed.</i>	21,51	0,000	ORP/CRP
<i>o: Cystobasidiomycetes inc. sed.</i>	-2,04	0,004	OFP/CFP	<i>f: Rhizopodaceae</i>	-11,05	0,009	OSL/CSL	<i>f: Agaricomycetes inc. sed.</i>	-21,39	0,000	ORP/CRP
<i>o: Erythrobasidiales</i>	-2,17	0,005	OFP/CFP	<i>f: Filobasidiaceae</i>	4,84	0,038	OSL/CSL	<i>f: Chrysozymaceae</i>	21,17	0,000	ORP/CRP
<i>o: Lichenostigmatales</i>	-3,61	0,022	OFP/CFP	<i>f: Myrmecridiaceae</i>	-8,07	0,080	OSL/CSL	<i>f: Niaceae</i>	21,01	0,000	ORP/CRP
<i>o: Capnodiaceae</i>	1,70	0,024	OFP/CFP	<i>f: Piskurozymaceae</i>	4,11	0,083	OSL/CSL	<i>f: Ustilaginaceae</i>	-20,89	0,000	ORP/CRP
<i>o: Glomerellales</i>	-1,59	0,065	OFP/CFP	<i>f: Bulleraceae</i>	-21,81	0,000	OFN/CFN	<i>f: Hyphodermataceae</i>	8,54	0,000	ORP/CRP

(Continuação) Apêndice B. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>f: Hyaloriaceae</i>	-8,60	0,000	ORP/CRP	<i>f: Trichosphaeriaceae</i>	1,76	0,028	OCP/CCP	<i>g: Elsinoe</i>	-9,86	0,000	OFF/CFP
<i>f: Piskurozymaceae</i>	2,64	0,000	ORP/CRP	<i>f: Atractiellales inc. sed.</i>	8,36	0,029	OCP/CCP	<i>g: Dissoconium</i>	4,67	0,000	OFF/CFP
<i>f: Hymenochaetales inc. sed.</i>	-5,92	0,002	ORP/CRP	<i>f: Dothioraceae</i>	-6,96	0,032	OCP/CCP	<i>g: Vishniacozyma</i>	-4,12	0,000	OFF/CFP
<i>f: Trichosporonaceae</i>	7,12	0,007	ORP/CRP	<i>f: Filobasidiaceae</i>	-6,07	0,078	OCP/CCP	<i>g: Ramichloridium</i>	2,92	0,000	OFF/CFP
<i>f: Cunninghamellaceae</i>	-2,86	0,008	ORP/CRP	<i>f: Tetraplospiraeriacae</i>	-2,36	0,078	OCP/CCP	<i>g: Papiliotrema</i>	2,38	0,000	OFF/CFP
<i>f: Capnodiaceae</i>	1,93	0,009	ORP/CRP	<i>f: Microthyriales inc. sed.</i>	-6,17	0,078	OCP/CCP	<i>g: Dioszegia</i>	-2,09	0,002	OFF/CFP
<i>f: Cordycipitaceae</i>	-5,27	0,009	ORP/CRP	<i>f: Corticiaceae</i>	-5,36	0,083	OCP/CCP	<i>g: Zasmidium</i>	7,75	0,003	OFF/CFP
<i>f: Microbotryomycetes inc. sed.</i>	-7,69	0,012	ORP/CRP	<i>f: Trichomeriaceae</i>	1,45	0,083	OCP/CCP	<i>g: Genolevuria</i>	-2,20	0,003	OFF/CFP
<i>f: Diversisporaceae</i>	8,61	0,018	ORP/CRP	<i>f: Conioscyphaceae</i>	-2,13	0,092	OCP/CCP	<i>g: Symmetrospora</i>	-1,99	0,007	OFF/CFP
<i>f: Atheliaceae</i>	-10,33	0,018	ORP/CRP	<i>g: Laetisaria</i>	-27,58	0,000	OSL/CSL	<i>g: Erythrobasidium</i>	-2,10	0,011	OFF/CFP
<i>f: Agaricaceae</i>	-4,06	0,021	ORP/CRP	<i>g: Apiosordaria</i>	-24,57	0,000	OSL/CSL	<i>g: Zygothia</i>	2,54	0,012	OFF/CFP
<i>f: Testudinaceae</i>	3,04	0,021	ORP/CRP	<i>g: Subramaniula</i>	-24,87	0,000	OSL/CSL	<i>g: Gaeumannomyces</i>	3,35	0,014	OFF/CFP
