

UFRRJ

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

TESE

**Influência do Uso Intensivo do Solo em Ambientes de
Montanha e do Manejo de Resíduos Animais na
Diversidade Bacteriana**

Gustavo Souza Lima Sant'Anna

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA

**INFLUÊNCIA DO USO INTENSIVO DO SOLO EM AMBIENTES DE
MONTANHA E DO MANEJO DE RESÍDUOS ANIMAIS NA
DIVERSIDADE BACTERIANA**

GUSTAVO SOUZA LIMA SANT'ANNA

*Sob a Orientação da Professora
Irene da Silva Coelho*

*E Coorientação do Professor
Everaldo Zonta*

Tese submetida como requisito para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração em Agrobiologia.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S231i Sant'Anna, Gustavo Souza Lima, 1990-
 Influência do Uso Intensivo do Solo em Ambientes
 de Montanha e do Manejo de Resíduos Animais na
 Diversidade Bacteriana / Gustavo Souza Lima
 Sant'Anna. - Seropédica, 2025.
 90 f.: il.

Orientadora: Irene da Silva Coelho.
Coorientador: Everaldo Zonta.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência,
Tecnologia e Inovação em Agropecuária, 2025.

1. Biocarvão. 2. Cama de aviário. 3. Esterco
bovino. 4. Sequenciamento massivo. I. Coelho, Irene
da Silva, 1979-, orient. II. Zonta, Everaldo, 1970-
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência,
Tecnologia e Inovação em Agropecuária. IV. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 1 / 2025 - PPGCTIA (12.28.01.84)

Nº do Protocolo: 23083.005983/2025-60

Seropédica-RJ, 07 de fevereiro de 2025.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA

GUSTAVO SOUZA LIMA SANT'ANNA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de concentração em Agrobiologia.

TESE APROVADA EM 07/02/2025

Irene da Silva Coelho. Dra., UFRRJ

(Orientadora)

Elina Beatris Reinoso. Dra., UNRC

Caio Távora Rachid Coelho da Costa. Dr., UFRJ

Marcia Reed Rodrigues Coelho. Dra., Embrapa Agrobiologia

Ednaldo da Silva Araújo. Dr., Embrapa Agrobiologia

(Assinado digitalmente em 07/02/2025 18:33)

IRENE DA SILVA COELHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.00.54)
Matrícula: 1815763

(Assinado digitalmente em 10/02/2025 13:41)

CAIO TAVORA RACHID COELHO DA COSTA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 313.854.138-08

(Assinado digitalmente em 10/02/2025 10:32)

ELINA BEATRIS REINOSO
ASSINANTE EXTERNO
Passaporte: AAC470607

(Assinado digitalmente em 10/02/2025 11:15)

MARCIA REED RODRIGUES COELHO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 078.863.237-00

(Assinado digitalmente em 12/02/2025 17:22)

EDNALDO DA SILVA ARAÚJO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 750.960.133-91

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: 1, ano: 2025, tipo: HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO, data
de emissão: 07/02/2025 e o código de verificação: 74e7962568

Ao meu filho João.
Dedico

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus pela oportunidade que me foi concedida.

Ao meu filho João, minha esposa Camila, meus pais Reginaldo e Cláudia, e meu irmão Renato, por estarem sempre ao meu lado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Irene da Silva Coelho, pelo conhecimento transmitido. Seu bom humor, sensibilidade e dedicação são uma fonte de inspiração para mim.

Ao Prof. Dr. Everaldo Zonta, por viabilizar os projetos de pesquisa e pelos bons momentos de conversa durante as pausas para o café.

Aos colegas do Labacgem que contribuíram para a construção desta tese e compartilharam bons momentos comigo no laboratório: Maura, Dani, Cleo, Júlia, João, Jade, Isabel, Fabíola, Érico, Juliana, Hosana, Paula e tantos outros que tive o prazer de conviver durante essa jornada. Muito obrigado!

Ao LabacVet, sob a coordenação da Profa. Dra. Shana de Mattos de Oliveira Coelho e da Profa. Dra. Miliane Moreira Soares de Souza, pelo apoio concedido durante as pesquisas.

Ao Laboratório de Estudos da Relação Solo-Planta (LSP), principalmente ao Rafael Mota e ao Rosimar Goulart, por contribuírem com as análises químicas dos solos e dos fertilizantes.

Ao Dr. Diogo Paes da Costa, pelos ensinamentos e pela contribuição com as análises de bioinformática.

Ao Lucas Amoroso Lopes de Carvalho, do Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental da Unesp (Jaboticabal), por estar sempre disposto e solícito ao compartilhar conhecimentos em análises de bioinformática.

Ao Prof. Dr. Wagner Dias de Souza, do Departamento de Engenharia da UFRRJ, por disponibilizar o servidor para as análises de bioinformática.

Ao Prof. Dr. Nelson Moura Brasil do Amaral Sobrinho, pela parceria nos trabalhos realizados.

À Renata, do PPGCTIA, que sempre foi muito cordial e solícita.

À Secretaria Municipal de Desenvolvimento Rural da Prefeitura Municipal de Barra Mansa, que concedeu minha liberação para a realização deste doutorado.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERJ.

E a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Gustavo Souza Lima Sant'Anna, filho de Cláudia Souza Lima Coelho e Reginaldo Sant'Anna Júnior, nasceu na cidade de Andradina-SP, no dia 29/06/1990. Em 2009, iniciou sua graduação em Agronomia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), graduando-se em dezembro de 2014. De fevereiro de 2015 a fevereiro de 2018, trabalhou na empresa Procampo, em Andradina-SP, onde desenvolveu projetos de irrigação e recuperação de áreas degradadas, além de realização de Cadastro Ambiental Rural (CAR). Nesse período, também cursou MBA em Agronegócios pela ESALQ/USP e dedicou-se à docência, ministrando o curso “Agricultor Agroflorestal” pelo Instituto Federal Sul de Minas, contribuindo para a formação em sistemas agroflorestais e práticas sustentáveis a agricultores de Andradina-SP. Em março de 2018, ingressou no Mestrado em Agronomia - Ciências do Solo pela UFRRJ, onde desenvolveu pesquisas relacionadas a resistência a antimicrobianos e diversidade bacteriana do solo. Obteve o título de Mestre em Ciências em maio de 2020 e em março de 2021, iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, também pela UFRRJ. Desde julho de 2022, ocupa o cargo de Engenheiro Agrônomo na Prefeitura Municipal de Barra Mansa-RJ, onde realiza o Cadastro Ambiental Rural (CAR) de pequenas propriedades e atua em projetos voltados ao desenvolvimento rural no município.

RESUMO

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima. **Influência do uso intensivo do solo em ambientes de montanha e do manejo de resíduos animais na diversidade bacteriana.** 2024. 90f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

O cultivo intensivo, caracterizado pelo uso constante de insumos agrícolas, como fertilizantes minerais, agrotóxicos e resíduos animais, busca aumentar a produtividade e fertilidade do solo. Contudo, essas práticas podem impactar os atributos físicos, químicos e alterar a composição das comunidades microbianas. Resíduos animais são amplamente empregados na agricultura, mas seu uso indiscriminado e sem tratamento adequado pode modificar a microbiota do solo e representar risco à saúde pública. Nesse contexto, a compostagem surge como estratégia sustentável para o manejo desses resíduos, minimizando impactos ambientais e potencializando benefícios agrícolas. No entanto, estudos sobre aditivos, como o biocarvão, para otimizar esse processo, ainda são escassos. As hipóteses desse estudo são: 1) em agroecossistemas tropicais de montanha, o manejo intensivo na produção agrícola promove alteração nos atributos físicos e químicos do solo e, consequentemente, na comunidade bacteriana; 2) resíduos animais de diferentes origens tem efeitos distintos a curto prazo sobre os atributos químicos e comunidade bacteriana dos solos; e; 3) a adição do biocarvão altera a comunidade bacteriana durante o processo de compostagem, aumentando a eficiência do processo e, assim, a redução de bactérias indesejáveis. Assim, esta Tese foi dividida em três capítulos. No primeiro capítulo, foram avaliados os atributos químicos e a comunidade bacteriana de solos sob o cultivo intensivo de hortaliças e de floresta. A diferença nos atributos químicos resultou em diferenças significativas na composição bacteriana, embora a riqueza e a diversidade de espécies não tenham variado entre os solos. Os solos agrícolas apresentaram uma redução da complexidade das comunidades bacterianas e alteração da composição dos táxons-chave em relação aos solos de floresta. No segundo capítulo, um experimento foi instalado em campo, em blocos casualizados, com três repetições por tratamento, incluindo aplicação de esterco bovino, cama de aviário e tratamento controle sem adubação; e após 60 dias, as características químicas e a composição bacteriana do solo foram avaliadas. A curto prazo, a incorporação de cama de aviário induziu mudanças pronunciadas nas propriedades químicas e na composição da comunidade bacteriana em comparação com o esterco bovino, decorrente principalmente das alterações químicas com a aplicação de cama de aviário e em menor escala pela transferência direta de microrganismos desse fertilizante orgânico para o solo. No terceiro capítulo, avaliou-se a comunidade bacteriana e os parâmetros físicos e químicos da cama de aviário ao longo do processo de compostagem, considerando também a aplicação de diferentes doses de biocarvão. O biocarvão adicionado ao processo de compostagem foi eficiente na redução do tempo para atingir a fase termofílica, porém, se mostrou ineficiente para eliminar alguns microrganismos indesejáveis no composto, como membros dos gêneros *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Ralstonia* e *Nicolellia*. Este trabalho contribui para a geração de conhecimentos que servirão como subsídios para o desenvolvimento de estratégias mais sustentáveis de manejo do solo em sustentáveis agroecossistemas tropicais de montanha; e ressalta a importância de monitoramento da utilização de resíduos animais na agricultura para evitar riscos à saúde humana, animal e ambiental.

Palavras-chave: Biocarvão. Cama de aviário. Esterco bovino. Sequenciamento massivo.

ABSTRACT

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima. **Influence of intensive land use in mountain environments and animal waste management on bacterial diversity.** 2024. 90p. Tese (Doctor in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Intensive farming, characterized by the constant use of agricultural inputs such as mineral fertilizers, pesticides, and animal waste, aims to increase productivity and soil fertility. However, these practices can impact the physical and chemical properties of the soil and alter the composition of microbial communities. Animal residues are widely employed in agriculture. However, their indiscriminate use without proper treatment can result in changes to soil microbiota and pose public health risks. In this context, composting emerges as a sustainable strategy for managing these residues, minimizing negative environmental impacts and enhancing agricultural benefits. Nevertheless, studies involving biochar to optimize this process are still scarce. The hypotheses of this study are: (1) in tropical mountain agroecosystems, intensive management in agricultural production promotes changes in soil physical and chemical properties and, consequently, alterations in the bacterial community; (2) animal residues of different origins have distinct short-term effects on soil chemical attributes and bacterial communities; and (3) the addition of biochar alters the bacterial community during the composting process, increasing process efficiency and reducing undesirable bacteria. Thus, this dissertation was divided into three chapters. In the first chapter, the chemical attributes and bacterial communities of soils under intensive vegetable cultivation and forest areas were evaluated. Differences in chemical attributes resulted in significant differences in the composition of the bacterial population, although species richness and diversity did not vary between soils. Agricultural soils exhibited reduced complexity in bacterial communities and changes in the composition of key taxa compared to forest soils. In the second chapter, a field experiment was set up using a randomized block design with three replicates per treatment, including the application of cattle manure, poultry litter, and a control treatment without fertilization. After 60 days, the chemical properties and bacterial composition of the soil were evaluated. In the short term, the incorporation of poultry litter induced pronounced changes in both soil chemical properties and bacterial community composition compared to cattle manure. These changes were primarily due to the chemical alterations caused by the application of poultry litter and, to a lesser extent, the direct transfer of microorganisms from this organic fertilizer to the soil. In the third chapter, the bacterial community and the physical and chemical parameters of poultry litter were evaluated throughout the composting process, with the application of different doses of biochar. The biochar added to the composting process was effective in reducing the time required to reach the thermophilic phase but was inefficient in eliminating some undesirable microorganisms in the compost, such as members of the genera *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Ralstonia*, and *Nicolellia*. This work contributes to the generation of knowledge that will support the development of more sustainable soil management strategies in tropical mountain agroecosystems. It also highlights the importance of monitoring the use of animal residues in agriculture to prevent risks to human, animal, and environmental health.

Keywords: Biochar. Poultry litter. Cattle manure. Massive sequencing.

RESUMEN EXTENDIDO

SANT'ANNA, Gustavo Souza Lima. **Influencia del uso intensivo del suelo en ambientes de montaña y del manejo de residuos animales en la diversidad bacteriana.** 2024. 90f. Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Innovación Agropecuaria). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

1. Introducción

Las regiones montañosas desempeñan un papel fundamental en la provisión de recursos naturales y en la preservación de la biodiversidad, además de sustentar comunidades rurales que dependen de estos ecosistemas para su subsistencia (ECKHOLM, 1975; VISSCHER et al., 2024). En América Latina, las características del clima tropical de altitud presentes en los ambientes de montaña crean condiciones favorables para la agricultura, que permiten el cultivo de hortalizas durante todo el año (NETTO; DE ASSIS; DE AQUINO, 2016). Así, estos ecosistemas albergan numerosas comunidades rurales que dependen de estos recursos para su subsistencia (ECKHOLM, 1975; KOOHAFKAN; ALTIERI, 2011).

El sistema de cultivo frecuentemente adoptado en las regiones montañosas del estado de Río de Janeiro se caracteriza por el uso intensivo de maquinaria, agroquímicos y prácticas convencionales de preparación del suelo, lo que puede generar modificaciones en el ambiente, como compactación del suelo, erosión, contaminación por residuos de fertilizantes y pesticidas (CALEGARI et al., 1993). Otro factor agravante es el uso de residuos animales como la cama de pollo y el estiércol bovino, que se emplean con frecuencia en la producción agrícola.

La aplicación de estos residuos como fertilizante es una práctica común en la agricultura, debido a su potencial para mejorar la fertilidad del suelo y la productividad de los cultivos (SINGH et al., 2020). Sin embargo, el uso indiscriminado y sin tratamiento adecuado puede provocar graves daños al medio ambiente, entre ellos el aumento de los niveles de metales pesados en el suelo, que eventualmente pueden ser absorbidos por las plantas e ingresar en la cadena alimentaria (GUIMARÃES et al., 2024). Además, la presencia de patógenos y contaminantes orgánicos puede comprometer la calidad del suelo y de los recursos hídricos, incrementando los riesgos para la salud humana y ambiental (FERREIRA et al., 2024).

En este contexto, el compostaje se destaca como una alternativa para el manejo sostenible de estos residuos, ya que se trata de un proceso biológico controlado que transforma la materia orgánica en compuestos más estables, al mismo tiempo que reduce los patógenos y pone los nutrientes a disposición de las plantas de manera gradual (SOUZA, 2021). Entre los aditivos que pueden aumentar la eficiencia de este proceso, se encuentra el biocarbón, que, debido a su elevada superficie de adsorción y alta densidad de grupos funcionales en la superficie, no solo puede minimizar los riesgos asociados al uso de residuos animales, sino también mejorar la calidad del suelo.

La diversidad bacteriana del suelo es un indicador de la calidad y sostenibilidad de los sistemas agrícolas (WANG et al., 2021a). Las bacterias desempeñan roles esenciales en el ciclo de nutrientes, la descomposición de materia orgánica y la promoción del crecimiento de las plantas. Estudiar los efectos de los residuos animales sobre las comunidades bacterianas es crucial para garantizar el mantenimiento de las funciones ecosistémicas del suelo (DINCÁ et al., 2022; ONEȚ et al., 2016). Por lo tanto, comprender el impacto del uso de residuos animales en la diversidad bacteriana del suelo y explorar nuevas alternativas para optimizar el proceso de compostaje puede impulsar prácticas agrícolas más productivas y sostenibles.

Así, la Tesis se dividió en tres capítulos. En el primer capítulo, se investigó la diversidad bacteriana de suelos agrícolas y de bosque en Nova Friburgo, RJ, correlacionándola con las propiedades físicas y químicas de estos suelos. En el segundo capítulo, se evaluó el impacto a corto plazo de la aplicación de estiércol bovino y cama de pollo en las propiedades químicas

del suelo y en la estructura de la comunidad bacteriana. En el tercer capítulo, se abordó la estructura de la comunidad bacteriana y los parámetros del compostaje de la cama de pollo enriquecida con diferentes dosis de biocarbón (0%, 5%, 10% y 15%) a lo largo de cuatro períodos (0, 30, 60 y 90 días).

2. Materiales y Métodos

2.1. Capítulo I

El área de estudio fue la microcuenca de Barracão dos Mendes, ubicada en el municipio de Nova Friburgo, en la región montañosa del estado de Río de Janeiro, Brasil. Se realizaron muestreos en 10 áreas agrícolas con producción intensiva de hortalizas y en sus respectivas áreas de bosque (Reserva Legal). Se recolectaron 10 muestras de suelo provenientes de áreas agrícolas y otras 10 muestras de suelos de áreas con remanentes de bosque. Cada muestra compuesta se formó con treinta submuestras recolectadas a una profundidad de 0 a 20 cm en cada punto seleccionado.

Se analizaron los niveles de materia orgánica (MO), pH (H₂O), P, K, Ca, Mg y Al intercambiables, Fe y Al total, H+Al, saturación de bases, contenido de arena, limo y arcilla, siguiendo la metodología descrita por Embrapa (TEIXEIRA et al., 2017). Las extracciones del ADN total de las muestras de suelo se realizaron utilizando el kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EE. UU.) según el protocolo proporcionado por el fabricante. El análisis de la región V3-V4 del gen 16S rRNA se llevó a cabo utilizando la plataforma MiSeq (Illumina, EE. UU.).

Las secuencias fueron procesadas siguiendo adaptaciones del pipeline 'DADA2' (1.16) (CALLAHAN et al., 2016a). Se calcularon correlaciones e índices de diversidad alfa y beta, se ordenó la estructura de las comunidades bacterianas utilizando el método Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS), y se evaluó la correlación de la abundancia de filos bacterianos con los datos de suelo y altitud.

2.2 Capítulo II

Un experimento se llevó a cabo en una propiedad rural del municipio de Seropédica, Río de Janeiro. El suelo del área fue clasificado como Argissolo Amarelo, y el área experimental consistió en un pastizal de grama-batatais (*Paspalum notatum*) en una etapa inicial de degradación. El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos consistieron en: suelos fertilizados con estiércol bovino (CAM); cama de ave (POL); y un tratamiento control (CTL), sin la adición de fertilizantes, totalizando 9 parcelas experimentales de 4 m² cada una (2 x 2 m). Las dosis aplicadas se calcularon para proporcionar 100 kg ha⁻¹ de N. Después de 60 días de la aplicación e incorporación de los fertilizantes en el suelo, se recolectaron 5 muestras simples para formar una muestra compuesta en la capa de 0-10 cm por parcela experimental, totalizando 9 muestras.