<i>f: Typhulaceae</i>	-10,00	0,022	ORP/CRP	<i>g: Corynascella</i>	-24,27	0,000	OSL/CSL	<i>g: Phaeococcomyces</i>	-3,53	0,060	OFF/CFP
<i>f: Entolomataceae</i>	-4,30	0,026	ORP/CRP	<i>g: Marasmius</i>	-23,74	0,000	OSL/CSL	<i>g: Stomiopeltis</i>	1,71	0,089	OFF/CFP
<i>f: Ceratobasidiaceae</i>	2,77	0,026	ORP/CRP	<i>g: Nectriopsis</i>	-23,70	0,000	OSL/CSL	<i>g: Glomerella</i>	-1,80	0,089	OFF/CFP
<i>f: Cyphellaceae</i>	4,38	0,049	ORP/CRP	<i>g: Kappamyces</i>	-23,57	0,000	OSL/CSL	<i>g: Xenasmatella</i>	-25,99	0,000	ORN/CRN
<i>f: Omphalotaceae</i>	-9,05	0,051	ORP/CRP	<i>g: Chaetosphaeria</i>	-23,75	0,000	OSL/CSL	<i>g: Paratrimmatostroma</i>	24,18	0,000	ORN/CRN
<i>f: Bolbitiaceae</i>	3,38	0,060	ORP/CRP	<i>g: Pseudocoleophoma</i>	23,29	0,000	OSL/CSL	<i>g: Leucoagaricus</i>	-26,27	0,000	ORN/CRN
<i>f: Capnodiales inc. sed.</i>	-8,80	0,060	ORP/CRP	<i>g: Rhodosporidiobolus</i>	-23,21	0,000	OSL/CSL	<i>g: Dichostereum</i>	27,00	0,000	ORN/CRN
<i>f: Venturiaceae</i>	9,15	0,083	ORP/CRP	<i>g: Coniothyrium</i>	22,52	0,000	OSL/CSL	<i>g: Efibulobasidium</i>	-23,49	0,000	ORN/CRN
<i>f: Leptosphaeriaceae</i>	9,04	0,098	ORP/CRP	<i>g: Microascus</i>	22,17	0,000	OSL/CSL	<i>g: Simplicillium</i>	-23,15	0,000	ORN/CRN
<i>f: Xenasmataceae</i>	23,23	0,000	OCN/CCN	<i>g: Arxiella</i>	-22,46	0,000	OSL/CSL	<i>g: Lecythophora</i>	-22,93	0,000	ORN/CRN
<i>f: Bionectriaceae</i>	-22,22	0,000	OCN/CCN	<i>g: Tulostoma</i>	22,14	0,000	OSL/CSL	<i>g: Stachylidium</i>	-22,89	0,000	ORN/CRN
<i>f: Chionosphaeraceae</i>	-21,86	0,000	OCN/CCN	<i>g: Rhizoctonia</i>	22,22	0,000	OSL/CSL	<i>g: Immersiella</i>	22,52	0,000	ORN/CRN
<i>f: Erythrobasidiaceae</i>	21,48	0,000	OCN/CCN	<i>g: Lecanicillium</i>	-21,87	0,000	OSL/CSL	<i>g: Rinaldiella</i>	22,12	0,000	ORN/CRN
<i>f: Trichomeriaceae</i>	20,88	0,000	OCN/CCN	<i>g: Peniophora</i>	21,25	0,000	OSL/CSL	<i>g: Cuniculitrema</i>	-22,16	0,000	ORN/CRN
<i>f: Cyphellophoraceae</i>	20,80	0,000	OCN/CCN	<i>g: Coprinopsis</i>	-21,15	0,000	OSL/CSL	<i>g: Pluteus</i>	-21,96	0,000	ORN/CRN
<i>f: Ceratobasidiaceae</i>	8,91	0,001	OCN/CCN	<i>g: Oedogoniomyces</i>	21,18	0,000	OSL/CSL	<i>g: Microdochium</i>	21,55	0,000	ORN/CRN
<i>f: Conioscyphaceae</i>	-10,27	0,001	OCN/CCN	<i>g: Trichosporon</i>	11,83	0,000	OSL/CSL	<i>g: Micropsalliota</i>	21,07	0,000	ORN/CRN