Se analizaron los niveles de materia orgánica (MO), pH (H₂O), P, K, Ca, Mg y Al intercambiables, Fe y Al total, H+Al, saturación de bases, contenido de arena, limo y arcilla, siguiendo la metodología descrita por Embrapa (TEIXEIRA et al., 2017). Se realizó la extracción del ADN total de las muestras de suelo y de los fertilizantes utilizados mediante el kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories Inc.), siguiendo el protocolo del fabricante.

Posteriormente, se realizó la secuenciación de la región variable V3-V4 del gen 16S rRNA utilizando la plataforma NovaSeq (Illumina, EE. UU.). Las bibliotecas se procesaron mediante el pipeline 'DADA2' (1.16) (CALLAHAN et al., 2016a) con adaptaciones. Se estimaron los índices de diversidad alfa, se llevaron a cabo análisis canónicos de coordenadas principales (CAP) y análisis de correlación de las familias bacterianas con los parámetros

químicos del suelo, además del diagrama de Venn con las ASVs presentes en los fertilizantes y en los suelos analizados.

2.3 Capítulo III

Se realizó un experimento de compostaje de cama de pollo, recolectada en granjas ubicadas en el municipio de São José do Vale do Rio Preto (SJVRP), región serrana del estado de Río de Janeiro. Los tratamientos incluyeron diferentes proporciones de biocarbón añadidas a la cama de pollo para el compostaje (ausencia (0%), 5%, 10% y 15%, en base al peso seco) y diferentes tiempos de compostaje de la cama de pollo (cama de pollo no compostada y compostada durante 30, 60 y 90 días). El compostaje se llevó a cabo durante 90 días en un área de la Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Seropédica/RJ), bajo un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. El compost fue homogeneizado mediante volteos manuales de las pilas de acuerdo con la temperatura, que fue monitoreada continuamente, y la humedad del compost se mantuvo entre 50% y 60%. Durante el compostaje, se evaluaron parámetros como pH, conductividad eléctrica (CE), densidad, emisiones de CO₂ y NH₃ y contenidos de carbono orgánico, nitrógeno y metales pesados del compost a lo largo de los 90 días (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009; LAZCANO; GÓMEZ-BRANDÓN; DOMÍNGUEZ, 2008; LEAL, 2020; SOM; LEMÉE; AMBLÈS, 2009).

Se recolectaron muestras compuestas representativas de la cama de pollo no compostada y compostada a los 30, 60 y 90 días para las evaluaciones de los niveles totales de metales pesados, determinación de la densidad, pH, CE, emisiones de CO₂ y NH₃, así como los contenidos de carbono orgánico y nitrógeno. Para evaluar la diversidad bacteriana, se realizó la extracción de ADN de las muestras utilizando el kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories Inc.), siguiendo el protocolo del fabricante. La secuenciación de la región variable V3-V4 del gen 16S rRNA se realizó mediante la plataforma NovaSeq (Illumina, EE. UU.). Las lecturas se procesaron mediante un pipeline adaptado del 'DADA2' (1.16) (CALLAHAN et al., 2016a). La diversidad alfa se estimó mediante la observación de la riqueza y medidas de diversidad (índices de Shannon y Gini-Simpson). La diversidad beta se analizó utilizando el Análisis de Coordenadas Principales (PCoA). Además, se evaluaron los taxones diferencialmente abundantes y las correlaciones entre las propiedades del compost y la microbiota a nivel taxonómico de género.

3. Resultados y Discusión

3.1 Capítulo I

Los suelos de las áreas agrícolas y forestales mostraron diferencias en sus atributos químicos. La región estudiada es predominantemente montañosa, con un relieve accidentado, caracterizada por suelos poco profundos e intemperizados, con pH ácido y bajos niveles de nutrientes (DE OLIVEIRA et al., 2021), lo que explica el menor valor de pH en las áreas de bosque. Por otro lado, el mayor valor de pH y macronutrientes (P, K⁺ y Ca²⁺) en las áreas agrícolas está relacionado con el manejo y preparación del suelo, como la aplicación de cal agrícola y fertilizantes minerales y orgánicos, como la cama de pollo, que son comúnmente utilizados en esta región (ANTONIO et al., 2019).

Las diferencias en el uso del suelo también promovieron alteraciones en la estructura de las comunidades bacterianas. El análisis de redundancia basado en distancia (dbRDA) mostró que estos cambios fueron impulsados por las propiedades químicas del suelo. Estas alteraciones pueden haber afectado la cadena trófica, favoreciendo poblaciones específicas de bacterias y, consecuentemente, modificando la estructura de las comunidades microbianas (LAUBER et al.,

2009). En los suelos forestales, la materia orgánica fue el factor más importante en la diferenciación de la estructura de las comunidades bacterianas. La riqueza de ASVs y el índice de diversidad de Shannon no mostraron diferencias entre las dos áreas, lo que sugiere que la distribución y equidad de las especies son similares en los sitios estudiados. Sin embargo, la composición de los taxones es distinta entre las áreas. Otros estudios respaldan estos resultados, mostrando que el uso agrícola no alteró los índices de diversidad y abundancia de los microorganismos del suelo, observándose modificaciones únicamente en la estructura de las comunidades (CAI et al., 2018; ZHAO et al., 2020). Es posible que las comunidades bacterianas de los suelos cultivados se hayan adaptado a las nuevas condiciones, alcanzando un nuevo equilibrio ecológico.

Las redes de co-ocurrencia evidencian diferencias marcadas en la estructura de las comunidades bacterianas entre los suelos forestales y agrícolas (Figura 6). El uso agrícola redujo la complejidad de estas comunidades, aumentó el número de taxones responsables del mantenimiento de la red y alteró la composición de los taxones clave. Las prácticas agrícolas, especialmente el uso de fertilizantes, incrementan la disponibilidad de nutrientes y favorecen poblaciones de rápido crecimiento, como oportunistas y patógenos bacterianos (estrategas r) (LIENHARD et al., 2014). Estas poblaciones, al ser metabólicamente autosuficientes, requieren menos interacciones para adaptarse al ambiente, resultando en comunidades más aisladas y con menos interacciones (CORDERO; POLZ, 2014). El cambio observado en los taxones clave, que desempeñan funciones esenciales en el microbioma, puede tener impactos en la composición y funcionalidad de las comunidades bacterianas (BANERJEE; SCHLAEPPPI; VAN DER HEIJDEN, 2018). Por lo tanto, la simplificación de las redes en suelos cultivados sugiere una disminución en la funcionalidad del microbioma, lo que podría comprometer la salud del suelo.

3.2 Capítulo II

Este estudio sugiere que la comunidad bacteriana del suelo, 60 días después de la incorporación de cama de pollo (POL-S), en comparación con suelos con estiércol bovino (CAM-S) y suelos de control (CTL-S), probablemente está influenciada por factores como los niveles de COT, P y Al, y el pH del suelo. El bajo número de ASVs encontrado tanto en la cama de pollo (POL-F) como en los suelos que recibieron este fertilizante (POL-S) indica una baja transferencia de bacterias de la cama al suelo. Estos hallazgos sugieren que el POL-F alteró la comunidad bacteriana del suelo al introducir nuevas especies y modificar las características del suelo.

En nuestro estudio, no observamos diferencias significativas en la composición ni en la alfa diversidad de la comunidad del suelo entre muestras sin fertilizantes orgánicos (CTL) y aquellas con estiércol bovino (CAM). Muchas bacterias presentes en el estiércol tienen su origen en el microbioma intestinal del ganado y pueden ser menos competitivas en el ambiente del suelo. Esto podría deberse a que el suelo es más aeróbico en comparación con el tracto intestinal, lo que lleva a la desaparición de géneros sensibles al oxígeno (SEMENOV et al., 2011). Por lo tanto, dependiendo de la composición microbiana del estiércol, la supervivencia de ciertos taxones puede estar limitada en el suelo, lo que explica la similitud entre las muestras de suelo CAM y CTL.

Este estudio tuvo como objetivo determinar si el aumento de la biomasa microbiana y la diversidad del suelo tras la aplicación de estiércol se debe a la supervivencia de microorganismos introducidos con el estiércol o a la activación del microbioma del suelo. Los datos revelaron que la aplicación de estiércol incrementó la biomasa microbiana y la diversidad, además de activar muchos taxones subrepresentados en el suelo. Sin embargo, los microorganismos provenientes del estiércol tuvieron bajas tasas de supervivencia en el suelo,

lo que indica la capacidad del suelo para actuar como un amortiguador eficaz contra la entrada de nuevos microorganismos (SEMENOV et al., 2021). Así, es importante realizar más estudios en este campo, considerando las diferencias inherentes a la producción de residuos y las condiciones del suelo que pueden conducir a composiciones variables del microbiota del suelo.

En cuanto a la cama de pollo (POL), estudios previos han reportado que la fertilización a largo plazo con cama de pollo altera la comunidad microbiana edáfica mediante cambios en los atributos químicos del suelo (ASHWORTH et al., 2017; LIU et al., 2017). Nuestro estudio demostró que los cambios en la diversidad del suelo ya se producen 60 días después de la aplicación de POL.

3.3 Capítulo III

El uso de biocarbón en el compostaje de cama de pollo promovió un aumento en la aireación y en la actividad microbiana, resultando en temperaturas más altas en un período más corto, en comparación con el tratamiento control. A pesar de esto, la temperatura no alcanzó el nivel necesario para reducir los microorganismos indeseables. Los géneros bacterianos *Pseudomonas* y *Staphylococcus*, predominantes en el compost, no se vieron influenciados por los tratamientos con biocarbón. Además, los géneros *Ralstonia* y *Nicolellia* fueron más abundantes en los tratamientos con biocarbón en comparación con el control.

La estructura de la comunidad bacteriana se alteró significativamente a lo largo de los días de compostaje; sin embargo, las comunidades no presentaron diferencias significativas en relación con las dosis de biocarbón. Esta sucesión bacteriana durante el compostaje fue evidenciada mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA), mostrando que la dinámica microbiana depende del material utilizado, con procesos ecológicos consistentes que controlan la composición microbiana y las funciones metabólicas (AMIR et al., 2008; CHEN et al., 2020). Entre los géneros que participaron en este proceso se destacaron *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Hyphomicrobium*, que incrementaron su abundancia relativa durante el proceso y desempeñan roles fundamentales en la dinámica del nitrógeno, como la amonificación, nitrificación y desnitrificación (CHANGSONG et al., 1995; GRENIER et al., 2023).

4. Conclusiones

La comunidad bacteriana del suelo se ve afectada por el manejo intensivo, impactando negativamente la biodiversidad funcional del suelo al reducir la complejidad de las comunidades bacterianas, ampliar el número de taxones responsables del sostenimiento de la red y alterar la composición de taxones clave. La modificación de la comunidad bacteriana del suelo por la incorporación de residuos animales a corto plazo se debe principalmente a los atributos químicos del suelo y no necesariamente a la composición bacteriana de dichos residuos. El biocarbón aumentó la eficiencia del proceso de compostaje de la cama de pollo, reduciendo el tiempo necesario para alcanzar las temperaturas más altas; sin embargo, no fue suficiente para garantizar la eliminación de microorganismos indeseables como las bacterias *Pseudomonas* y *Staphylococcus* durante el proceso.

Palabras clave: Biocarbón. Cama de pollo. Estiércol bovino. 16S rRNA.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa mostrando a localização da área de estudo na bacia hidrográfica do Barracão dos Mendes (delimitada pela linha preta), localizada em Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. Os pontos amarelos correspondem aos solos de cultivo agrícola com produção intensiva de hortaliças e os pontos verdes correspondem aos solos de suas respectivas áreas de floresta (Reserva Legal)..... 15
- Figura 2.** Estrutura e diversidade de comunidades bacterianas em solos agrícolas e de floresta explicadas por variáveis restritas (42%) e irrestritas (58%). (A) Análise de redundância baseada em distância (dbRDA) usando a distância de Bray-Curtis aplicada à abundância de variantes de sequência de Amplicon (ASVs) do gene 16S rRNA. Os pontos indicam os escores das áreas amostrais para os dois primeiros eixos da Análise Restrita de Coordenadas Principais (CAP). A similaridade entre as amostras foi explicada em função das variáveis não redundantes de solo e altitude média (vetores), onde eixos ou variáveis significativas foram precedidos por asterisco (*). A seguir são mostradas as dispersões da contagem de ASVs (B) e da alfa-diversidade pelo índice de Shannon (C) para solos agrícolas e de floresta. As abreviaturas OM, T.Al e T.Fe são matéria orgânica, Al total e Fe total, respectivamente. 19
- Figura 3.** Separação de comunidades bacterianas raras, generalistas e especialistas em solos agrícolas e de florestas. (A) Método de classificação multinomial de espécies (CLAM) para o teste de ocupação de nicho. Os pontos indicam cada ASVs único (8.761 leituras) encontrados em dados rarefeitos pela menor amostra. As porcentagens foram calculadas com base no número total de ASVs únicas. (B) Abundância relativa geral e específica de filos em cada nicho de compositor nos habitats. Neste caso, foram contabilizadas 453.860 leituras agrupadas em 8.761 ASVs únicos. 20
- Figura 4.** Abundância comparativa entre classes bacterianas em solos agrícolas e de floresta. Os modelos fixo e aleatório foram estimados por metanálises com dados de desfecho contínuo e a ponderação de variância inversa foi utilizada para pooling. Os quadrados são a diferença média (DM) de cada classe bacteriana e as linhas horizontais são o intervalo de confiança (IC 95%). O τ^2 é a variância entre classes para o modelo de efeitos aleatórios, τ^2 é zero se não houver variância entre os estudos. A heterogeneidade foi quantificada pela estatística I^2 , variando de valores negativos a 100%. Quando o valor é negativo é igual a 0: 0% - homogeneidade entre as classes bacterianas; 25% - baixa heterogeneidade; 50% - heterogeneidade moderada; 75% ou mais - alta heterogeneidade entre as classes..... 21
- Figura 5.** Associações entre abundância de filos bacterianos, variáveis-chave do solo e altitude do ponto amostral em solos agrícolas e de floresta. A estatística ρ de Spearman foi utilizada para estimar uma medida de associação monotônica baseada em ranks. Os valores de p foram calculados pelo algoritmo AS 66, utilizando-se uma aproximação da série de Edgeworth. As correlações foram agrupadas em níveis discretos (retângulos) para facilitar a interpretação, onde associações significativas foram marcadas com um asterisco. Os dendrogramas representam a proximidade mútua entre filos e entre variáveis não restritas pela mesma estatística. As abreviaturas OM, T.Al e T.Fe são matéria orgânica, Al total e Fe total, respectivamente..... 22
- Figura 6.** Rede de co-ocorrência da comunidade bacteriana em solos agrícolas (Crop) e floresta (Forest). As correlações entre os filos bacterianos foram estimadas pelo algoritmo SparCC e os valores de p foram estimados pelo bootstrapped. Bordas significativas ($p < 0,001$) (SparCC) com pesos acima de 0,7 ($< -0,7$ e $> 0,7$) foram preservadas. Os nós são ASVs bacterianos únicos e o tamanho do nó é proporcional ao número de conexões

(grau) e foram pintados em oito intervalos de acordo com a faixa de centralidade (BC).	23
Figura 7. Monthly climate data from the automatic meteorological station of the national meteorology institute (INMET) during the experiment's execution period (INMET, 2024). * Data from 25 April to 26 August 2019.....	34
Figura 8. Structure of bacterial communities in soils that received cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control (CTL-S) without residues application. Distance-based constrained analysis of principal coordinates (CAP) using the Bray-Curtis distance between the composition of amplicon sequence variants (ASVs) in samples was performed. Dots indicate the sample scores for the first two axes, while the vectors indicate the chemical attributes of the soil. H + Al = potential acidity; SB = sum of bases; and V = base saturation.	37
Figura 9. Relative abundance of bacterial groups at the phylum level, showing the 24 most abundant taxa in samples of cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and soils 60 days post fertilization with cattle manure (CAM-S) and poultry litter (POL-S) along with a control without application of residue (CTL-S). The less abundant phyla are grouped under the category “Others”.	39
Figura 10. Relative abundance of bacterial groups at the family level, showing the 24 most abundant taxa in samples of cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and soils 60 days post fertilization with cattle manure (CAM-S) and poultry litter (POL-S) as well as a control without application of residue (CTL-S). The less abundant families are grouped under the category “Others”	40
Figura 11. Venn diagram showing ASVs found in cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and in soil samples 60 days after fertilization with cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) as well as a control (CTL-S).....	41
Figura 12. Differentially abundant taxa at family level in soil samples after 60 days of application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and a control soil (CTL-S) which did not receive application of these residues. (a) Comparison between CAM-S and POL-S, (b) comparison between CAM-S and CTL-S, (c) comparison between POL-S and CTL-S. Means were compared using a negative binomial model with a Wald test (adjusted p value < 0.05).	41
Figura 13. Correlation between chemical characteristics of the soil and the 20 most abundant bacterial families after 60 days of application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control (CTL-S). Pearson's coefficient was used (p value: 0.05). Families that represented at least 1% of the sample abundance were considered. H + Al = potential acidity; SB = sum of bases; CEC = cation exchange capacity; and V = base saturation. Different numbers of asterisks (*) represent different levels of significance.	42
Figura 14. Índices de alfa-diversidade bacteriana no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem. Riqueza de ASVs (A), índices Shannon (B) e Gini-Simpson (C).....	57
Figura 15. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) usando a distância Bray-Curtis e teste de hipóteses multivariadas PERMANOVA da estrutura da comunidade bacteriana no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.	58
Figura 16. Filos bacterianos mais abundantes no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.	59

Figura 17. Gêneros bacterianos mais abundantes no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.....	59
Figura 18. Gêneros diferencialmente abundantes no composto da cama de aviário sem a adição de biocarvão durante 90 dias de compostagem. Comparação entre os tempos 0, 30, 60 e 90 dias de compostagem.....	60
Figura 19. Correlação entre os gêneros bacterianos mais abundantes na compostagem de cama de aviário e os parâmetros Cobre (Cu), Níquel (Ni), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cromo (Cr), Chumbo (Pb), Zinco (Zn) e Alumínio (Al), Temperatura, pH, condutividade elétrica (EC) e densidade emissões de CO ₂ (CO2) e NH ₃ (NH3), nitrogênio mineral (N) e carbono orgânico (C).	60
Figura 20. Gêneros diferencialmente abundantes no composto da cama de aviário com adição de biocarvão nas doses de 0%, 5%, 10% e 15% aos 90 dias de compostagem.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química e teor de cinzas de resíduos de diferentes origens. Adaptado de HOYOS-SEBÁ et al. (2024).....	4
Tabela 2. Análise de médias e variância (ANOVA) das principais propriedades químicas do solo, matéria orgânica (MO) e teor de argila, e altitude de amostragem em áreas agrícolas com produção intensiva de hortaliças e suas respectivas áreas de floresta ...	18
Tabela 3. Chemical composition of cattle manure (CAM-F) and poultry litter (POL-F) incorporated into soil	33
Tabela 4. Soil chemical composition 60 days after the application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control soil (CTL-S) which did not receive residue application.....	38
Tabela 5. The variability of alpha diversity (richness, Shannon index, and Gini–Simpson index) in soil samples after 60 days of application of cattle manure (CAM-S), poultry litter (POL-S), and control soil (CTL-S) which did not receive application of these residues	39
Tabela 6. Temperatura da cama de aviário (°C) sem adição de biocarvão (0%), com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.....	56
Tabela 7. Análise de variância e teste de interação entre dias de compostagem e doses de biocarvão nos índices de diversidade bacteriana	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Produção Animal e Geração de Resíduos na Produção Animal	3
2.2. Uso de Cama da Aviário e Esterco Bovino na Agricultura	4
2.3. Compostagem como Estratégia para Melhorar a Qualidade de Resíduos Animais ..	5
2.4. Uso Resíduos Animais e Práticas Agrícolas na Diversidade Bacteriana do Solo	7
3. CAPÍTULO I REDUÇÃO DA COMPLEXIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO SOB CULTIVO INTENSIVO EM AGROECOSISTEMA DE MONTANHA	10
3.1. RESUMO	11
3.2. ABSTRACT.....	12
3.3. INTRODUÇÃO	13
3.4. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.5. RESULTADOS	18
3.6. DISCUSSÃO	24
3.7. CONCLUSÕES	28
4. CAPÍTULO II SHORT-TERM EFFECTS OF POULTRY LITTER AND CATTLE MANURE ON SOIL'S CHEMICAL PROPERTIES AND BACTERIAL COMMUNITY	29
4.1. RESUMO	30
4.2. ABSTRACT.....	31
4.3. INTRODUCTION	32
4.4. MATERIAL AND METHODS.....	33
4.5. RESULTS	37
4.6. DISCUSSION.....	44
4.7. CONCLUSION.....	47
5. CAPÍTULO III ALTERAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA DURANTE O PROCESSO DE COMPOSTAGEM DE CAMA DE AVIÁRIO ENRIQUECIDA COM BIOCARVÃO	48
5.1. RESUMO	49
5.2. ABSTRACT.....	50
5.3. INTRODUÇÃO	51
5.4. MATERIAL E MÉTODOS	53
5.5. RESULTADOS	56
5.6. DISCUSSÃO	62
5.7. CONCLUSÕES	64
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	65
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
8. APÊNDICES	88

1. INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional ultrapassou 8 bilhões de pessoas em 2022, aumentando proporcionalmente a demanda por alimentos e a produção de animais (PAJURA, 2024). Essa pressão para o aumento da produção de alimentos leva ao cultivo intensivo do solo, que envolve o uso constante de insumos agrícolas, como fertilizantes minerais, agrotóxicos e resíduos animais para aumentar a produtividade e a fertilidade do solo, o que pode impactar os atributos químicos e físicos do solo e alterar a composição das comunidades microbianas (RIBEIRO MAURI et al., 2024).

As regiões montanhosas desempenham um papel fundamental na provisão de recursos naturais e na preservação da biodiversidade, além de sustentarem comunidades rurais que dependem desses ecossistemas para subsistência (ECKHOLM, 1975; VISSCHER et al., 2024). Contudo, a pressão antrópica e as condições específicas dessas áreas, como maior suscetibilidade à erosão, afetam a diversidade biológica do solo e comprometem suas funções ecossistêmicas (CAULFIELD et al., 2020). O aumento da demanda por produtos de origem animal também tem intensificado a preocupação acerca dos resíduos resultantes desta atividade, como cama de aviário e esterco de bovino. A disposição inadequada desses resíduos pode resultar em danos ambientais; logo, é necessário o manejo adequado desses produtos para garantir a sustentabilidade dos ecossistemas (GOLDAN et al., 2023).

A aplicação desses resíduos como fertilizante é uma prática comum na agricultura, em virtude do seu potencial para melhorar a fertilidade do solo e a produtividade das culturas (SINGH et al., 2020). Estudos demonstram que o uso desses resíduos pode aumentar a agregação do solo, os teores de matéria orgânica e a diversidade bacteriana (LIN et al., 2019; MA et al., 2023). Contudo, o uso indiscriminado e sem tratamento adequado pode provocar sérios danos ao meio ambiente, entre eles está o aumento dos teores de metais pesados no solo, que podem, eventualmente, ser absorvidos pelas plantas e entrar na cadeia alimentar (GUIMARÃES et al., 2024). Além disso, a presença de patógenos e contaminantes orgânicos pode comprometer a qualidade do solo, dos recursos hídricos e alimentos, ampliando os riscos à saúde humana e ambiental (FERREIRA et al., 2024).

Nesse contexto, a compostagem destaca-se como uma alternativa para o manejo sustentável desses resíduos. Baseia-se em processo biológico controlado que transforma a matéria orgânica em compostos mais estáveis, ao mesmo tempo em que reduz os patógenos e disponibiliza os nutrientes de forma gradual para as plantas (SOUZA, 2021). A adição de biocarvão pode aumentar a eficiência desse processo, em função de sua elevada superfície de adsorção e alta densidade de grupos funcionais de superfície. Além disso, pode reduzir a biodisponibilidade dos metais pesados pela complexação desses elementos na sua estrutura ou, por ação indireta, através da estimulação da atividade microbiana durante a compostagem (FERREIRA, 2023).

A diversidade bacteriana do solo é um indicador da qualidade e sustentabilidade dos sistemas agrícolas (WANG et al., 2021a). As bactérias desempenham papéis essenciais na ciclagem de nutrientes, decomposição de matéria orgânica e promoção do crescimento das plantas. O estudo dos efeitos dos resíduos animais sobre as comunidades bacterianas é crucial para garantir a manutenção das funções ecossistêmicas do solo (DINCĂ et al., 2022; ONEȚ et al., 2016). Portanto, compreender o impacto do uso de resíduos animais na diversidade

bacteriana do solo e explorar novas alternativas para otimizar o processo de compostagem pode impulsionar práticas agrícolas mais produtivas e sustentáveis.

Com base no exposto, as hipóteses desse estudo são que: (1) em agroecossistemas tropicais de montanha, o cultivo intensivo promove alteração dos atributos físicos, químicos e na comunidade bacteriana do solo; (2) resíduos animais de diferentes origens têm efeitos distintos a curto prazo sobre os atributos químicos e comunidade bacteriana dos solos; e (3) a adição do biocarvão altera a comunidade bacteriana durante o processo de compostagem, aumentando a eficiência do processo e, assim, a redução de bactérias indesejáveis.

Assim, dividiu-se o estudo em três capítulos, intitulados: (I) Redução da complexidade da comunidade bacteriana do solo sob cultivo intensivo em agroecossistema de montanha; (II) Efeitos de curto prazo da cama de aviário e do esterco bovino nas propriedades químicas e na comunidade bacteriana do solo; e (III) Alteração da comunidade bacteriana durante o processo de compostagem de cama de aviário utilizando biocarvão.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção Animal e Geração de Resíduos na Produção Animal

Em 2024 o saldo da balança comercial brasileira atingiu um superávit de US\$ 74,6 bilhões, o segundo maior da série histórica, atrás apenas do registrado em 2023, que foi de US\$98,9 bilhões (BRASIL, 2025). Os principais setores de exportação incluem soja e seus derivados, carnes, produtos florestais, cereais, farinhas e preparações, além do complexo sucroalcooleiro. O Brasil se posiciona como líder mundial na exportação de suco de laranja, respondendo por quase 80% do comércio global, seguido pela soja (aproximadamente 55%), açúcar (45%), carne de aves (33%), milho (31%), café (cerca de 28%) e carne bovina (quase 25% do comércio mundial) (BASSO; NEVES; GROSSI-DE-SA, 2023). Esses números, portanto, posicionam o Brasil como um dos maiores produtores de aves e bovinos no cenário global.

Em 2022, o Brasil produziu aproximadamente 14,5 milhões de toneladas de carne de frango e 4,9 bilhões de dúzias de ovos, provenientes de rebanhos de 260 milhões de aves (ABPA, 2025; IBGE, 2022). Considerando que 1,05 kg de cama é produzido por ave (MOORE et al., 2011), estima-se que milhares de toneladas de cama de aviário sejam produzidas anualmente. Com o aumento populacional e a consequente demanda por carne de frango, a produção de cama de aviário também tem aumentado, agravando os problemas relacionados ao manejo desses resíduos (FAHIMI et al., 2020).

A cama de aviário não se resume apenas às fezes das aves; ela é composta por material de cama, ração e água desperdiçadas, penas, solo e excrementos (fezes e urina). Sua função principal é proteger as aves e isolar o piso do aviário, ajudando a estabilizar a temperatura, além de incorporar urina e fezes e servir como substrato para absorção de água (AVILA et al., 2008; DA CUNHA SILVEIRA; MONACO VIEIRA, 2020). Assim, a composição da cama é influenciada por diversos fatores, como o sistema de produção, o peso médio das aves, a quantidade de cama utilizada, a frequência de remoção e a prática da compostagem (ASHWORTH; CHASTAIN; MOORE, 2020).

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, com cerca de 218 milhões de cabeças de gado (FAO, 2023), e grande parte desse rebanho é criada em pastagens (DIAS-FILHO, 2014). Considerando que um animal com peso corporal médio de 630 kg pode produzir aproximadamente 66 kg de esterco por dia, estima-se que 18,5 bilhões de toneladas de resíduos de bovinos sejam produzidos anualmente (ARIKAN; MULBRY; LANSING, 2015; NENNICH et al., 2005), o qual pode levar cerca de um ano para decompor 70% de sua massa (ZHU et al., 2020).

O manejo dos resíduos oriundos da pecuária, geralmente concentrados em área pequenas, é um desafio operacional e econômico para empresas da área (GIROTTI; COSSU, 2017). Estes resíduos, que apresentam características químicas distintas (Tabela 1) têm sido usualmente empregados para diversos fins, como adubos, corretivo de solo, fonte de energia e material de construção. Essa variabilidade de aplicações se deve a sua composição, que inclui nutrientes, matéria orgânica, sólidos, energia e fibras. A combustão direta, densificação de biomassa e digestão anaeróbica são técnicas que podem utilizar resíduos para produzir energia. A digestão anaeróbica pode gerar biogás através da digestão de resíduos ricos em matéria orgânica (como resíduos alimentares e esterco de gado), configurando-se uma opção mais limpa que os combustíveis fósseis para produção de energia (FORSSBERG, 2010;

GEBREZGABHER et al., 2010; MUNISAMY et al., 2017). Contudo, os resíduos animais são comumente utilizados como adubo na agricultura, devido aos altos teores de matéria orgânica e nutrientes, que auxiliam na fertilidade do solo e, consequentemente, no crescimento das plantas (AYUB et al., 2022; BOLAN et al., 2010).

Tabela 1. Análise química e teor de cinzas de resíduos de diferentes origens. Adaptado de HOYOS-SEBÁ et al. (2024).

Resíduo	Análise elementar									
	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)	C:N				
Bovino	44,65	5,85	38,18	2,05	0,09	21,8				
Avícola	38,1	5,6	30,9	3,5	0,60	10,9				
Suíno	54,3	7,5	31,5	5,1	1,70	10,6				
Ovino	40,6	5,1	30,7	2,1	0,60	19,3				
Equino	43,0	5,7	49,5	1,0	0,80	43,0				
Composição das Cinzas (% em Cinzas)										
Resíduo	SO ₃ (%)	P ₂ O ₅ (%)	SiO ₂ (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	Al ₂ O ₃ (%)	CaO (%)	MgO (%)	Na ₂ O (%)	K ₂ O (%)	TiO ₂ (%)
Bovino	5,57	13,04	19,83	0,93	1,51	32,1	9,84	5,95	9,41	0,11
Avícola	2,52	14,00	39,40	4,04	9,14	12,70	4,01	3,60	9,94	0,51
Ovino	5,52	9,21	29,30	1,95	3,08	12,80	5,74	4,64	2,24*	0,20

* Adaptado de FIGUEIREDO et al. (2012)

2.2. Uso de Cama da Aviário e Esterco Bovino na Agricultura

Os benefícios da utilização da cama de aviário como fertilizante foi evidenciado em várias culturas. Em sistemas agroflorestais, a aplicação a longo prazo de cama de aviário leva ao aumento de pH e das concentrações, fósforo (P), cálcio (Ca), Carbono orgânico do solo (COS) e nitrogênio (N) do solo em comparação com o controle, com fertilizantes inorgânicos (AMORIM et al., 2022). Em pastagens, a utilização desse resíduo promove aumento na taxa de acúmulo diário e na produção de massa de forragem, bem como aumento na fração de proteína bruta do capim Mombaça (TOMAZELLO et al., 2023). Na cultura da soja, a aplicação de resíduos animais elevou as quantidades de P e K no solo, resultando em aumento do teor de clorofila das folhas, altura das plantas, matéria seca da parte aérea e das raízes, além de melhorar a nodulação (RAGAGNIN et al., 2013; RIBEIRO et al., 2017). De forma geral, a aplicação de resíduos animais contribui para a melhoria dos atributos físicos do solo, como a estabilidade dos agregados (OZLU; KUMAR, 2018), redução da compactação do solo (BLANCO-CANQUI; HERGERT; NIELSEN, 2015) e no aumento da retenção de água (OZLU; KUMAR; ARRIAGA, 2019).

Contudo, a aplicação de resíduos animais como adubo pode causar danos ambientais, como eutrofização dos cursos d'água e contaminação do lençol freático (PARANHOS, 2021). Um exemplo emblemático ocorreu na Carolina do Norte em 1995, quando houve o vazamento de resíduos da indústria suinícola no rio Neuse. Esse vazamento ocasionou a mortandade de peixes, proliferação de algas e inviabilizou a utilização para pesca e recreação em uma área de aproximadamente 1.477 quilômetros quadrados de águas costeiras (JIANG; CHEN; DHARMASENA, 2015).

Além disso, os resíduos animais podem conter metais pesados e resíduos de antimicrobianos que representam riscos tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana. Metais como cobre (Cu), zinco (Zn), cromo (Cr) e manganês (Mn) são amplamente utilizados como aditivos na alimentação de animais de produção (WANG et al., 2013; YANG et al., 2017; ZHANG et al., 2012). Esses resíduos animais também podem disseminar

determinantes de resistência a antimicrobianos, uma vez que os antimicrobianos usados na criação de animais nem sempre são completamente metabolizados e são excretados no esterco utilizado como fertilizante (GENG et al., 2022; MĘCIK et al., 2023). Esses resíduos também podem conter desreguladores endócrinos, como hormônios esteróides (COMBALBERT et al., 2012). Portanto, se os resíduos animais não forem tratados adequadamente, podem perturbar o equilíbrio ecológico e comprometer a segurança desse recurso natural (HILAIRE et al., 2022).

A composição bacteriana é variável de acordo com o tipo de resíduo. A cama de aviário é dominada pelo filo bacteriano Actinobacteriota, enquanto o esterco bovino é predominantemente do filo Bacteroidota. Em ambos os resíduos, o filo Firmicutes é um dos mais abundantes (GURMESSA et al., 2021). Microrganismos patogênicos em cama de aviário, como *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* e *Listeria monocytogenes*, podem atingir até 10^{10} UFC g⁻¹ (CHINIVASAGAM et al., 2010; WILKINSON et al., 2011) e podem ser disseminados no meio ambiente e potencialmente contaminar produtos que são consumidos frescos. Por isso, estão frequentemente associados a surtos de origem alimentar (PIN VISO et al., 2023).

Para enfrentar esses desafios, é necessário adotar métodos adequados de tratamento para o esterco animal, como compostagem, digestão anaeróbica, pirólise, gaseificação, hidrólise, tratamento enzimático e conversão microbiana (KANANI et al., 2020; ZHANG; REN; BAI, 2023). Tais métodos além de reduzirem o volume de resíduos e a carga microbiana, também promovem a reciclagem de nutrientes e diminuem a dependência de fertilizantes químicos na agricultura (DE SOUZA et al., 2023; GUO et al., 2019).

A integração do uso de cama de aviário e esterco bovino na agricultura demonstra um grande potencial para a promoção da economia circular e o desenvolvimento sustentável (DHUNGANA; LOHANI; MARSOLEK, 2022). A reutilização adequada desses contribui não apenas para a reciclagem de nutrientes, como também reduz significativamente os impactos ambientais associados ao descarte inadequado dos resíduos animais (HOYOS-SEBÁ et al., 2024). Assim, para maximizar seus benefícios e minimizar os riscos associados ao seu uso, a compostagem surge como solução promissora para melhorar a qualidade dos resíduos animais, tornando-os mais seguros e eficientes para a agricultura.

2.3. Compostagem como Estratégia para Melhorar a Qualidade de Resíduos Animais

A compostagem é definida como um processo biológico de transformação de resíduos orgânicos em um material homogêneo e disponível para as plantas, que ocorre em condições aeróbicas (presença de oxigênio), com umidade e temperatura adequadas (AZIM et al., 2018). Durante o processo de compostagem, o volume e o peso do resíduo são reduzidos, os patógenos e as sementes de ervas daninhas são eliminados (GILROYED et al., 2011), os odores desagradáveis são reduzidos (TIQUIA; TAM, 1998) e os nutrientes e a matéria orgânica são estabilizados (MICHEL et al., 1996). A compostagem é uma opção viável em muitos países em desenvolvimento devido aos menores custos de investimento e operação, pouca necessidade de conhecimento científico e baixa complexidade técnica (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009; ONWOSI et al., 2017).

O processo de compostagem pode ser dividido em fase mesóflica, com temperaturas em torno de 40 °C e termóflica, com temperaturas entre 50 e 60 °C. Para a fase mesófila, a temperatura da pilha aumenta lentamente da temperatura ambiente para atingir a temperatura média deste estágio, que é de cerca de 40 °C. O pH diminui devido aos ácidos orgânicos liberados dos carboidratos e lipídios degradados por microrganismos. A partir de 40 °C, os microrganismos mesófilos são gradualmente substituídos por microrganismos termófilos (bactérias, fungos e actinobactérias). A fase termófila é caracterizada por uma temperatura geralmente entre 50 e 60 °C. Este estágio envolve muitos fungos termotolerantes e termofílicos, o pH aumenta porque os microrganismos degradam proteínas e liberam amônia. Acima de

60 °C, a degradação da matéria orgânica diminui e, após 70 °C, apenas as enzimas liberadas no estágio anterior ainda contribuem para a degradação. Durante o estágio de resfriamento, o material tende à estabilidade e os organismos mesófilos são restabelecidos (AZIM et al., 2018). Vários fatores relacionados a estas etapas podem afetar a eficiência da compostagem.

Para iniciar a compostagem, é necessário garantir uma concentração de oxigênio superior a 5%, com aeração entre 15% e 20%. A presença de oxigênio é essencial para o sucesso do processo, regulando a temperatura e a umidade, e assegurando o progresso adequado das atividades biológicas. Entretanto, o aumento na quantidade de oxigênio pode também elevar as emissões de gases de efeito estufa (PAJURA, 2024).