<i>f: Sebacinaceae</i>	12,05	0,001	OCN/CCN	<i>g: Rhizopus</i>	-10,86	0,008	OSL/CSL	<i>g: Bahusakala</i>	20,72	0,000	ORN/CRN
<i>f: Steccherinaceae</i>	11,15	0,003	OCN/CCN	<i>g: Apiotrichum</i>	9,77	0,011	OSL/CSL	<i>g: Glomerella</i>	-12,25	0,000	ORN/CRN
<i>f: Hypocreaceae</i>	6,65	0,003	OCN/CCN	<i>g: Mycothermus</i>	10,55	0,017	OSL/CSL	<i>g: Natantispora</i>	11,31	0,000	ORN/CRN
<i>f: Myrmecridiaceae</i>	-10,90	0,003	OCN/CCN	<i>g: Micropsalliota</i>	8,37	0,061	OSL/CSL	<i>g: Hyalorbilia</i>	-10,80	0,000	ORN/CRN
<i>f: Corticiaceae</i>	-9,15	0,019	OCN/CCN	<i>g: Vermispora</i>	-8,69	0,080	OSL/CSL	<i>g: Coniophora</i>	-8,60	0,007	ORN/CRN
<i>f: Aureobasidiaceae</i>	-8,77	0,029	OCN/CCN	<i>g: Myrmecridium</i>	-8,06	0,081	OSL/CSL	<i>g: Resinicium</i>	-9,75	0,009	ORN/CRN
<i>f: Cucurbitariaceae</i>	7,74	0,033	OCN/CCN	<i>g: Pseudodactylaria</i>	-8,43	0,081	OSL/CSL	<i>g: Panaeolus</i>	-10,50	0,009	ORN/CRN
<i>f: Tremellaceae</i>	-6,26	0,043	OCN/CCN	<i>g: Orbilia</i>	-8,67	0,081	OSL/CSL	<i>g: Tetrapyrgos</i>	10,23	0,011	ORN/CRN
<i>f: Xylariaceae</i>	-7,10	0,058	OCN/CCN	<i>g: Remersonia</i>	-8,60	0,081	OSL/CSL	<i>g: Apiotrichum</i>	9,45	0,024	ORN/CRN
<i>f: Chaetosphaeriaceae</i>	-7,70	0,062	OCN/CCN	<i>g: Xepicula</i>	-8,36	0,082	OSL/CSL	<i>g: Acrocallymma</i>	7,51	0,035	ORN/CRN
<i>f: Pleurotheciaceae</i>	-7,44	0,067	OCN/CCN	<i>g: Leucoagaricus</i>	-8,47	0,084	OSL/CSL	<i>g: Kockovaella</i>	-7,90	0,042	ORN/CRN
<i>f: Polyporaceae</i>	25,24	0,000	OCP/CCP	<i>g: Lasiodiplodia</i>	-8,20	0,089	OSL/CSL	<i>g: Arnium</i>	6,84	0,042	ORN/CRN
<i>f: Steccherinaceae</i>	9,15	0,000	OCP/CCP	<i>g: Deroxomyces</i>	-21,96	0,000	OFN/CFN	<i>g: Ceratocystis</i>	-8,76	0,054	ORN/CRN
<i>f: Chionosphaeraceae</i>	4,21	0,019	OCP/CCP	<i>g: Vishniacozyma</i>	-21,89	0,000	OFN/CFN	<i>g: Fusidium</i>	-6,89	0,054	ORN/CRN
<i>f: Glomerellaceae</i>	-2,51	0,019	OCP/CCP	<i>g: Mingxiaea</i>	21,29	0,000	OFN/CFN	<i>g: Chaetosphaeria</i>	-7,71	0,071	ORN/CRN
<i>f: Chaetothyriales inc. sed.</i>	1,80	0,019	OCP/CCP	<i>g: Stagonosporopsis</i>	20,68	0,000	OFN/CFN	<i>g: Clitopilus</i>	-6,46	0,086	ORN/CRN
<i>f: Irpicaceae</i>	9,11	0,027	OCP/CCP	<i>g: Antennariella</i>	-8,17	0,005	OFN/CFN	<i>g: Sporothrix</i>	-7,98	0,087	ORN/CRN
<i>f: Cordycipitaceae</i>	6,39	0,027	OCP/CCP	<i>g: Zygosporium</i>	-7,95	0,060	OFN/CFN	<i>g: Lecythophora</i>	-24,97	0,000	ORP/CRP