A temperatura ideal para o processo de compostagem varia entre 40°C e 65°C, correspondendo às diferentes fases do processo. Manter a temperatura acima de 55°C é eficaz para eliminar muitos microrganismos patogênicos, embora alguns possam persistir em certos resíduos. Para garantir a higienização completa do composto, recomenda-se atingir 70°C por pelo menos 30 minutos, ou 65°C por algumas horas. Controlar a temperatura é crucial, pois exceder o limite de tolerância das bactérias termofílicas pode interromper o processo de decomposição, reduzindo sua eficiência (PAJURA, 2024).

O pH é outro fator crucial na compostagem, pois varia durante o processo e pode influenciar a qualidade do composto. Ele afeta a atividade dos microrganismos que decompõem a matéria orgânica, e um pH inferior a 5,5 pode inibir essa atividade, prolongando o tempo necessário para a compostagem. Além disso, é importante controlar o pH para evitar emissões de gases de efeito estufa, uma vez que um pH acima de 9 pode resultar na liberação de substâncias, como amônia ou dióxido de nitrogênio, que são gases que contribuem para o efeito estufa (PAJURA, 2024).

A umidade desempenha um papel fundamental na decomposição durante a compostagem, afetando a interação dos microrganismos com o meio. Níveis inadequados de umidade podem levar à perda de nutrientes por lixiviação (LI et al., 2021). A relação C:N é outro fator fundamental na qualidade do composto. A proporção ideal varia entre 20:1 e 30:1. Misturas com alto teor de carbono degradável tendem a ter uma proporção C:N mais alta, o que pode retardar significativamente o processo. Por outro lado, uma proporção C:N muito baixa pode resultar na liberação de amônia, causando odores desagradáveis e possível lixiviação do material compostado (PAJURA, 2024). A amônia produzida através da degradação proteica tem sido proposta como uma forma de tratamento secundário para diminuir o risco de contaminação por patógenos no digestato anaeróbico (LEPESTEUR, 2022).

A porosidade e o tamanho das partículas também são fatores importantes na compostagem. A porosidade, que se refere à quantidade de espaço preenchido por ar no composto, é essencial para o controle da temperatura, permitindo um fluxo de ar adequado que mantém as condições térmicas ideais. Baixa porosidade pode levar ao superaquecimento, enquanto alta porosidade pode resultar na perda de calor. Garantir a porosidade adequada facilita o acesso do oxigênio aos microrganismos responsáveis pela decomposição. Sem uma ventilação adequada, a compostagem pode ocorrer em condições anaeróbicas, que são menos eficientes e produzem odores desagradáveis. A faixa ideal de porosidade geralmente varia entre 35% e 60% (PAJURA, 2024).

As tecnologias de compostagem podem ser classificadas de acordo com os métodos de aeração. São eles os sistemas de leiras revolvidas, sistemas em vasos, sistemas naturalmente aerados, sistemas passivamente aerados e de aeração forçada (FERNANDES; SARTAJ, 1997). Métodos como sistemas de leiras revolvidas e pilhas estáticas arejadas são eficazes na redução de bactérias patogênicas e no aumento da disponibilidade de nutrientes na compostagem de cama de aviário (ALAREFEE et al., 2023). No entanto, mais pesquisas são necessárias para otimizar e validar os sistemas de compostagem, melhorando a qualidade do composto, a gestão eficiente dos nutrientes e a redução dos seus efeitos no ambiente (OKADA et al., 2024). Ou

seja, se o processo de compostagem não for eficiente, patógenos podem ser transferidos para áreas de produção. Algumas estimativas de redução de patógenos são incertas e baseadas em estudos labororiais limitados com poucos patógenos, incluindo micróbios indicadores (principalmente coliformes fecais). Portanto, ainda não está claro se o destino dessas bactérias indicadoras representa adequadamente as respostas de vários patógenos humanos (CHEN; JIANG, 2014).

O biocarvão, ou biochar, é um composto orgânico obtido através de pirólise lenta ou rápida de fontes vegetais ou animais (LEHMANN; JOSEPH, 2012). O uso de biocarvão é uma prática que pode otimizar o processo de compostagem, resultando em um produto de maior qualidade. O biocarvão possui uma alta área de superfície, o que lhe confere uma grande capacidade de adsorção de contaminantes e de retenção de água. Essas propriedades permitem ao biocarvão reduzir a emissão de odores e gases de efeito estufa durante a compostagem, além de promover uma melhor aeração e um aumento na atividade microbiana. Com isso, o biocarvão acelera o processo de humificação e diminui a disponibilidade de metais pesados e poluentes orgânicos, melhorando as características físicas e químicas do composto e do solo (PAJURA, 2024). Também foi relatado que o biocarvão pode ajudar a manter a fase termofílica em temperaturas mais altas por períodos mais longos, o que favorece a eliminação de patógenos (LEPESTEUR, 2022).

Para otimizar o processo de compostagem, é essencial realizar mais pesquisas focadas na sua microbiota, além de desenvolver métodos e parâmetros que monitorem e melhorem o processo. A identificação de indicadores específicos para diferentes resíduos também é necessária para garantir a segurança dos produtos compostados (LEPESTEUR, 2022). Esses avanços na compostagem são fundamentais para mitigar os impactos dos resíduos animais na diversidade bacteriana dos solos agrícolas.

2.4. Uso Resíduos Animais e Práticas Agrícolas na Diversidade Bacteriana do Solo

A diversidade microbiana tem sido utilizada como indicador de qualidade do solo devido à sensibilidade que os microrganismos apresentam em relação às mudanças nesse ambiente. O teor de umidade do solo é um fator que afeta a diversidade microbiana, pois influencia a disponibilidade de água livre conectando partículas do solo, que são cruciais para a vida microbiana. A diversidade bacteriana é reduzida em solo saturado de água (ZHOU et al., 2002). A inundação completa eventualmente leva a condições anóxicas e tem um impacto significativo não apenas nas propriedades do solo, mas também em todo o ecossistema edáfico (GUPTA et al., 2022). Contudo, as respostas das comunidades microbianas do solo a diferentes condições de umidade ainda são incertas (JIAO et al., 2023).

O monocultivo também pode alterar os parâmetros do solo, particularmente a riqueza de espécies, a atividade microbiana e a estrutura da comunidade, enquanto práticas que promovem o acúmulo e retenção de matéria orgânica do solo aumentam a diversidade bacteriana (GUPTA et al., 2022). Também foi relatado que a rotação de culturas aumenta o índice de diversidade de Shannon em 7,68% quando comparado com práticas de monocultura, mas o tamanho do efeito da rotação de culturas varia de acordo com as práticas de manejo, como o tipo de cultura ou das práticas de preparo do solo (LIU et al., 2023).

O crescimento da demanda por alimentos também levou ao aumento do uso de produtos químicos de proteção de plantas nos cultivos agrícolas. Como são produtos químicos ativos, eles afetam fortemente a microbiota do solo. Embora alguns estudos sugiram que os pesticidas em suas doses recomendadas têm efeitos menores ou transitórios na microbiota do solo em geral (GEVAO; SEMPLE; JONES, 2000; KALAM; TAH; MUKHERJEE, 2004), ainda há necessidade de estudos mais específicos (GUPTA et al., 2022).

O revolvimento do solo, por outro lado, é amplamente reconhecido como um fator que influencia a comunidade microbiana do solo (DONG et al., 2017). Práticas de cultivo intensivo, combinadas com a aplicação de fertilizantes orgânicos, têm um impacto significativo nas comunidades bacterianas, podendo alterar a biodiversidade do solo ou sua função no ecossistema (GUPTA et al., 2022; LI et al., 2018). Diante disso, é essencial considerar todos esses fatores, especialmente no cenário atual de mudanças climáticas globais, já que eles afetam diretamente a funcionalidade e a produtividade tanto dos sistemas agrícolas quanto dos ecossistemas naturais, podendo limitar diversos serviços ecossistêmicos (GUPTA et al., 2022).

A resposta da diversidade bacteriana do solo à fertilização depende do contexto ecológico. Em regiões com solos ácidos, alta precipitação e fertilidade, a fertilização inorgânica pode intensificar a acidificação, reduzindo a diversidade bacteriana em comparação com a adubação orgânica. Um estudo realizado na China, que analisou solos de dez experimentos de campo ao longo de 20 anos de fertilização (orgânica e/ou inorgânica), observou que táxons como *Nitrosospira* e *Nitrososphaera*, enriquecidos pela aplicação de fertilizantes inorgânicos, assim como *Chitinophagaceae*, *Bacillus* e bactérias fototróficas, que respondem positivamente à adubação orgânica, podem ser usados como bioindicadores da fertilidade do solo em resposta às práticas de adubação (FENG et al., 2022).

Além disso, algumas bactérias associadas a adubação com resíduos animais, como Firmicutes e Myxococcales, foram encontradas como componentes principais em solos adubados com resíduos animais (CUI et al., 2018; RIEKE et al., 2018). Certos grupos microbianos, como Firmicutes e Proteobacteria, são estimulados pela aplicação desses fertilizantes devido à sua preferência por ambientes ricos em nutrientes e sua capacidade de degradar compostos orgânicos complexos (FRANCIOLI et al., 2016). A aplicação de resíduos animais também aumentou a abundância relativa de Gammaproteobacteria, responsáveis pela decomposição do substrato orgânico, e Nitrosomonadaceae (Betaproteobacteria), que desempenham um papel crucial na conversão de amônio em nitrato (AI et al., 2018).

De forma geral, fertilizantes orgânicos aumentam a matéria orgânica e os micronutrientes do solo, melhoram sua estrutura e promovem uma maior diversidade microbiana. Além disso, a adição de matéria orgânica favorece a atividade microbiana, que pode ser medida pela atividade desidrogenase, um indicador da qualidade do solo. Finalmente, dependendo do tipo de solo, grupos específicos relacionados ao ciclo fundamental de nutrientes, como Proteobacteria e Firmicutes, são promovidos pela fertilização orgânica, provavelmente devido à melhoria do carbono orgânico e à adição de grupos microbianos específicos dos fertilizantes orgânicos (DINCĂ et al., 2022).

A “qualidade do solo” é definida pela sua capacidade de atuar como um componente do ecossistema que mantém a qualidade do ar e da água ao redor, enquanto apoia a produtividade vegetal e animal (DORAN; ZEISS, 2000). Solos de alta qualidade são, portanto, essenciais para sustentar as atividades agrícolas e pecuárias, fundamentais para a segurança alimentar e a estabilidade financeira (OLIVER; GREGORY, 2015). No entanto, apesar da reconhecida importância do monitoramento da qualidade do solo, muitas vezes ignora-se as mudanças nas comunidades bacterianas, que são cruciais para garantir a sustentabilidade das práticas de manejo da terra (HERMANS et al., 2020).

Nos últimos anos, o número de estudos sobre a ecologia bacteriana do solo no Brasil aumentou, impulsionado pela redução dos custos de sequenciamento. Muitos desses estudos utilizam o sequenciamento da região conservada do gene ribossômico 16S (16S rRNA) para identificar comunidades microbianas. Este gene, amplamente distribuído e conservado entre os procariontes, fornece uma quantidade significativa de informações, tornando-se uma ferramenta popular na ecologia bacteriana (TOMAZELLI et al., 2024). As análises filogenéticas baseadas no gene 16S rRNA permitem classificar bactérias e arqueias em mais de 60 filos. Contudo, metade desses filos não possui representantes cultivados ou são classificados

como “candidatos”, representando uma parte significativa da árvore da vida (HUG et al., 2016; HUGENHOLTZ, 2002; RINKE et al., 2013). Isso limita a informação direta sobre a ecologia e as capacidades metabólicas dos microrganismos detectados (KROEGER et al., 2018).

A biodiversidade é reconhecida como um fator chave que afeta o funcionamento dos ecossistemas (BALVANERA et al., 2006; WAGG et al., 2014). O microbioma do solo é um sistema ecológico diversificado que desempenha um papel crucial na manutenção de funções importantes nesse ambiente, como os ciclos de nutrientes e a fertilidade do solo, contribuindo para a produção agrícola (FIERER, 2017; JANSSON; HOFMOCKEL, 2018). A estrutura da comunidade bacteriana do solo é altamente sensível às mudanças ambientais causadas por atividades naturais ou humanas, tornando-se um indicador valioso da qualidade do manejo da terra (WONGKIEW et al., 2022). Correlações significativas entre táxons microbianos específicos e variáveis do solo foram observadas, indicando que os dados da comunidade microbiana podem refletir mudanças nas condições físicas e químicas (HERMANS et al., 2017), e servir como indicadores de restauração ecológica (LIDDICOAT et al., 2019) e até prever o rendimento das colheitas (JEANNE; PARENT; HOGUE, 2019).

Portanto estabilidade funcional do solo depende fortemente da diversidade microbiana. Esse incremento da riqueza ou da equitabilidade de espécies tende a aumentar a resistência e resiliência dos processos microbianos (GIRVAN et al., 2005), por outro lado, a perda de diversidade microbiana pode impactar negativamente o ciclo de nutrientes (PHILIPPOT et al., 2013). No entanto, a redundância funcional, que sugere que diferentes espécies podem desempenhar funções similares no ecossistema, pode mitigar o impacto da perda de biodiversidade (PHILIPPOT et al., 2013).

3. CAPÍTULO I

REDUÇÃO DA COMPLEXIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO SOB CULTIVO INTENSIVO EM AGROECOSISTEMA DE MONTANHA

3.1. RESUMO

As condições climáticas em ambientes de montanha nos países tropicais permitem o cultivo de hortaliças durante todo o ano. No entanto, o cultivo intensivo pode levar à degradação do solo e comprometer seus serviços ecossistêmicos. Considerando a importância dos microrganismos na manutenção dos ciclos biogeoquímicos, este estudo teve como objetivo avaliar o impacto do cultivo intensivo sobre a diversidade bacteriana em solos agrícolas e de floresta em uma área de produção de hortaliças em Nova Friburgo, RJ, Brasil. A composição e diversidade das comunidades bacterianas do solo foram investigadas por meio do sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA, utilizando a plataforma Illumina MiSeq, e correlacionada com as propriedades químicas do solo. A diferença nos atributos químicos do solo resultou em diferenças significativas na composição bacteriana, embora a riqueza e a diversidade de espécies não tenham variado entre as áreas de cultivo agrícola e de floresta. Em ambos os solos, as comunidades especialistas foram mais abundantes do que as generalistas. Os solos agrícolas apresentaram uma redução da complexidade das comunidades bacterianas e alteração da composição dos táxons-chave em relação aos solos de floresta. Estes resultados evidenciam o impacto das práticas agrícolas convencionais na microbiota do solo, o que reduz a resiliência desses ambientes em comparação aos solos de floresta.

Palavras-chave: Ciclagem de nutrientes. Conservação do solo. Hortaliças. Qualidade do solo.

3.2. ABSTRACT

The climatic conditions in mountain environments in tropical countries allow year-round vegetable cultivation. However, intensive cultivation can lead to soil degradation and compromise its ecosystem services. Considering the importance of microorganisms in maintaining biogeochemical cycles, this study aimed to evaluate the impact of intensive cultivation on bacterial diversity in agricultural and forest soils in a vegetable production area in Nova Friburgo, RJ, Brazil. The composition and diversity of soil bacterial communities were investigated by sequencing the V3-V4 region of the 16S rRNA gene, using the Illumina MiSeq platform, and correlated with soil chemical properties. The difference in soil chemical attributes resulted in significant differences in bacterial composition, although species richness and diversity did not vary between agricultural and forest areas. In both soils, specialist communities were more abundant than generalist. Agricultural soils showed a reduction in the complexity of bacterial communities and a change in the composition of key taxa compared to forest soils. These results highlight the impact of conventional agricultural practices on soil microbiota, which reduces the resilience of these environments compared to forest soils.

Keywords: Nutrient cycling. Soil conservation. Horticulture. Soil quality.

3.3. INTRODUÇÃO

As regiões montanhosas ao redor do mundo desempenham um papel importante na provisão de recursos hídricos, energia e produtos agrícolas (VISSCHER et al., 2024). As montanhas desempenham um papel fundamental na preservação da biodiversidade, abrigando espécies endêmicas e contribuindo para a manutenção de ecossistemas únicos. Na América Latina, as características do clima tropical de altitude presentes nos ambientes de montanha criam condições favoráveis para a agricultura, que possibilitam o cultivo de hortaliças ao longo de todo o ano (NETTO; DE ASSIS; DE AQUINO, 2016). Assim, esses ecossistemas abrigam muitas comunidades rurais, que dependem desses recursos para a sua subsistência (ECKHOLM, 1975; KOOHAFKAN; ALTIERI, 2011). Os agroecossistemas de montanha possuem particularidades, determinadas por fatores como gradientes ambientais associadas à altitude, maior suscetibilidade à erosão e intensa pressão antropogênica. A combinação da pressão antrópica e condições ambientais, afeta a atividade e a diversidade biológica do solo, influenciando diretamente as múltiplas funções ecossistêmicas desses ambientes (CAULFIELD et al., 2020; POVEDA et al., 2012; VISSCHER et al., 2024).

Nova Friburgo é um município da região Serrana do estado do Rio de Janeiro, localizado nas coordenadas 22°16'55" de Latitude Sul e 42°31'52" de Longitude, com altitude média de 846 metros. No que se refere ao uso da terra na região, o município abriga estabelecimentos agropecuários, além de matas e florestas que compreendem Áreas de Preservação Permanente, Reserva Legal e sistemas agroflorestais (DIAS, 2017). A presença dessas áreas de mata está associada à declividade do terreno, conforme estabelecido no artigo 4º da Lei nº 12.651 de 25 de março de 2012 (BRASIL, 2012), que determina a manutenção da vegetação nativa em áreas de preservação permanente. Em 2024, a região abrigou 59% dos produtores de hortaliças do estado, dos quais contribuíram com 61% da produção estadual em uma área estimada em 15,4 mil hectares (EMATER, 2024). A horticultura nesta região desempenha um papel crucial, não apenas pelo impacto econômico, mas também por garantir a disponibilidade de alimentos para o estado do Rio de Janeiro, destacando-se por envolver culturas de ciclo curto e alta produtividade (EMATER, 2024).

O sistema de cultivo frequentemente adotado na região é caracterizado pelo uso intensivo de máquinas, agroquímicos e práticas convencionais de preparo do solo. Essas abordagens, embora amplamente utilizadas, podem ocasionar modificações significativas no ambiente, como compactação do solo, erosão e contaminação por resíduos de fertilizantes e agrotóxicos (CALEGARI et al., 1993). Neste contexto, os sistemas de cultivo convencionais podem promover rapidamente perdas na qualidade física, química e biológica dos solos da região, resultando na redução da produtividade das culturas e da qualidade de vida dos agricultores (Ribeiro Mauri et al., 2024). Além disso, a utilização da cama de aviário "fresca" como fertilizante orgânico, apesar de contribuir para a oferta de nutrientes, pode também carregar patógenos para o solo que representam riscos à saúde pública e ao meio ambiente (BHERING et al., 2017; FERREIRA et al., 2024). Os microrganismos do solo exercem funções relevantes nos ecossistemas terrestres, como a ciclagem e mobilização de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, aeração do solo e controle da cadeia trófica (LAVELLE, 2000). Devido à sensibilidade dessas comunidades às mudanças ambientais, os microrganismos podem ser considerados indicadores da qualidade do solo (KENNEDY; STUBBS, 2006).

A vulnerabilidade natural da região, associada à adoção de sistema intensivo de produção agrícola representa uma ameaça à sustentabilidade do agroecossistema. Isso ocorre porque esse modelo eleva o risco de degradação do solo e dos corpos hídricos, podendo resultar

em queda na produtividade agrícola e contaminação ambiental (CALEGARI et al., 1993). Diante disso, é fundamental monitorar a qualidade do solo agrícola, pois a avaliação ecológica das práticas adotadas pode indicar seu estado e orientar o manejo mais adequado para preservar os serviços ecossistêmicos e a fertilidade do solo. Nesse contexto, investigamos a hipótese de que o cultivo intensivo altera a composição bacteriana do solo, reduzindo sua complexidade funcional e, consequentemente, sua capacidade de sustentar funções ecossistêmicas. Para fins de comparação, analisamos solo de floresta com vegetação nativa na mesma região. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade bacteriana e sua relação com as propriedades químicas de solos agrícolas em comparação a solos florestais em ambientes de montanha de Nova Friburgo – RJ.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo compreende a microbacia hidrográfica de Barracão dos Mendes, situada no município de Nova Friburgo, região Serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Está situada em Latitude 22°16'55" e Longitude 42°31'15". As áreas da microbacia apresentam altitude que variam de 1000 a 2500 m. O clima é tropical de altitude, com temperatura amena no verão e fria no inverno (CHACON; MARTA; MARÍA, 2016). Os solos são identificados como Cambissolos e Latossolos Vermelho-Amarelos Álicos e, na vertente oriental de montanhas, há solos menos lixiviados como Argissolos Vermelho-Amarelos e Argissolos Vermelhos eutróficos (DANTAS et al., 2015).

A coleta foi realizada em áreas agrícolas com produção intensiva de hortaliças e suas respectivas áreas de floresta (Reserva Legal) (Figura 1). Cada amostra composta foi constituída de trinta subamostras, coletadas na profundidade de 0 a 20 cm, ao longo de cada ponto escolhido. Os pontos amostrados foram georreferenciados com a utilização de um GPS topográfico, marca Garmin, modelo Montana TM 650. Os atributos físicos e químicos dos solos foram analisados por Rodrigues Barbosa et al. (2024). As amostras de solo foram secas ao ar e passadas por peneira com malha de 2,0 mm de diâmetro para determinação dos teores de matéria orgânica (MO), pH (H₂O), P, K, Ca, Mg e Al trocáveis, H+Al, soma das bases, Fe e Al totais, areia, silte e argila, seguindo metodologia da Embrapa (TEIXEIRA et al., 2017).

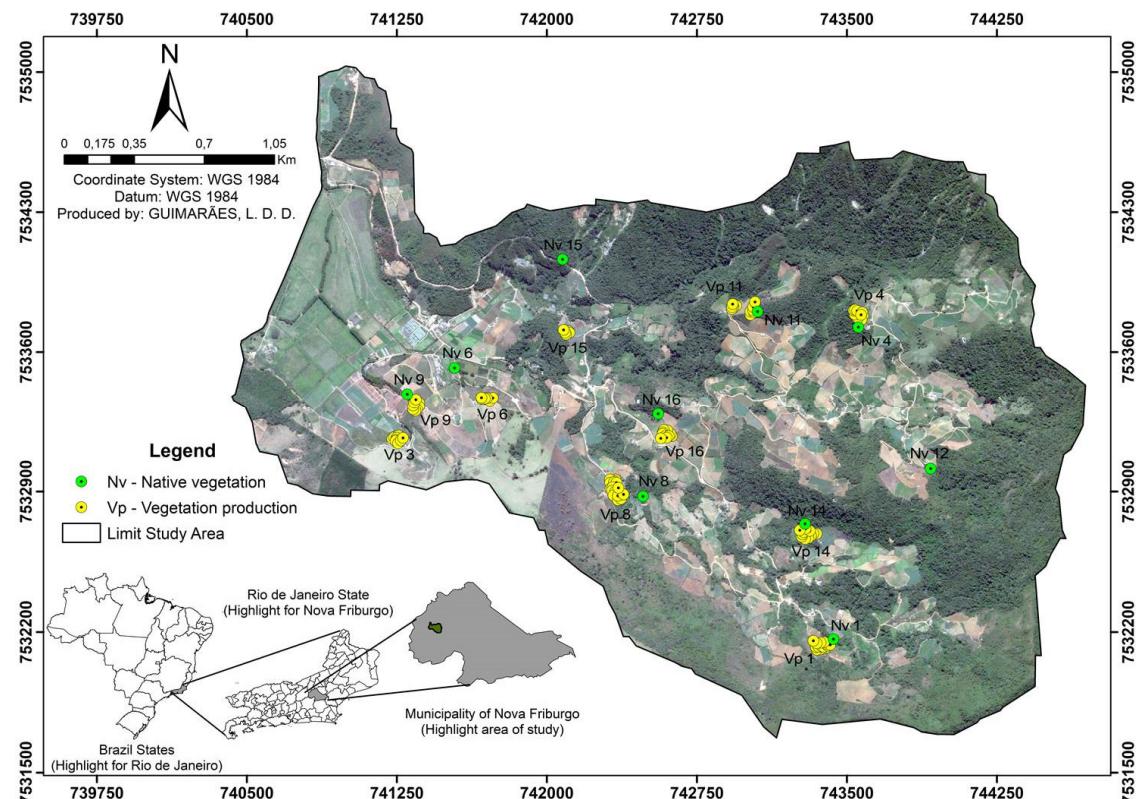


Figura 1. Mapa mostrando a localização da área de estudo na bacia hidrográfica do Barracão dos Mendes (delimitada pela linha preta), localizada em Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. Os pontos amarelos correspondem aos solos de cultivo agrícola com produção intensiva de hortaliças e os pontos verdes correspondem aos solos de suas respectivas áreas de floresta (Reserva Legal).

As extrações do DNA total das amostras de solo foram realizadas utilizando o kit DNA PowerSoil (MO Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EUA) utilizando 0,5 g de solo, segundo protocolo fornecido pelo fabricante. Após a extração, as amostras foram armazenadas a -20º C, e a quantidade e a qualidade do DNA obtidos foram avaliadas por espectrofotômetro (Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific).

A biblioteca foi preparada com base na região V3-V4 do gene 16S rRNA utilizando os primers Bakt_341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') e Bakt_805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (CAPORASO et al., 2012). Os amplicons foram multiplexados em corrida única na plataforma Illumina Next-Generation Sequencing (NGS) MiSeq (Illumina, EUA) 2 x 300bp (*paired-end*) resultando em uma saída de dados de cerca de 5 Gb (*.fastq) ao final da leitura. Após remoção de leituras com Q-score médio < 30 nos primeiros 30% da leitura PhiX Control kit v3 (FC-110-3001), resultando em 1.520.181 pares de *reads* (*forward* e *reverse*).

Os *reads* foram processados seguindo adaptações do pipeline DADA2 (v1.16), utilizando as seguintes etapas e funções: filtragem (filterAndTrim) com *Quality Score* médio ≥ 30 e remoção de sequências fora de 400-430 bases ou incompatíveis com os *primers*. Após filtragem, aplicou-se o aprendizado das taxas de erro (learnErrors), desreplicação (derepFastq), inferência de variantes (dada), mesclagem de *reads* (mergePairs) e remoção de quimeras (removeBimeraDenovo), resultando em 639.980 sequências únicas (42% do *input*) agrupadas em 1.0288 ASVs. A atribuição taxonômica até gênero foi realizada com o método *naive Bayesian classifier* (função assignTaxonomy do DADA2), utilizando a base de dados SILVA_SSU_r132. Para análises multivariadas, os dados foram rarefeitos (função rarefy_even_depth do 'phyloseq') com corte em 23.224 *reads* por amostra, garantindo equalização da profundidade amostral. Diversidade alfa e beta (vegan) e gráficos (ggplot2) foram geridos pelas respectivas bibliotecas, mantendo a estrutura analítica integrada.

A estrutura das comunidades bacterianas foi ordenada via Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS) utilizando o índice de Bray-Curtis (calculado pela função vegdist do pacote vegan), que quantifica a dissimilaridade (0 = composição idêntica de ASVs; 1 = nenhum ASV compartilhado) entre as comunidades de solo agrícola e floresta. A análise NMDS (função metaMDS do vegan) refletiu a dissimilaridade na distribuição de ASVs entre os ambientes, com base nas matrizes geradas a partir dos dados processados pelo DADA2. A visualização gráfica foi elaborada com o ggplot2, mantendo a integração com o pipeline de análises prévias (filtragem, inferência de ASVs e normalização via phyloseq). Para análises univariadas, a estruturação dos dados em ASVs (via DADA2) e a normalização por rarefação (via rarefy_even_depth do phyloseq) garantiram a comparabilidade estatística entre amostras, reduzindo viéses de profundidade sequencial. Comparações entre dados paramétricos foram feitas por meio de ANOVA e post-hoc teste *t*, suportados pelo vegan e phyloseq.

Para determinar a abundância relativa dos filos e classes bacterianas, análises de abundância diferencial foram realizadas utilizando o pacote DESeq2 (baseado em modelos de distribuição binomial negativa e teste de Wald), aplicado a dados normalizados pelo phyloseq. Apenas ASVs com variações significativas (*p*-value ajustado < 0,01, após correção de Benjamini-Hochberg) foram consideradas, e suas magnitudes de alteração foram representadas pelo log2(Fold Change - FC). Quanto maior a distância em relação à linha central (0), maior a abundância relativa das classes no ambiente correspondente (floresta: coordenada positiva; agrícola: coordenada negativa). A visualização empregou ggplot2, onde os pontos (círculos preenchidos) representam ASVs, com tamanho proporcional ao número de cópias (escala: 2.000 a 10.000 cópias), refletindo sua contribuição na comunidade.

O método CLAM (Multinomial Species Classification Method), implementado no pacote R vegan (função clamtest), classifica ASVs em categorias ecológicas (*especialistas*,

generalistas e raras) com base na distribuição de abundância entre habitats (ex: agrícola vs. floresta). Utilizando um modelo multinomial e testes de razão de verossimilhança ($p < 0,05$), avalia-se a abundância de cada ASV é significativamente associada a um ou ambos os habitats, considerando a distribuição espacializada entre amostras (não apenas presença/ausência). ASVs especialistas apresentam abundância consistentemente maior em um único habitat ($p < 0,01$), generalistas têm distribuição equilibrada, e ASVs raras (≤ 16 cópias) são excluídas por insuficiência estatística. A classificação integra magnitude ($\log_2(\text{FC})$) e consistência da ocorrência entre réplicas, assegurando rigor ao inferir estratégias ecológicas, com ajustes para múltiplas comparações.

Para relacionar a abundância de ASVs atribuídas aos filos bacterianos com base nos dados rarefeitos do solo e altitude, foi aplicada a correlação de Spearman. Os valores de p foram calculados usando o algoritmo AS 89 e o p -value exato computado por Spearman's ρ , caso contrário, através da aproximação t assintótica. Códigos de significância das correlações (p): 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1.

A análise de rede de coocorrência foi realizada para explicar a estrutura das interações microbianas nos cinco nichos. As associações foram estabelecidas por meio da correlação SparCC (pacote R NetCoMi), filtrando ASVs com frequência relativa superior a 0,0005 e utilizando o método NetCoMi (pacote R NetCoMi) com normalização de Hellinger (função decostand do pacote R vegan) (PESCHEL et al., 2021). As redes foram construídas com o algoritmo de árvore geradora mínima de Kruskal (função minimum.spanning.tree do pacote R igraph) para identificar grupos de ASVs altamente correlacionados. Os parâmetros da rede foram estimados para cada ambiente, implementada via pacotes R NetCoMi e igraph (TACKMANN; MATIAS RODRIGUES; VON MERING, 2019). Os gráficos das redes foram elaborados no software Gephi v. 0.10.1 (BASTIAN; HEYMANN; JACOMY, 2009) (com exportação de dados via pacote R rgexf), onde nós desconectados e arestas com pesos inferiores a 0,6 ou p -valor $> 0,01$ foram ocultados.

3.5. RESULTADOS

As áreas agrícolas e de floresta apresentaram perfis químicos contrastantes (Tabela 2). Nos solos agrícolas, os valores de pH, P e K⁺ foram significativamente maiores. Nas florestas, as concentrações de Al³⁺ e a acidez potencial foram maiores do que nas áreas agrícolas. Não houve diferença significativa para o conteúdo de MO e outras variáveis.

Tabela 2. Análise de médias e variância (ANOVA) das principais propriedades químicas do solo, matéria orgânica (MO) e teor de argila, e altitude de amostragem em áreas agrícolas com produção intensiva de hortaliças e suas respectivas áreas de floresta

Variável	Solos agrícolas	Solos de floresta	p (teste-F)	LSD
pH	5,3 ± 0,37	4,9 ± 0,31	0,009	0,32 *
P (mg kg ⁻¹)	168,6 ± 74,5	22,4 ± 29,5	<0,001	53,2 *
K ⁺ (mg kg ⁻¹)	242,0 ± 68,4	86,2 ± 32,2	<0,001	50,2 *
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	4,2 ± 1,14	2,6 ± 4,07	0,270	2,81
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,9 ± 3,29	0,6 ± 0,54	0,241	2,21
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,4 ± 0,36	1,5 ± 0,83	0,002	0,64 *
H ⁺ +Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	6,4 ± 2,39	10,2 ± 4,11	0,021	3,16 *
T.Al (g kg ⁻¹)	31,9 ± 23,4	17,3 ± 2,10	0,065	15,6
T.Fe (g kg ⁻¹)	40,7 ± 25,2	39,1 ± 15,7	0,862	19,7
OM (g kg ⁻¹)	32,5 ± 6,62	38,9 ± 9,90	0,106	7,91
Argila (g kg ⁻¹)	376,3 ± 76,1	364,2 ± 68,8	0,714	68,1
Altitude (m)	1144 ± 100	1173 ± 104	---	---

(*) diferença significativa pelo teste F a 5% e teste post hoc da Diferença Mínima Significativa de Fisher (LSD) a 5% de significância, simultaneamente. As abreviaturas OM, T.Al e T.Fe são matéria orgânica, Al total e Fe total, respectivamente.

Houve nítida diferenciação entre as estruturas das comunidades bacterianas em solos agrícolas e de floresta (Figura 2A). A análise de redundância baseada em distância (dbRDA) explicou 23% da variação total por dois eixos principais. Desse total, 42% da variação foi explicada por variáveis ambientais (restritas) e o restante (58%) por dados genéticos (sem restrições). Com base na Análise Restrita de Coordenadas Principais (CAP), um modelo reduzido foi proposto para explicar a variação na comunidade bacteriana em função de variáveis ambientais. Apenas nove variáveis se destacaram pela baixa colinearidade, sendo pH, P, K⁺, Ca²⁺ e MO as mais significativas pelo teste de permutação (PERMANOVA) ($R^2 = 0,55$; Teste F, $p = 0,008$). Embora a estrutura bacteriana entre as áreas agrícolas e de floresta tenha sido diferente, as médias do número de cópias das Variantes de Sequência de Amplicon (ASVs) (Figura 2B) e da diversidade (Figura 2C) não se alteraram (teste F, $p > 0,05$).

As atribuições taxonômicas foram feitas para 682.075 sequências bacterianas filtradas de qualidade agrupadas em 8.761 ASVs distribuídas entre as 20 amostras sequenciadas. Após o procedimento de rarefação, as amostras foram equalizadas em 453.860 leituras totais, preservando as 8.761 ASVs únicas. A maioria dessas ASVs (62%) ocorreu em uma frequência relativamente baixa (16 cópias ou menos) e foram classificados como bactérias muito raras de acordo com o procedimento Multinomial Species Classification Method (CLAM) (Figura 3A). Do total de ASVs restantes, 15% foram classificadas como especialistas em áreas agrícolas, 17% eram especialistas em áreas de floresta e 6% foram classificados como generalistas de solos, presentes mutuamente em ambos os locais.

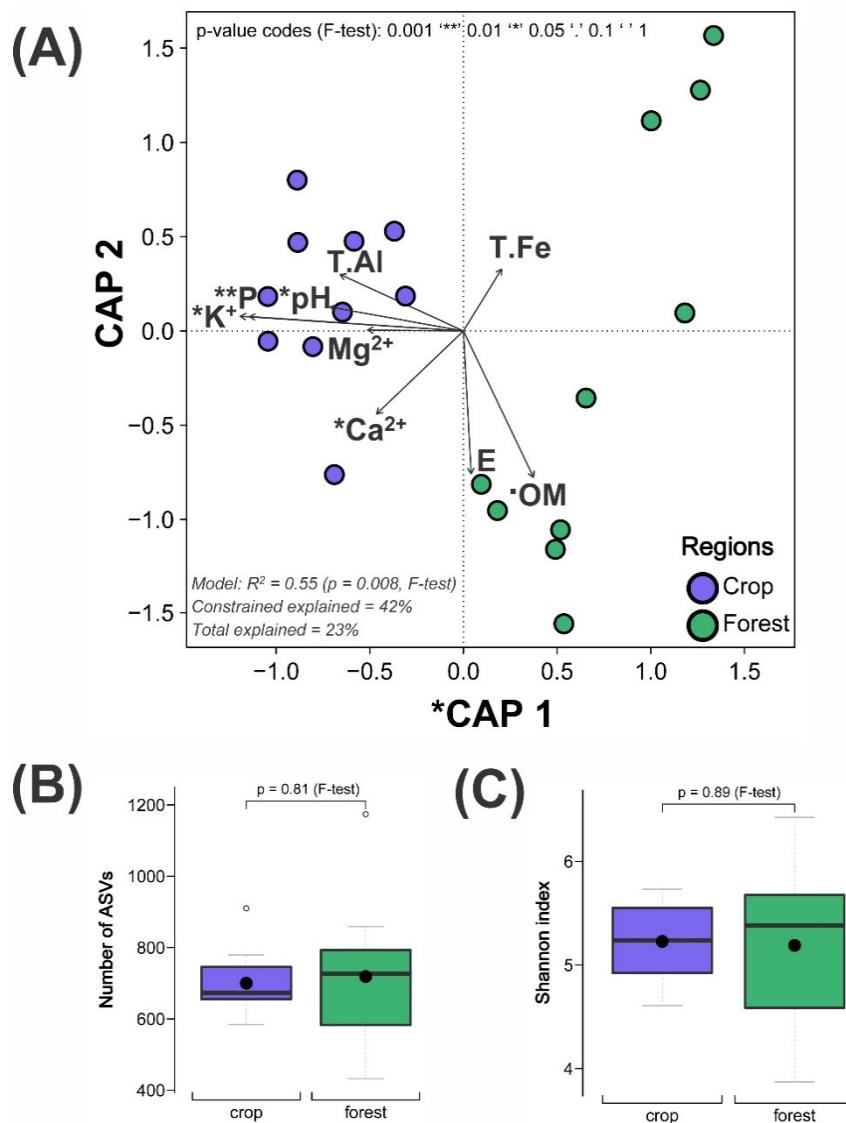


Figura 2. Estrutura e diversidade de comunidades bacterianas em solos agrícolas e de floresta explicadas por variáveis restritas (42%) e irrestritas (58%). (A) Análise de redundância baseada em distância (dbRDA) usando a distância de Bray-Curtis aplicada à abundância de variantes de sequência de Amplicon (ASVs) do gene 16S rRNA. Os pontos indicam os escores das áreas amostrais para os dois primeiros eixos da Análise Restrita de Coordenadas Principais (CAP). A similaridade entre as amostras foi explicada em função das variáveis não redundantes de solo e altitude média (vetores), onde eixos ou variáveis significativas foram precedidos por asterisco (*). A seguir são mostradas as dispersões da contagem de ASVs (B) e da alfa-diversidade pelo índice de Shannon (C) para solos agrícolas e de floresta. As abreviaturas OM, T.Al e T.Fe são matéria orgânica, Al total e Fe total, respectivamente.