(Continuação) Apêndice B. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>g: Oidiodendron</i>	-24,80	0,000	ORP/CRP	<i>g: Conioscypha</i>	-9,86	0,005	OCN/CCN	<i>s: Talaromyces ucrainicus</i>	21,95	0,000	OSL/CSL
<i>g: Dichostereum</i>	24,81	0,000	ORP/CRP	<i>g: Myrmecridium</i>	-10,75	0,012	OCN/CCN	<i>s: Lecanicillium kalimantanense</i>	-21,84	0,000	OSL/CSL
<i>g: Acrocalymma</i>	24,52	0,000	ORP/CRP	<i>g: Trichoderma</i>	-8,18	0,037	OCN/CCN	<i>s: Mortierella fatschederae</i>	-21,62	0,000	OSL/CSL
<i>g: Xylomyces</i>	23,96	0,000	ORP/CRP	<i>g: Spegazzinia</i>	-7,95	0,041	OCN/CCN	<i>s: Pseudocoleophoma bauhiniae</i>	21,68	0,000	OSL/CSL
<i>g: Bahusakala</i>	22,08	0,000	ORP/CRP	<i>g: Marchandiomyces</i>	-8,87	0,053	OCN/CCN	<i>s: Peniophora laxitexta</i>	21,10	0,000	OSL/CSL
<i>g: Micropsalliota</i>	21,98	0,000	ORP/CRP	<i>g: Pyrenochaetopsis</i>	7,62	0,085	OCN/CCN	<i>s: Solioccocozyma phenolica</i>	12,22	0,000	OSL/CSL
<i>g: Corymbiglomus</i>	21,67	0,000	ORP/CRP	<i>g: Aureobasidium</i>	-8,25	0,085	OCN/CCN	<i>s: Trichosporon asahii</i>	10,98	0,001	OSL/CSL
<i>g: Chrysosporium</i>	21,59	0,000	ORP/CRP	<i>g: Tremella</i>	-6,26	0,090	OCN/CCN	<i>s: Rhizopus arrhizus</i>	-11,17	0,011	OSL/CSL
<i>g: Xenasmatella</i>	-21,50	0,000	ORP/CRP	<i>g: Geastrumia</i>	-7,84	0,097	OCN/CCN	<i>s: Penicillium citrinum</i>	-9,46	0,017	OSL/CSL
<i>g: Subramaniula</i>	-21,44	0,000	ORP/CRP	<i>g: Stagonosporopsis</i>	23,54	0,000	OCP/CCP	<i>s: Aspergillus flavus</i>	-8,46	0,030	OSL/CSL
<i>g: Synnemellisia</i>	21,29	0,000	ORP/CRP	<i>g: Steccherinum</i>	21,86	0,000	OCP/CCP	<i>s: Apiotrichum dehoogii</i>	8,77	0,041	OSL/CSL
<i>g: Apiotrichum</i>	11,40	0,000	ORP/CRP	<i>g: Kurtzmanomyces</i>	10,91	0,000	OCP/CCP	<i>s: Martarhizium carneum</i>	8,32	0,048	OSL/CSL
<i>g: Chaetosphaeria</i>	-11,01	0,000	ORP/CRP	<i>g: Geastrumia</i>	-9,20	0,000	OCP/CCP	<i>s: Mycothermus thermophilus</i>	9,65	0,051	OSL/CSL
<i>g: Pseudocoleophoma</i>	9,92	0,000	ORP/CRP	<i>g: Fusariella</i>	-8,51	0,001	OCP/CCP	<i>s: Myrmecridium thailandicum</i>	-9,39	0,068	OSL/CSL
<i>g: Hyphoderma</i>	8,33	0,001	ORP/CRP	<i>g: Ophiosphaerella</i>	4,20	0,007	OCP/CCP	<i>s: Aspergillus chlamydosporus</i>	-9,03	0,075	OSL/CSL
<i>g: Arnium</i>	10,25	0,003	ORP/CRP	<i>g: Coniochaeta</i>	-5,79	0,018	OCP/CCP	<i>s: Vermispora fusarina</i>	-8,93	0,080	OSL/CSL
<i>g: Fusariella</i>	-7,31	0,004	ORP/CRP	<i>g: Trichoderma</i>	-5,04	0,030	OCP/CCP	<i>s: Staphylotrichum boninense</i>	9,01	0,081	OSL/CSL
<i>g: Resinicium</i>	-6,09	0,008	ORP/CRP	<i>g: Ceriporia</i>	9,06	0,030	OCP/CCP	<i>s: Pseudodactylaria xanthorrhoeae</i>	-8,69	0,082	OSL/CSL
<i>g: Bisifusarium</i>	10,82	0,012	ORP/CRP	<i>g: Trichomerium</i>	2,52	0,030	OCP/CCP	<i>s: Xepicula leucotricha</i>	-8,67	0,082	OSL/CSL
<i>g: Immersiella</i>	8,34	0,013	ORP/CRP	<i>g: Lecanicillium</i>	6,54	0,030	OCP/CCP	<i>s: Remersonia thermophila</i>	-8,85	0,082	OSL/CSL
<i>g: Aspergillus</i>	-3,61	0,017	ORP/CRP	<i>g: Helicogloea</i>	8,34	0,031	OCP/CCP	<i>s: Orbilia cejpai</i>	-8,81	0,093	OSL/CSL
<i>g: Simplicillium</i>	-5,86	0,017	ORP/CRP	<i>g: Hormonema</i>	-6,84	0,052	OCP/CCP	<i>s: Zygosporium pseudogibbum</i>	-23,65	0,000	OFN/CFN
<i>g: Colacogloea</i>	-7,78	0,018	ORP/CRP	<i>g: Glomerella</i>	-2,45	0,055	OCP/CCP	<i>s: Aureobasidium leucospermi</i>	-21,83	0,000	OFN/CFN
<i>g: Natantisporea</i>	10,07	0,019	ORP/CRP	<i>g: Sporisorium</i>	-8,04	0,055	OCP/CCP	<i>s: Vishniacozyma dimennae</i>	-21,68	0,000	OFN/CFN
<i>g: Athelia</i>	-10,40	0,023	ORP/CRP	<i>g: Phaeocystostroma</i>	8,31	0,062	OCP/CCP	<i>s: Mingxiaea panici</i>	21,46	0,000	OFN/CFN
<i>g: Gelasinospora</i>	9,66	0,026	ORP/CRP	<i>g: Passalora</i>	7,66	0,062	OCP/CCP	<i>s: Phaeosphaeria oryzae</i>	21,00	0,000	OFN/CFN
<i>g: Sclerotium</i>	-10,07	0,028	ORP/CRP	<i>g: Laetisaria</i>	-8,77	0,071	OCP/CCP	<i>s: Fusarium oxysporum</i>	-8,35	0,014	OFN/CFN
<i>g: Geminibasidium</i>	9,63	0,050	ORP/CRP	<i>g: Strelitziana</i>	1,88	0,077	OCP/CCP	<i>s: Saitozyma podzolica</i>	-8,13	0,014	OFN/CFN
<i>g: Mycothermus</i>	9,16	0,052	ORP/CRP	<i>g: Pseudoramichloridium</i>	-2,50	0,089	OCP/CCP	<i>s: Antennariella placitae</i>	-7,89	0,016	OFN/CFN
<i>g: Marasmiellus</i>	-9,06	0,057	ORP/CRP	<i>g: Naganishia</i>	-5,97	0,089	OCP/CCP	<i>s: Aspergillus nomius</i>	-22,17	0,000	OFF/CFP
<i>g: Pseudoramichloridium</i>	-8,85	0,064	ORP/CRP	<i>g: Neohelicomyces</i>	-6,17	0,090	OCP/CCP	<i>s: Dissoconium eucalypti</i>	4,26	0,000	OFF/CFP
<i>g: Sympodiella</i>	8,96	0,067	ORP/CRP	<i>g: Parazalerion</i>	-6,17	0,090	OCP/CCP	<i>s: Vishniacozyma dimennae</i>	-3,96	0,000	OFF/CFP
<i>g: Beauveria</i>	-6,79	0,074	ORP/CRP	<i>s: Apiotrichum lignicola</i>	26,55	0,000	OSL/CSL	<i>s: Ramichloridium apiculatum</i>	3,16	0,000	OFF/CFP
<i>g: Chloridium</i>	-3,84	0,077	ORP/CRP	<i>s: Pseudorobillarda phragmitis</i>	-26,32	0,000	OSL/CSL	<i>s: Coniothyrium crepinianum</i>	22,74	0,000	OFF/CFP