Considerando as porcentagens de transformação logarítmica do número absoluto de ASVs (Figura 3B), apenas nove filos contaram acima de 5%, totalizando 61,7% do total: Actinobacteria (8,4%), Proteobacteria (8,2%), Bacteroidetes (7,2%), Acidobacteria (7,2%), Chloroflexi (6,8%), Verrucomicrobia (6,7%), Firmicutes (6,0%), Planctomycetes (5,8%) e Gemmatimonadetes (5,4%). Considerando o número absoluto de ASVs pertencentes a esses

filos, 45,4% de Proteobacteria e 60,7% de Bacteroidetes foram especialistas em solos agrícolas, predominando sobre os demais nichos de ocupação. Da mesma forma, 47,5% de Acidobacteria e 66,3% de Verrucomicrobia foram destacadas como especialistas em solos de floresta. Alguns filos menos abundantes foram exclusivos de solos agrícolas (73,4% FBP, 57,1% Armatimonadetes, 73,7% BRC1 e 98,9% Deinococcus-Thermus) e outros de floresta (39% Dependentiae e 58,6% FCPU426).

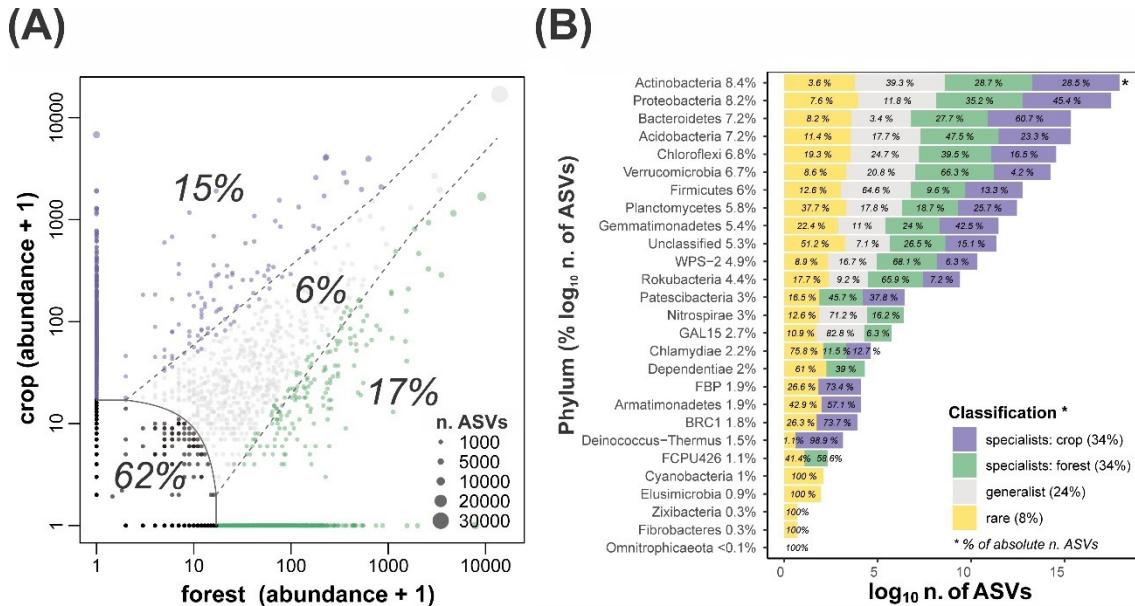


Figura 3. Separação de comunidades bacterianas raras, generalistas e especialistas em solos agrícolas e de florestas. (A) Método de classificação multinomial de espécies (CLAM) para o teste de ocupação de nicho. Os pontos indicam cada ASVs único (8.761 leituras) encontrados em dados rarefeitos pela menor amostra. As porcentagens foram calculadas com base no número total de ASVs únicas. (B) Abundância relativa geral e específica de filos em cada nicho de compositor nos habitats. Neste caso, foram contabilizadas 453.860 leituras agrupadas em 8.761 ASVs únicos.

Para detalhar a participação das comunidades bacterianas em cada nicho, acessamos as classes mais abundantes (Figura 4Figura 4). Observou-se alta e significativa heterogeneidade de classes bacterianas entre áreas agrícolas e de floresta ($I^2 = 82\%$, $p < 0,01$, $\tau^2 = 0,118$) e houve variação significativa no modelo de efeitos fixos entre esses nichos ($p < 0,05$). No geral, nos solos agrícolas houve o enriquecimento de cinco classes bacterianas: Gammaproteobacteria, KD4-96, Gitt-GS-136 e Chthonomonadetes. Juntas, essas classes representaram 11,1% de abundância geral de ASVs (\log_{10} ASVs), 9,8% de pesos do modelo de efeitos fixos (W_f) e 15,5% de pesos do modelo de efeitos aleatórios (W_r). Da mesma forma, nas florestas houve enriquecimento de oito classes bacterianas (\log_{10} ASVs = 30,3%, $W_f = 44,4\%$, $W_r = 29,4\%$): Acidobacteriia, Verrucomicrobiae, Thermoleophilia, Acidimicrobiia, Deltaproteobacteria, NC10, Acidobacteria-Soubgroup 5 e o cluster formado pelas classes menos abundantes.

A análise de correlação mostrou que alguns filos bacterianos estão significativamente associados (positiva ou negativamente) com algumas propriedades químicas do solo (Figura 5Figura 5). Os fatores mais significativos foram T.Fe, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺ e pH. Houve correlações positivas significativas de Fe com os filos Proteobacteria, FBP e Deinococcus-Thermus, e negativamente com Actinobacteria e Chloroflexi. Alguns filos também se

correlacionaram positivamente com K^+ (Nitrospirae e FBP), Ca^{2+} (Nitrospirae), P (Nitrospirae e *Dependentiae*) e com altitude (Bacteroidetes). Além da correlação positiva do filo Nitrospira com P, K^+ , Ca^{2+} , este filo correlacionou-se negativamente com Al^{3+} e OM. Diferentemente, o filo Elusimicrobia apresentou forte correlação positiva com Al^{3+} e negativa com pH, K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} .

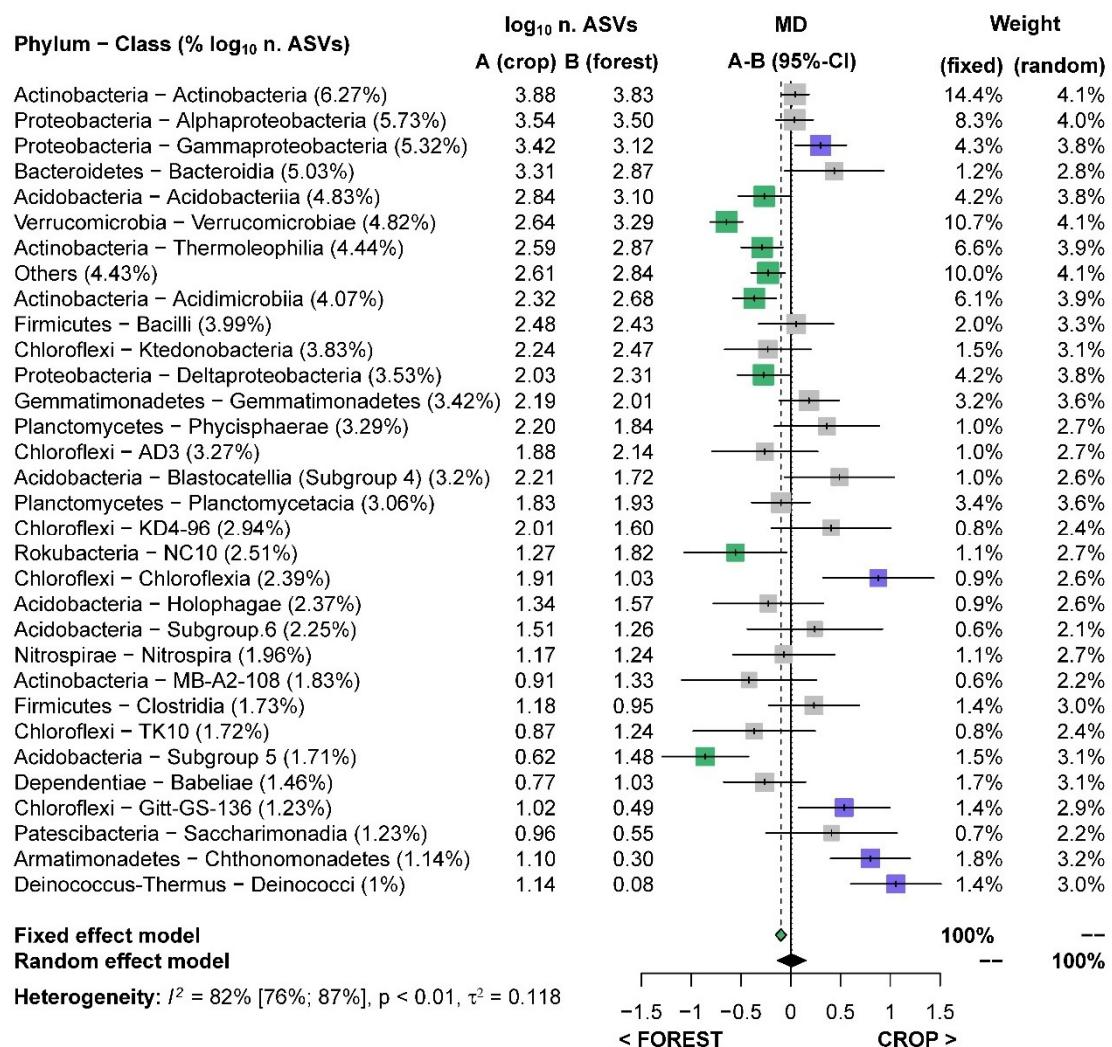


Figura 4. Abundância comparativa entre classes bacterianas em solos agrícolas e de floresta. Os modelos fixo e aleatório foram estimados por metanálises com dados de desfecho contínuo e a ponderação de variância inversa foi utilizada para pooling. Os quadrados são a diferença média (DM) de cada classe bacteriana e as linhas horizontais são o intervalo de confiança (IC 95%). O τ^2 é a variância entre classes para o modelo de efeitos aleatórios, τ^2 é zero se não houver variância entre os estudos. A heterogeneidade foi quantificada pela estatística I^2 , variando de valores negativos a 100%. Quando o valor é negativo é igual a 0: 0% - homogeneidade entre as classes bacterianas; 25% - baixa heterogeneidade; 50% - heterogeneidade moderada; 75% ou mais - alta heterogeneidade entre as classes.

A análise de redes demonstrou interações complexas entre as comunidades bacterianas em nível de filo (Figura 6), destacando as ASVs com pesos maiores e significativos ($-0.7 <$

$\text{SparCC} < 0,7$, $p < 0,001$). Os solos florestais apresentaram maior complexidade de interações entre bactérias (número de nós = 138, ligações = 550, grau médio = 7,971), mas os solos agrícolas apresentaram maior número de indivíduos responsáveis pela manutenção da rede (número de nós = 163, ligações = 350, grau médio = 4,294). Correlações positivas foram mais abundantes em ambos os nichos, 64% na floresta e 59% nas áreas agrícolas. Maiores valores de BC (Betweenness Centrality) foram observados na rede de solos agrícolas, destacando-se as espécies-chave pertencentes principalmente aos filos Actinobacteria e Chloroflexi. As espécies-chave nas florestas foram menos numerosas, destacando-se os filos Proteobacteria, Verrucomicrobia e Actinobacteria.

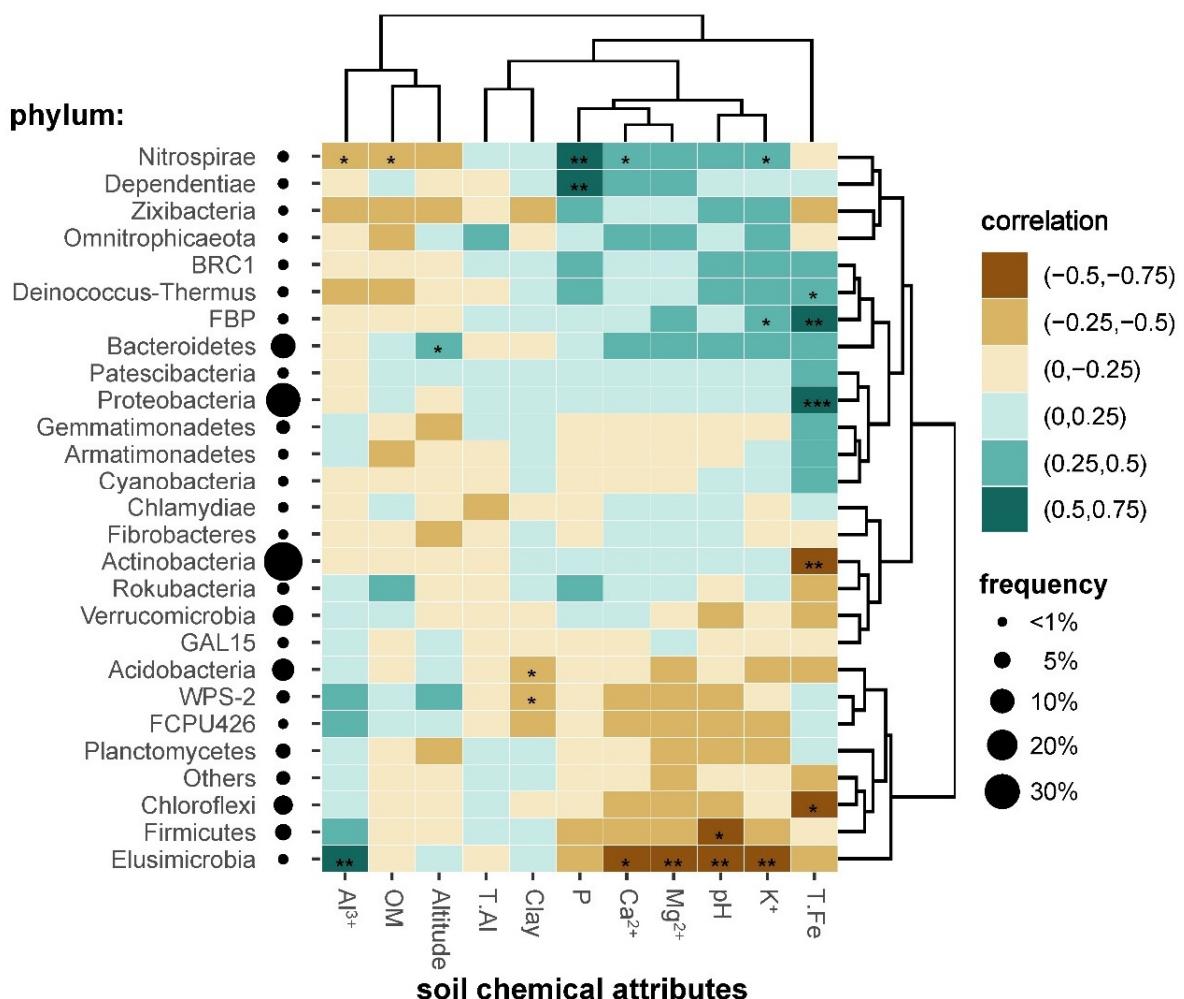


Figura 5. Associações entre abundância de filos bacterianos, variáveis-chave do solo e altitude do ponto amostral em solos agrícolas e de floresta. A estatística ρ de Spearman foi utilizada para estimar uma medida de associação monotônica baseada em ranks. Os valores de p foram calculados pelo algoritmo AS 66, utilizando-se uma aproximação da série de Edgeworth. As correlações foram agrupadas em níveis discretos (retângulos) para facilitar a interpretação, onde associações significativas foram marcadas com um asterisco. Os dendrogramas representam a proximidade mútua entre filos e entre variáveis não restritas pela mesma estatística. As abreviaturas OM, T.Al e T.Fe são matéria orgânica, Al total e Fe total, respectivamente.

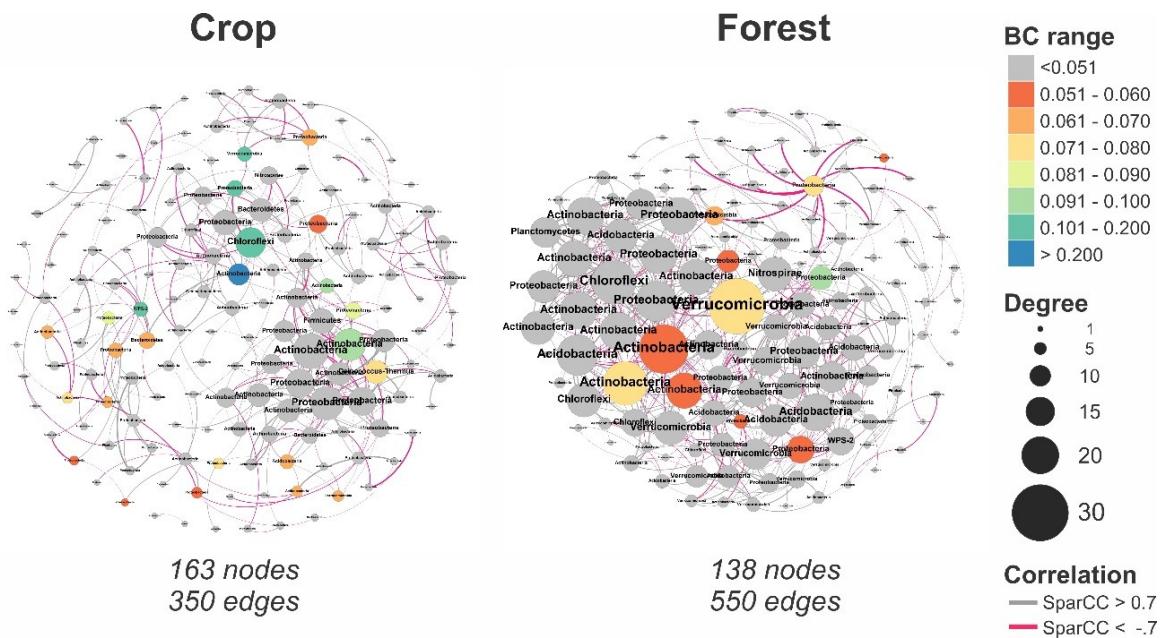


Figura 6. Rede de co-ocorrência da comunidade bacteriana em solos agrícolas (Crop) e floresta (Forest). As correlações entre os filos bacterianos foram estimadas pelo algoritmo SparCC e os valores de p foram estimados pelo bootstrapped. Bordas significativas ($p < 0,001$) (SparCC) com pesos acima de 0,7 ($< -0,7$ e $> 0,7$) foram preservadas. Os nós são ASVs bacterianos únicos e o tamanho do nó é proporcional ao número de conexões (grau) e foram pintados em oito intervalos de acordo com a faixa de centralidade (BC).