<i>g: Panaeolus</i>	-8,46	0,077	ORP/CRP	<i>s: Apiosordaria stercoraria</i>	-24,35	0,000	OSL/CSL	<i>s: Papiliotrema nemorosus</i>	3,87	0,000	OFF/CFP
<i>g: Stachybotrys</i>	8,59	0,077	ORP/CRP	<i>s: Corynascella humicola</i>	-24,24	0,000	OSL/CSL	<i>s: Nigrospora zimmermanii</i>	2,12	0,001	OFF/CFP
<i>g: Clitopilus</i>	-5,61	0,092	ORP/CRP	<i>s: Penicillium ochrosalmoneum</i>	-23,81	0,000	OSL/CSL	<i>s: Dioszegia var: zsoitii</i>	-1,94	0,002	OFF/CFP
<i>g: Xenasma</i>	22,95	0,000	OCN/CCN	<i>s: Nectriopsis exigua</i>	-23,67	0,000	OSL/CSL	<i>s: Gaeumannomyces arxii</i>	3,50	0,015	OFF/CFP
<i>g: Fusariella</i>	-22,99	0,000	OCN/CCN	<i>s: Chaetomium pachypodioides</i>	-23,76	0,000	OSL/CSL	<i>s: Paraphaeosphaeria michotii</i>	-1,15	0,019	OFF/CFP
<i>g: Synnemellisia</i>	-22,81	0,000	OCN/CCN	<i>s: Marasmius rubrobrunneus</i>	-23,39	0,000	OSL/CSL	<i>s: Papiliotrema pseudoalba</i>	-1,73	0,019	OFF/CFP
<i>g: Steccherinum</i>	22,19	0,000	OCN/CCN	<i>s: Stagonospora bicolor</i>	-22,86	0,000	OSL/CSL	<i>s: Genolevuria amylolytica</i>	-2,16	0,022	OFF/CFP
<i>g: Helicosporium</i>	22,05	0,000	OCN/CCN	<i>s: Coniothyrium crepinianum</i>	22,68	0,000	OSL/CSL	<i>s: Symmetrospora marina</i>	-1,58	0,024	OFF/CFP
<i>g: Kurtzmanomyces</i>	-21,74	0,000	OCN/CCN	<i>s: Acremonium fusidioides</i>	22,63	0,000	OSL/CSL	<i>s: Genolevuria armeniaca</i>	-1,94	0,037	OFF/CFP
<i>g: Erythrobasidium</i>	21,19	0,000	OCN/CCN	<i>s: Rhodosporidiobolus lusitaniae</i>	-22,76	0,000	OSL/CSL	<i>s: Xenasmatella christiansenii</i>	-25,63	0,000	ORN/CRN
<i>g: Acremonium</i>	-12,25	0,001	OCN/CCN	<i>s: Arxiella dolichandrae</i>	-22,43	0,000	OSL/CSL	<i>s: Mycena abramsii</i>	25,67	0,000	ORN/CRN
<i>g: Monocillium</i>	10,17	0,002	OCN/CCN	<i>s: Subramaniula obscura</i>	-22,01	0,000	OSL/CSL	<i>s: Paratrimmatostroma kunmingensis</i>	24,42	0,000	ORN/CRN
<i>g: Ceratobasidium</i>	8,91	0,003	OCN/CCN	<i>s: Scytalidium lignicola</i>	-22,19	0,000	OSL/CSL	<i>s: Acremonium furcatum</i>	23,71	0,000	ORN/CRN

(Continuação) Apêndice B. Táxons fúngicos diferencialmente abundantes, segundo DESeq2. Apenas aqueles com p-valor corrigido (FDR) < 0,1 foram considerados DA. O logFC indica o número de vezes o qual um táxon é mais abundante para um determinado nicho quando comparados os tratamentos, onde valores positivos indicam abundância acrescida no tratamento “Orgânico” e valores negativos no tratamento “Convencional”.

Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste	Táxon	logFC	pvalor (FDR)	Contraste
<i>s: Simplicillium chinense</i>	-23,04	0,000	ORN/CRN	<i>s: Natantispota retorquens</i>	10,21	0,012	ORP/CRP	<i>s: Trichoderma lixii</i>	-5,09	0,042	OCP/CCP
<i>s: Immersiella caudata</i>	22,27	0,000	ORN/CRN	<i>s: Arthrinium jatrophae</i>	10,17	0,012	ORP/CRP	<i>s: Lecanicillium dimorphum</i>	6,43	0,046	OCP/CCP
<i>s: Sarocladium hominis</i>	22,37	0,000	ORN/CRN	<i>s: Athelia rolfsii</i>	-10,12	0,016	ORP/CRP	<i>s: Periconia echinoclaoe</i>	-6,42	0,048	OCP/CCP
<i>s: Talaromyces trachyspermus</i>	22,03	0,000	ORN/CRN	<i>s: Gelasinospora saitoi</i>	9,76	0,018	ORP/CRP	<i>s: Nigrospora zimmermanii</i>	2,37	0,048	OCP/CCP
<i>s: Cuniculitrema polymorpha</i>	-21,89	0,000	ORN/CRN	<i>s: Sclerotium coffeicola</i>	-9,79	0,021	ORP/CRP	<i>s: Helicogloea septifera</i>	8,37	0,049	OCP/CCP
<i>s: Marasmius rotalis</i>	21,83	0,000	ORN/CRN	<i>s: Simplicillium chinense</i>	-9,77	0,023	ORP/CRP	<i>s: Trichomerium eucalypti</i>	2,50	0,056	OCP/CCP
<i>s: Pluteus albostipitatus</i>	-21,69	0,000	ORN/CRN	<i>s: Immersiella caudata</i>	8,50	0,029	ORP/CRP	<i>s: Hormonema viticola</i>	-6,84	0,057	OCP/CCP
<i>s: Sarocladium bactrocephalum</i>	-21,66	0,000	ORN/CRN	<i>s: Mycothermus thermophilus</i>	9,32	0,032	ORP/CRP	<i>s: Hannaella oryzae</i>	8,69	0,064	OCP/CCP
<i>s: Bahusakala longispora</i>	20,95	0,000	ORN/CRN	<i>s: Sarocladium strictum</i>	-8,89	0,043	ORP/CRP	<i>s: Sporisorium scitamineum</i>	-8,08	0,078	OCP/CCP
<i>s: Talaromyces austrocalifornicus</i>	20,75	0,000	ORN/CRN	<i>s: Sympodiella goidanichii</i>	9,08	0,043	ORP/CRP	<i>s: Passalora lobeliae fistulosae</i>	7,66	0,084	OCP/CCP
<i>s: Mariannaea fusiformis</i>	20,63	0,000	ORN/CRN	<i>s: Marasmiellus candidus</i>	-8,87	0,044	ORP/CRP	<i>s: Curvularia trifolii</i>	7,70	0,084	OCP/CCP
<i>s: Glomerella tucumanensis</i>	-12,00	0,000	ORN/CRN	<i>s: Resinicium saccharicola</i>	-5,82	0,045	ORP/CRP	<i>s: Glomerella tucumanensis</i>	-2,51	0,084	OCP/CCP
<i>s: Natantispota retorquens</i>	11,57	0,001	ORN/CRN	<i>s: Pseudoramichloridium brasilianum</i>	-8,60	0,053	ORP/CRP	<i>s: Phaeocystostroma sacchari</i>	8,20	0,084	OCP/CCP
<i>s: Fusarium concentricum</i>	-11,02	0,001	ORN/CRN	<i>s: Saitozyma flava</i>	8,81	0,056	ORP/CRP	<i>s: Pseudoramichloridium brasilianum</i>	-2,56	0,095	OCP/CCP
<i>s: Hyalorbilia juliae</i>	-10,60	0,002	ORN/CRN	<i>s: Penicillium brevicompactum</i>	8,62	0,057	ORP/CRP	<i>s: Naganishia vaughanmartinae</i>	-5,98	0,095	OCP/CCP
<i>s: Trichoderma hamatum</i>	-10,99	0,013	ORN/CRN	<i>s: Synnemellisia aurantia</i>	-23,59	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Resinicium saccharicola</i>	-9,76	0,014	ORN/CRN	<i>s: Papiliotrema flavescens</i>	-23,25	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Apiotrichum dehoogii</i>	9,62	0,039	ORN/CRN	<i>s: Xenasma pruinatum</i>	21,96	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Curvularia lunata</i>	-8,12	0,052	ORN/CRN	<i>s: Dactylella leptospora</i>	21,22	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Kockovaella litseae</i>	-7,71	0,091	ORN/CRN	<i>s: Pseudopithomyces karoo</i>	21,11	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Aspergillus nomius</i>	-25,44	0,000	ORP/CRP	<i>s: Aspergillus nomius</i>	20,91	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Phaeosphaeria caricis</i>	22,67	0,000	ORP/CRP	<i>s: Acremonium persicinum</i>	-12,82	0,000	OCN/CCN				