3.6. DISCUSSÃO

Os solos das áreas agrícolas e de floresta apresentaram diferenças nos atributos químicos (Tabela 2), evidenciando o efeito do sistema de manejo neste ambiente. A região estudada possui um relevo predominantemente montanhoso e acidentado, onde os solos são geralmente pouco profundos e intemperizados, apresentando pH ácido e baixos teores de nutrientes (DE OLIVEIRA et al., 2021), o que justifica o menor valor de pH na área de floresta. Em contrapartida, o maior valor do pH e macronutrientes (P, K⁺ e Ca²⁺) nas áreas agrícolas está relacionado com o preparo e manejo do solo, como uso da calagem e fertilizantes minerais e orgânicos, como a cama de aviário, que são comumente utilizadas nessa região (ANTONIO et al., 2019).

As diferenças do uso do solo também promoveram alterações na estrutura das comunidades bacterianas (Figura 2A). A análise de redundância baseada em distância (dbRDA) mostrou que essas mudanças foram determinadas pelas propriedades químicas do solo. Essas alterações podem ter afetado a cadeia trófica, favorecendo populações específicas de bactérias e, consequentemente, modificando a estrutura das comunidades microbianas (LAUBER et al., 2009). Nos solos de floresta, a matéria orgânica foi o fator mais importante na diferenciação da estrutura das comunidades bacterianas. O efeito das características físicas e químicas do solo na comunidade bacteriana do solo já foi relatado em um estudo anterior na mesma região, no qual a técnica de DGGE foi utilizada para estimar a diversidade bacteriana (RODRIGUES BARBOSA et al., 2024). Neste estudo, foi observada uma diferenciação no perfil de bandas dos solos das áreas agrícolas em relação as áreas de floresta (RODRIGUES BARBOSA et al., 2024). Resíduos de metais tóxicos, de herbicida oxifluorfeno e o aumento da fertilidade em solos em áreas com cultivo intensivo de hortaliças, decorrentes do manejo intensivo adotado nessas áreas, foram apontados como os principais fatores que levaram a diferenciação dos perfis bacterianos desses solos.

A riqueza de ASVs e o índice de diversidade Shannon não apresentaram diferenças entre as duas áreas (Figura 2B), sugerindo que a distribuição e a equitabilidade das espécies são semelhantes nos locais estudados. No entanto, a composição dos táxons é distinta entre as áreas. Outros estudos corroboram com esses resultados, mostrando que o uso agrícola não alterou os índices de diversidade e abundância dos microrganismos do solo, havendo modificações somente na estrutura das comunidades (CAI et al., 2018; ZHAO et al., 2020). É possível que as comunidades bacterianas dos solos cultivados tenham se adaptado às novas condições, alcançando um novo equilíbrio ecológico. Embora seja comum associar alta diversidade a ecossistemas saudáveis, a diversidade, por si só, não é a resposta definitiva. Portanto, o fato de as áreas apresentarem diversidade semelhante não implica que ambos os ambientes possuam a mesma saúde ou funcionalidade. Para uma melhor compreensão, é necessário estudar os mecanismos ecológicos subjacentes como, fatores abióticos, bióticos e a composição desses microrganismos (SHADE, 2017).

As comunidades especialistas foram mais abundantes do que as generalistas nas áreas agrícolas e de floresta (Figura 3). As interações coexistentes entre nichos generalistas e especialistas dependem da capacidade de dispersão das espécies (BÜCHI; VUILLEUMIER, 2014). A composição microbiana é influenciada por eventos determinísticos e estocásticos (LANGENHEDER; SZÉKELY, 2011). Enquanto microrganismos generalistas, controlados por processos estocásticos, desempenham funções essenciais para manter a estabilidade da

comunidade diante de distúrbios ambientais (XU et al., 2022), os especialistas, por sua vez, dependem de recursos específicos e são moldados principalmente por variáveis ambientais (KNEITEL, 2018). Embora muitos estudos indiquem que alterações ambientais, como mudanças no uso do solo, tendem a favorecer nichos generalistas (BÜCHI; VUILLEUMIER, 2014), este trabalho, assim como outros, mostrou que, mesmo em ambientes agrícolas perturbados, as comunidades bacterianas especialistas foram predominantes (ATTUM et al., 2006; NURMI; PARVINEN, 2008; PARVINEN; EGAS, 2004).

É possível que existam explicações distintas para a predominância de espécies especialistas em solos florestais e agrícolas. Em ecossistemas estabilizados, como as florestas, é esperado que predominem espécies especialistas, nas quais os microrganismos apresentem crescimento lento, mas alta capacidade de competição em condições estáveis (VON MEIJENFELDT; HOGEWEG; DUTILH, 2023). Por outro lado, no ambiente agrícola, a prática constante de adubação, rotação de culturas e o cultivo de hortaliças ao longo do tempo, podem ter contribuído para a especialização. A aplicação regular de adubos pode ter criado um ambiente com recursos previsíveis e constantes, permitindo que os especialistas desenvolvam alta eficiência no uso desses recursos (VON MEIJENFELDT; HOGEWEG; DUTILH, 2023). Vale ressaltar que os filos especialistas diferiram para cada ambiente.

Diversos membros dos filos Nitrospirae, Firmicutes e Actinobacteria são reconhecidos por compor comunidades bacterianas no solo, sendo filogeneticamente diversos e altamente adaptáveis a condições variáveis (LIU et al., 2022; MEIJENFELDT; HOGEWEG; DUTILH, 2022; XIA et al., 2020). Essas características conferem uma vantagem para a dispersão desses táxons em ambientes heterogêneos (LIU et al., 2022), o que justifica a maior abundância desses filos em nichos generalistas em ambas as áreas. Já entre os especialistas houve diferença entre as classes predominantes, em que os filos Acidobacteria e Verrumicrobia foram proeminentes nas áreas de floresta e os filos Proteobacteria e Bacteroidetes foram predominantes nas áreas agrícolas.

No presente estudo, o filo Acidobacteria demonstrou ter correlação negativa com o conteúdo de argila do solo (Figura 5). O aumento da argila e consequentemente da formação de complexos organominerais causa um efeito protetor contra degradação da MO, inibindo bactérias decompositoras (BALESIDENT; CHENU; BALABANE, 2000; MCMAHON et al., 2016). A classe Acidobacteriia (Subgrupo 1) é relatada como bactérias heterotróficas versáteis que hidrolisam açúcares e polissacarídeos complexos (RAWAT et al., 2013). A classe Verrumicrobiae foi exclusiva do solo de floresta (Figura 4). A distribuição do filo Verrumicrobia nos solos demonstra-se variável e extremamente sensível a mudanças ambientais (PAN et al., 2014). Estudos demonstraram que a conversão de floresta para cultivo agrícola ocasionou a redução e alteração de membros pertencentes ao filo Verrumicrobia (NAVARRETE et al., 2015), corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Foi observado maior dominância do filo Proteobacteria em solos agrícolas, principalmente da classe Gammaproteobacteria (EGBOLUCHE; YU; WACHIRA, 2022). O filo Proteobacteria apresentou correlação positiva com conteúdo de ferro (T.Fe) (Figura 5). As nanopartículas de Fe são utilizadas na produção de agroquímicos como pesticidas e fertilizantes, e o uso desses produtos libera metais para o solo, onde potencialmente podem se tornar contaminantes ambientais (RAMIMOGHADAM; BAGHERI; HAMID, 2014). O aumento de metais como o Fe modifica a estrutura microbiana do solo, podendo favorecer determinados grupos bacterianos (HE et al., 2011). O filo Proteobacteria apresenta diversos membros resistentes a toxicidade dos metais, a classe Gammaproteobacteria se destaca sendo encontrada em solos contaminados por metais pesados e Fe (EGBOLUCHE; YU; WACHIRA, 2022). O aumento do teor de Fe dos solos agrícolas devido a aplicação de agroquímicos

possivelmente facilitou a seleção de bactérias dessa classe, resultando em maior abundância do filo Proteobacteria no nicho especialista. O aumento da abundância de membros do filo Bacteroidetes nos solos agrícolas é relatado em outros trabalhos com solo cultivados, sendo encontrados em ambientes com alto teor de nutrientes e presença de metais (QIAN et al., 2022). No presente estudo, o filo Bacteroidetes está correlacionado positivamente com a altitude das áreas (Figura 5), em concordância com achado de (LIN et al., 2015). As duas áreas estão localizadas em regiões montanhosas e o ambiente de montanha pode propiciar condições ambientais ideais para o crescimento de membros do filo (LIN et al., 2015).

O solo agrícola estudado neste trabalho recebeu aplicações frequentes de cama de aviário como adubo. Essa prática altera a estrutura da comunidade bacteriana do solo (SANT'ANNA et al., 2024). O uso de cama de aviário tratada com antibióticos aumenta a abundância relativa de grupos bacterianos como Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes, enquanto reduz a presença de Acidobacteria e Verrucomicrobia. Esses dois últimos filos foram encontrados em maior abundância em solos florestais do que em solos agrícolas. A redução destes filos em solos agrícolas pode estar relacionada à aplicação da cama de aviário (MUHAMMAD et al., 2022). É fundamental a realização de um número maior de estudos sobre esta temática, considerando diferentes condições ambientais, para que se obtenha uma compreensão mais abrangente do papel da diversidade bacteriana no estudo da qualidade do solo. Trabalhos isolados podem representar um recorte da realidade, sem fornecer uma visão geral dos processos em andamento. Portanto, a repetição de experimentos é relevante para obter análises mais representativas sobre a dinâmica biológica do solo em ambientes agrícolas.

As redes de co-ocorrência evidenciam diferenças marcantes na estrutura das comunidades bacterianas entre solos florestais e agrícolas (Figura 6). O uso agrícola reduziu a complexidade dessas comunidades, aumentou o número de táxons responsáveis pela manutenção da rede e alterou a composição dos táxons-chave. Embora, teoricamente, a presença de mais táxons sugira um maior potencial de interações (LUPATINI et al., 2014), as comunidades de solos agrícolas não mostraram maior complexidade. Isso corrobora com estudos anteriores, que associam o uso agrícola à perda de interações nas comunidades microbianas, sem necessariamente reduzir ou aumentar o número de espécies-chave (KARIMI et al., 2019). Práticas agrícolas, especialmente o uso de fertilizantes, aumentam a disponibilidade de nutrientes e favorecem populações de crescimento rápido, como oportunistas e patógenos bacterianos (estrategistas R) (LIENHARD et al., 2014). Essas populações, por serem metabolicamente autossuficientes, necessitam de menos interações para se adaptar ao ambiente, resultando em comunidades mais isoladas e com menos interações (CORDERO; POLZ, 2014).

Por outro lado, solos de floresta apresentam comunidades bacterianas mais conectadas, compostas majoritariamente por estrategistas K, que têm maior propensão a interações (BANERJEE et al., 2019; KARIMI et al., 2019). A menor disponibilidade de nutrientes na floresta, em comparação com o ambiente agrícola, pode favorecer a seleção de microrganismos de crescimento lento (K-estrategistas) (FIERER; BRADFORD; JACKSON, 2007), que se estabelecem gradualmente e apresentam maior probabilidade de coevolução. Em solos não fertilizados, a cooperação microbiana pode ser mais relevante para a sobrevivência, promovendo redes mais conectadas (BANERJEE et al., 2019). Redes mais complexas e conectadas tendem a ser mais resilientes a estresses ambientais, uma vez que suas populações podem complementar funções umas das outras, garantindo a estabilidade da comunidade (SANTOLINI; BARABÁSI, 2018). As espécies altamente conectadas podem compartilhar características ecológicas semelhantes ou desempenhar papéis funcionais semelhantes para a estabilidade do ecossistema (COUTINHO et al., 2015). Portanto, essa sobreposição de nicho, chamada de redundância, indica que microrganismos de solos de floresta apresentam maior estabilidade ecológica.

Os agroecossistemas tropicais de montanha, geralmente manejados por agricultores familiares, enfrentam desafios significativos devido às condições ambientais adversas, como encostas íngremes e alta precipitação. Apesar disso, o sistema de agricultura intensiva é amplamente adotado, muitas vezes associado a práticas de manejo inadequadas (DHAKAL; KATTEL, 2019; DOS SANTOS et al., 2021; GOVAERTS et al., 2009). Essa combinação de fatores contribui para a degradação ambiental, afetando diretamente a estrutura e dinâmica das comunidades bacterianas do solo. Essa combinação de fatores contribui para a degradação ambiental e a perda da biodiversidade microbiana, afetando diretamente a estrutura e dinâmica das comunidades bacterianas do solo. Alterações em táxons-chave, responsáveis por funções críticas no microbioma podem gerar impactos negativos tanto na composição quanto na funcionalidade dessas comunidades (Banerjee et al., 2018). Como resultado, a simplificação das redes microbianas em solos agrícolas não apenas reflete uma redução da complexidade ecológica, mas também indica um potencial comprometimento na funcionalidade do microbioma, o que ameaça a saúde do solo, os serviços ecossistêmicos associados e a sustentabilidade agrícola.

3.7. CONCLUSÕES

O sistema de cultivo intensivo teve impacto significativo nos atributos químicos dos solos, o que resultou em alterações na composição e estrutura bacteriana. Comunidades especialistas foram predominantes nos solos de floresta e de cultivo agrícola. Em solo de floresta, os filos Acidobacteria e Verrumicrobia foram mais abundantes, enquanto no solo de cultivo prevaleceram Proteobacteria e Bacteroidetes. Além disso, o sistema de cultivo intensivo diminuiu a complexidade das comunidades bacterianas, ampliou o número de táxons responsáveis pela sustentação da rede, alterando a composição de táxons-chave. Esses resultados enfatizam os impactos negativos do manejo intensivo na biodiversidade funcional do solo, ressaltando a necessidade de práticas agrícolas sustentáveis para preservar a integridade microbiológica e promover a resiliência dos ecossistemas.

4. CAPÍTULO II

SHORT-TERM EFFECTS OF POULTRY LITTER AND CATTLE MANURE ON SOIL'S CHEMICAL PROPERTIES AND BACTERIAL COMMUNITY¹

¹ Artigo publicado na revista “*Agronomy*”
SANT’ANNA, Gustavo Souza Lima; de Carvalho, L.A.L.; da Silva, M.S.R.A.; Gonçalves, J.V.S.; Pinheiro, D.G.; Zonta, E.; Coelho, I.S. Short-Term Effects of Poultry Litter and Cattle Manure on Soil’s Chemical Properties and Bacterial Community. *Agronomy*, v. 14, n. 7, p. 1382, 2024.

4.1. RESUMO

A expansão da pecuária para a produção de alimentos exige uma gestão eficaz dos resíduos pecuários, incluindo esterco bovino e cama de aviário. A utilização destes subprodutos como fertilizantes orgânicos na agricultura representa uma alternativa sustentável para a sua destinação. Embora estes resíduos ofereçam benefícios conhecidos para a saúde do solo e produtividade das culturas, são necessários mais estudos para explorar o efeito da microbiota de diferentes resíduos na composição do solo. O objetivo deste estudo foi preencher esta lacuna e contribuir para o avanço desta área. O experimento foi instalado em campo, em blocos casualizados, com três repetições por tratamento, incluindo aplicação de esterco bovino, cama de aviário e tratamento controle sem adubaçāo. Após um período de 60 dias, as características químicas e a composição da população bacteriana do solo foram analisadas por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA. O carbono orgânico, o fósforo (P), o alumínio (Al) e o pH desempenharam papéis fundamentais na mudança da estrutura da comunidade bacteriana do solo. Notavelmente, a incorporação de cama de aviário induziu mudanças mais pronunciadas tanto nas propriedades químicas quanto na composição da comunidade bacteriana em comparação com o esterco bovino. Os grupos bacterianos foram enriquecidos nos solos tratados com cama de aviário, o que pode indicar maior fertilidade do solo. Essa associação pode ser decorrente tanto das alterações químicas decorrentes da aplicação de cama de aviário quanto da transferência direta de microrganismos desse fertilizante orgânico para o solo.

Palavras-chave: Resíduos animais. Fertilizante orgânico. Adubaçāo orgânica. Diversidade bacteriana.

4.2. ABSTRACT

The expansion of animal husbandry for food production has necessitated effective management of livestock waste, including cattle manure and poultry litter. Using these byproducts as organic fertilizers in agriculture represents a sustainable approach to their disposal. While these residues offer known benefits for soil health and crop productivity, further studies are needed to explore the effect of different manure microbiota on soil composition. The objective of this study was to address this gap and contribute to the advancement of this area. A randomized block design experiment was set up in the field with three replications per treatment, including the application of cattle manure, poultry litter, and a control treatment without fertilizer. After a 60 day period, the chemical characteristics and bacterial population composition of the soil were analyzed using 16S rRNA gene sequencing. Organic carbon, phosphorus (P), aluminum (Al), and the pH level played pivotal roles in changing the structure of the soil's bacterial community. Notably, the incorporation of poultry litter induced more pronounced changes in both the chemical properties and bacterial community composition compared with cattle manure. Bacterial groups were enriched in the soils treated with poultry litter, which may indicate enhanced soil fertility. This association may stem from both the chemical alterations resulting from poultry litter application and the direct transfer of microorganisms from this organic fertilizer to the soil.

Keywords: Animal waste. Organic fertilizer. Organic fertilization. Bacterial diversity

4.3. INTRODUCTION

In 2023, global production of chicken meat and beef reached 103 million and 59 million metric tons, respectively. During the same year, Brazil emerged as one of the world's main meat producers, contributing approximately 15 million metric tons of chicken meat and 11 million tons of beef. These statistics positioned Brazil as the second largest producer worldwide in both sectors (USDA, 2024).

However, the escalating demand for meat, driven by economic and population growth, has resulted in substantial environmental concerns (BISCARRA-BELLIO et al., 2023). In addition to greenhouse gas emissions due to deforestation for pasture expansion, livestock farming increases waste generation, including cattle manure and poultry litter, which often carry pollutant loads (MARCHI; GONÇALVES, 2020; SUI et al., 2019; XU et al., 2019). If left unaddressed, these waste streams pose significant environmental liabilities.