<i>s: Synnemellisia aurantia</i>	22,32	0,000	ORP/CRP	<i>s: Conioscypha pleiomorpha</i>	-10,34	0,005	OCN/CCN				
<i>s: Bahusakala longispora</i>	22,28	0,000	ORP/CRP	<i>s: Monocillium dimorphosporum</i>	9,64	0,006	OCN/CCN				
<i>s: Phialocephala humicola</i>	-22,15	0,000	ORP/CRP	<i>s: Bipolaris yamadade</i>	-9,90	0,007	OCN/CCN				
<i>s: Fusarium concentricum</i>	-22,10	0,000	ORP/CRP	<i>s: Myrmecridium schulzeri</i>	-11,48	0,008	OCN/CCN				
<i>s: Metarhizium marquandii</i>	-21,94	0,000	ORP/CRP	<i>s: Sarocladium implicatum</i>	-11,26	0,009	OCN/CCN				
<i>s: Mariannaea fusiformis</i>	21,90	0,000	ORP/CRP	<i>s: Spegazzinia tessarthra</i>	-8,52	0,027	OCN/CCN				
<i>s: Stachybotrys aloeticola</i>	21,79	0,000	ORP/CRP	<i>s: Marchandiomyces lignicola</i>	-9,70	0,032	OCN/CCN				
<i>s: Chrysosporium lobatum</i>	21,68	0,000	ORP/CRP	<i>s: Trichoderma lixii</i>	-8,84	0,061	OCN/CCN				
<i>s: Xenasmatella christiansenii</i>	-21,59	0,000	ORP/CRP	<i>s: Geastrumia polystigmatis</i>	-8,63	0,064	OCN/CCN				
<i>s: Mortierella umbellata</i>	-21,57	0,000	ORP/CRP	<i>s: Aureobasidium pullulans</i>	-8,65	0,064	OCN/CCN				
<i>s: Acremonium furcatum</i>	21,43	0,000	ORP/CRP	<i>s: Sarocladium bactrocephalum</i>	-8,14	0,082	OCN/CCN				
<i>s: Monocillium loricatum</i>	21,36	0,000	ORP/CRP	<i>s: Phaeoisaria sedimenticola</i>	-8,14	0,082	OCN/CCN				
<i>s: Hamamotoa lignophila</i>	21,31	0,000	ORP/CRP	<i>s: Acremonium roseolum</i>	24,55	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Subramaniula obscura</i>	-21,17	0,000	ORP/CRP	<i>s: Aspergillus nomius</i>	-26,98	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Microdochium tainanense</i>	-20,88	0,000	ORP/CRP	<i>s: Marchandiomyces lignicola</i>	-23,01	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Talaromyces ucrainicus</i>	-20,86	0,000	ORP/CRP	<i>s: Myrmecridium schulzeri</i>	-22,99	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Chaetomium strumarium</i>	-20,25	0,000	ORP/CRP	<i>s: Epicoccum catenispurum</i>	21,52	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Stagonospora bicolor</i>	-20,18	0,000	ORP/CRP	<i>s: Alfaria putrefolia</i>	21,40	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Apiotrichum dehoogii</i>	11,17	0,000	ORP/CRP	<i>s: Geastrumia polystigmatis</i>	-9,25	0,000	OCP/CCP				
<i>s: Coniochaeta fasciculata</i>	10,64	0,002	ORP/CRP	<i>s: Papiliotrema terrestris</i>	-8,22	0,002	OCP/CCP				
<i>s: Solicoccozyma phenolica</i>	11,52	0,003	ORP/CRP	<i>s: Paraphaeosphaeria angularis</i>	-7,67	0,002	OCP/CCP				
<i>s: Pseudocoleophoma bauhiniae</i>	10,03	0,003	ORP/CRP	<i>s: Genoleuria armeniaca</i>	-7,45	0,004	OCP/CCP				
<i>s: Apiotrichum lignicola</i>	11,27	0,003	ORP/CRP	<i>s: Sarocladium kiliense</i>	7,77	0,008	OCP/CCP				
<i>s: Hyphoderma nudicephalum</i>	8,33	0,004	ORP/CRP	<i>s: Preussia africana</i>	-6,56	0,022	OCP/CCP				
<i>s: Bisifusarium dimerum</i>	10,98	0,005	ORP/CRP	<i>s: Aspergillus brasiliensis</i>	-6,33	0,038	OCP/CCP				