A sustainable and promising alternative is to use this waste as organic fertilizer, given its rich nutritional composition which includes essential elements that improve the soil and increase plant production, reducing dependence on chemical fertilizers (LI et al., 2020b). Organic fertilizers offer macro- and micronutrients and increase organic matter, thereby improving soil fertility and preserving its biodiversity (JANSSON; HOFMOCKEL, 2018; PARENTE et al., 2021). They are also excellent sources of nutrients, increasing microbial diversity and richness (ASHWORTH et al., 2017; YANG et al., 2019). Furthermore, microorganisms incorporated into the soil can influence nutrient cycling, affecting their availability to plants and, consequently, crop productivity (JAT et al., 2020). This approach, however, has some drawbacks, including increased heavy metal levels (LIU et al., 2020), incorporation of pathogenic bacteria (LI et al., 2020a), and the spread of antimicrobial resistance genes in soil (WU et al., 2023).

Therefore, investigations into soil microbiota alterations after the application of these residues are essential to understand the potential benefits and risks to soil health. However, data on changes in bacterial composition following the incorporation of animal production residues in tropical soils are limited. Therefore, gathering information from different soils, climates, and production systems is crucial to deepening the understanding of this dynamic. This necessity is further underscored by the scarcity of comparative studies on microbial structures between different waste sources (GURMESSA et al., 2021). Additionally, the immediate impact of these fertilizers on the incorporation or enrichment of microbial groups needs to be better understood (YE et al., 2022), as these effects can directly influence crops subsequent to this practice. Considering the critical importance of understanding the effects of organic fertilizers on soil, the objective of this study was to evaluate the short-term impact of incorporating cattle manure and poultry litter on the chemical characteristics and bacterial community of soil.

4.4. MATERIAL AND METHODS

Cattle manure (CAM-F) was sourced from a corral within the dairy cattle farming sector of UFRRJ, while poultry litter (POL-F) was obtained from a chicken egg production unit. Both fertilizers were used in their fresh states without undergoing a composting process.

Determination of the Ca, Mg, Na, K, P, Mn, Ni, Fe, Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn contents followed the methodology proposed in HAGEDORN (2008). For this, 0.5 g of the compound samples were weighed, ground, and sieved. Subsequently, they were digested in nitric acid on a heated plate. The P content was determined by colorimetry, while Na and K were analyzed using flame spectrophotometry. Furthermore, Ca, Mg, Cd, Cr, Cu, Pb, Mn, Ni, Fe, and Zn were quantified using atomic absorption spectrometry (Tabela 3).

Tabela 3. Chemical composition of cattle manure (CAM-F) and poultry litter (POL-F) incorporated into soil

	N	C	P	K	Na	Ca	Mg	Fe
	g kg ⁻¹							
	Mn	Zn	Cu	Al	Ni	Pb	Cr	Cd
CAM-F	12.3	227	0.15	13.4	7.2	15.9	4.2	2.6
POL-F	28.6	325	0.54	17.6	50.5	61.3	6.6	1.9
CAM-F	251.2	59	17.8	0	12.8	3.4	0	0
POL-F	463.6	471.4	91.6	127.7	5.8	12.6	0	0

The experiment was conducted on a farm located at the coordinates 22°49'19.79" S and 43°44'16.43" W at Reta dos 800 in Piranema, a rural area of Seropédica in Rio de Janeiro, Brazil. The soil was classified as Ultisol (SOIL SURVEY STAFF, 2014), corresponding to Argissolo Vermelho-Amarelo in the Brazilian Soil Classification System (SANTOS et al., 2018). According to the Köppen classification system, the climate in the region is Aw (Figure 7) (CARVALHO et al., 2006). The experimental site comprised a bahiagrass (*Paspalum notatum*) pasture in a state of degradation. Prior to commencing the experiment, the soil was plowed and received 2.5 Mg ha⁻¹ of dolomitic limestone with a relative total neutralizing power (rTNP) of 85.6%, 40% CaO, and 10% MgO. This limestone was incorporated to a depth of 20 cm using a mini-tractor equipped with a rotating hoe on 25 April 2019. The experiment officially began 60 days after the liming process. Figure 7 shows climatic data, including precipitation and maximum and minimum temperatures, spanning from the beginning to the end of the experiment.

The randomized block design included three replications per treatment, each characterized using soil with CAM-F (CAM-S) or POL-F (POL-S), and a control treatment (CTL-S) without fertilizers, totaling nine experimental plots of 4 m² each (2 × 2 m). Fertilizers were applied at a dose of 100 kg ha⁻¹ of N by incorporating 8.1 Mg ha⁻¹ of CAM-F and 3.5 Mg ha⁻¹ of POL-F at a depth of 20 cm, using a mini-tractor with a rotating hoe.

A total of five simple samples were collected 60 days post fertilization from the 0–10 cm layer of each experimental plot, resulting in three composite samples per treatment. For the determination of exchangeable nutrient contents, the samples were analyzed as follows. Ca, Mg, and Al were extracted with a KCl solution and quantified via titration. P, K, and Na were extracted with Mehlich 1 solution, with P quantified by colorimetry and K and Na quantified

by flame photometry. H + Al was evaluated using a 0.025 mol L⁻¹ calcium acetate solution. The soil's pH was determined in water, and the cation exchange capacity (CTC) and base saturation (V) were calculated. The soil organic carbon (SOC) was determined by the wet oxidation method using potassium dichromate, and the total nitrogen was determined through Kjeldahl digestion (TEIXEIRA et al., 2017).

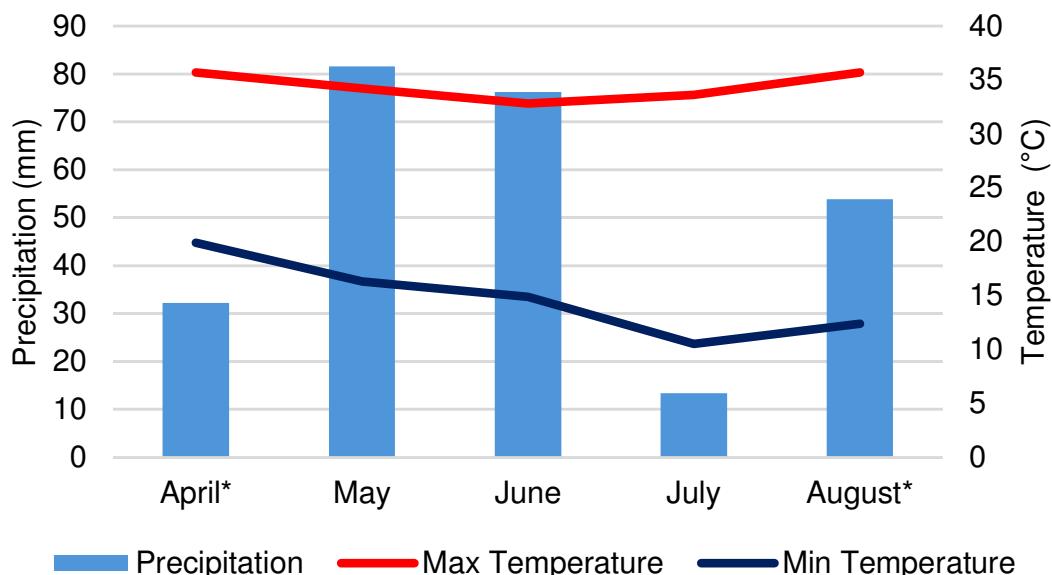


Figura 7. Monthly climate data from the automatic meteorological station of the national meteorology institute (INMET) during the experiment's execution period (INMET, 2024). * Data from 25 April to 26 August 2019.

A DNA PowerSoil extraction kit (MO Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) was used for the extraction of both soil and fertilizer DNA, following the manufacturer's protocol. Subsequently, the extracted samples were stored at -20 °C, and the quantity and quality of DNA were evaluated using a spectrophotometer (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). The overall integrity of the total DNA was further assessed through electrophoresis on 0.8% agarose gel (ADKINS; HALL; GEORGEL, 2007).

For sequencing purposes, a library of amplicons targeting the V3–V4 variable region of the 16S rRNA gene was amplified using Bakt_341F (CCTACGGNGGCWGCAG) and Bakt_805R (GACTACHVGGTATCTAATCC) primers. Sequencing was conducted using a paired-end 2 × 250 system on the MiSeq platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) at Macrogen Inc. (Seoul, South Korea).

The quality of the sequenced data was initially evaluated using FastQC software v.0.11.9 (ANDREWS, 2020). The “fastx_info” and “fastq_eestas2” functions of USEARCH software v.11.0.667 were used with the libraries (EDGAR, 2010), displaying the distribution of qualities, sequence sizes, and expected errors. The “search_oligodb” function of the same software was used to detect the presence and position of primer pair sequences referring to the V3–V4 region of the 16S rRNA gene (341F '5-CCTACGGNGGCWGCAG-3' and 805R '5-GACTACHVGGTATCTAATCC-3'). Subsequently, the primers were removed with Atropos software v.1.1.31 (DIDION; MARTIN; COLLINS, 2017), which filtered sequences whose primers were not present (“--discard-untrimmed”).

To ensure better quality, the final portion of the sequences was trimmed using Fastp software v.0.23.2 (CHEN et al., 2018) to remove up to 20 (“--max_len1 230”) and 30 (“--max_len2 220”) low-quality final bases from the forward and reverse libraries, respectively.

Additionally, complete reads with a total average Phred score (Q) less than Q20 were removed (“--average_qual 20”). Finally, the library pairs were merged by overlapping using Flash software v.1.2.11 (MAGOČ; SALZBERG, 2011), accepting a minimum overlap of 10 bases (“--min-overlap 10”).

Merged reads with between 390 and 430 bases were subjected to the “DADA2” pipeline (CALLAHAN et al., 2016) using the “dada2” package v.1.22.0 of the R statistical software v.4.1.2 (R CORE TEAM, 2021). Initially, the reads were filtered with the “filterAndTrim” function, considering an expected error of four (“maxEE = 4”). Subsequently, the probability of errors in the bases was estimated (“learnErrors”), and the sequences were corrected according to the obtained model (“dada”). Amplicon variant sequences (ASVs) were designated in each sample, investigated, and filtered for the presence of possible chimeric sequences (“removeBimeraDenovo”).

All ASVs were taxonomically annotated against the SILVA v.138 reference sequence database (QUAST et al., 2013), with additional support from the RDP v.18 (COLE et al., 2014) and GTDB v.202 (PARKS et al., 2022) databases to identify potential contaminants. ASVs not assigned to bacteria or archaea, as well as those assigned to chloroplasts or mitochondria, were filtered out. Furthermore, ASVs prevalent in only a single replicate were excluded from the analysis. The ASV counts and taxonomic annotations were exported in “phyloseq” format using the R “phyloseq” package v.1.38.0 (MCMURDIE; HOLMES, 2013). Subsequently, the data were transformed into compositional data (“method = ‘total’”) by the “phyloseq_standardize_otu_abundance” function of the R “metagMisc” package v.0.04 (MIKRYUKOV, 2019).

Sampling effectiveness was inferred by rarefaction curves obtained through “amp_rarecurve” analysis of the R “ampvis2” package v.2.7.17 (ANDERSEN et al., 2018). Alpha diversity was estimated by assessing the observed richness and diversity measures (Shannon and Gini-Simpson indices) obtained using the “alpha” function from the R package “microbiome” v.1.16.0 (LAHTI; SHETTY, 2018). The obtained measures were statistically compared using the Kruskal–Wallis test (p value ≤ 0.1), and the post hoc Fisher’s LSD test was used for pairwise comparison and grouping of the means (p value ≤ 0.1). Both were implemented using the “kruskal” function from the R package “agricolae” v.1.3.5 (MENDIBURU, 2020). A beta diversity analysis was performed by calculating the Bray–Curtis distances with the “distance” function of the “phyloseq” package (MCMURDIE; HOLMES, 2013). The distances were statistically compared between the groups with the “adonis” function from the same package using permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA), considering a p value of 0.05. Furthermore, we used the distances to carry out a canonical analysis of principal coordinates (CAP), where the physical-chemical parameters measured were added to the distances between the compositions and compared for their significance using the “ordinate” function of “phyloseq” with the same significance threshold (p value ≤ 0.05). A graphical representation was obtained with the “plot_ordination” function from the “phyloseq” package. The assessment of differentially abundant taxa involved identifying those present in significantly greater amounts in one treatment compared with the other. This analysis used the “DESeq2” approach v.1.34.0 (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014), which compares means based on a negative binomial model and uses the Wald test (adjusted p value < 0.05). Graphical representations of these analyses were prepared using the R “ggplot2” package v.3.3.6 (KASSAMBARA, 2020).

Additionally, the chemical properties of the soil and the microbiota were correlated while considering the taxonomic level of the family. To filter out low-abundance taxa, we only considered families that corresponded to at least 1% of the abundance of the samples. Pearson coefficients were determined between each taxon and soil property using the “corr.test” function of the R “psych” package v.2.3.9 (REVELLE, 2023), where we considered a p value

of 0.05. A heatmap was created using the “ggplot2” package (KASSAMBARA, 2020), utilizing the “geom_tile” function to plot correlation values and “geom_text” to indicate significant correlations.

Data on chemical characteristics were initially subjected to analysis of variance using the F test. Then, the Shapiro–Wilk test verified the normality of residuals, and the Bartlett test verified the homoscedasticity. If the F test of the analysis of variance showed significant differences ($p < 0.05$), then the treatment means were compared using the Tukey test at 10% probability.

4.5. RESULTS

In Table 4, it is observed that POL-S presented higher levels of Ca and P contents compared with CTL-S, along with a higher soil organic C (SOC) content than CAM-S. However, CAM-S and CTL-S presented higher Al concentrations in contrast to POL-S. Differences in bacterial communities were observed in the statistical comparison of Bray–Curtis distances using the PERMANOVA test (p value: 0.004). When relating this information to the environmental variables through the canonical analysis of principal coordinates (CAP), the treatment tended to separate, with POL-S being distinct from the others. However, the inclusion of environmental variables did not result in statistically significant sample separation. However, Figure 8 illustrates that CTL-S and CAM-S were associated with Al and H + Al, whereas POL-S showed correlations with Ca, Mg, SB, V, and CEC. Regarding alpha diversity, there was no significant difference in the observed richness of ASVs between treatments. However, POL-S exhibited lower Shannon and Gini–Simpson indices compared with those of CTL-S and CAM-S (Tabela 5).

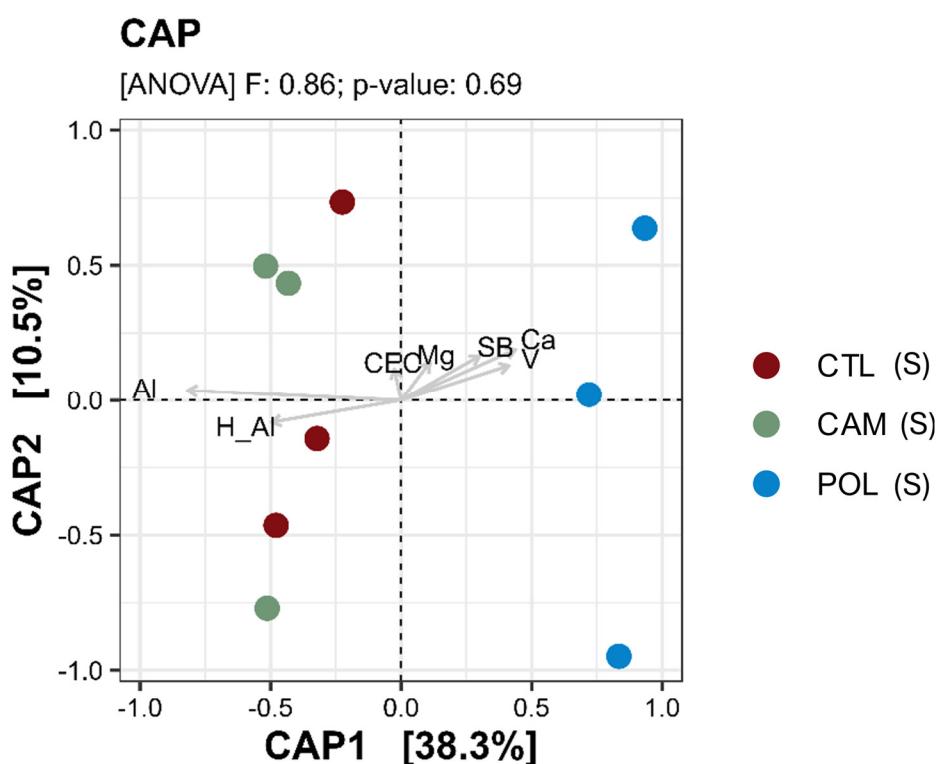


Figura 8. Structure of bacterial communities in soils that received cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control (CTL-S) without residues application. Distance-based constrained analysis of principal coordinates (CAP) using the Bray–Curtis distance between the composition of amplicon sequence variants (ASVs) in samples was performed. Dots indicate the sample scores for the first two axes, while the vectors indicate the chemical attributes of the soil. H + Al = potential acidity; SB = sum of bases; and V = base saturation.

Tabela 4. Soil chemical composition 60 days after the application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control soil (CTL-S) which did not receive residue application

pH * 1:2.5	Ca	Mg	Na	K cmol _c dm ⁻³	Al	H+Al	SB	CEC	V %	P mg dm ⁻³	K	N	SOC %	
CTL-S	4.90	1.26 ^b	1.49	0.03	0.16	0.05 ^a	4.37	2.78	7.14	38.09	3.00 ^b	63.00	0.13	3.47 ^{ab}
CAM-S	5.25	1.90 ^{ab}	1.71	0.05	0.28	0.05 ^a	4.01	3.66	7.68	47.71	8.33 ^{ab}	108.67	0.19	3.43 ^b
POL-S	5.36	2.03 ^a	1.71	0.05	0.23	0.02 ^b	3.72	3.78	7.51	50.56	17.33 ^a	89.00	0.16	4.86 ^a

*pH in water. SB, Sum of Bases; CEC, Cation Exchange Capacity; V, Base Saturation; SOC, Soil Organic Carbon. Different letters denote significant differences according to the Tukey test at 10% significance level (p < 0.10).

Tabela 5. The variability of alpha diversity (richness, Shannon index, and Gini–Simpson index) in soil samples after 60 days of application of cattle manure (CAM-S), poultry litter (POL-S), and control soil (CTL-S) which did not receive application of these residues

	Mean	SD	p.value
Richness			0.8752
CAM-S	893 ^{ns}	74	
CTL-S	876 ^{ns}	47	
POL-S	872 ^{ns}	103	
Shannon			0.0608
CAM-S	6.18 ^a	0.15	
CTL-S	6.21 ^a	0.08	
POL-S	5.84 ^b	0.28	
Gini-Simpson			0.0608
CAM-S	0.996 ^a	0.001	
CTL-S	0.996 ^a	0.001	
POL-S	0.988 ^b	0.006	

The CAM-F sample showed a higher abundance of Proteobacteria (49.91%), Actinobacteria (22.56%), and Bacteroidota (13.62%), and the POL-F sample had greater abundances of Firmicutes (50.13%) and Actinobacteria (43.40%). The prevalent phyla in CLT-S and CAM-S were Proteobacteria (25.24 and 27.13%, respectively) and Actinobacteriota (17.22 and 25.17%, respectively), while there was a prevalence of Proteobacteria (30.58%) and Verrucomicrobiota (18.89%) in POL-S (Figure 9).

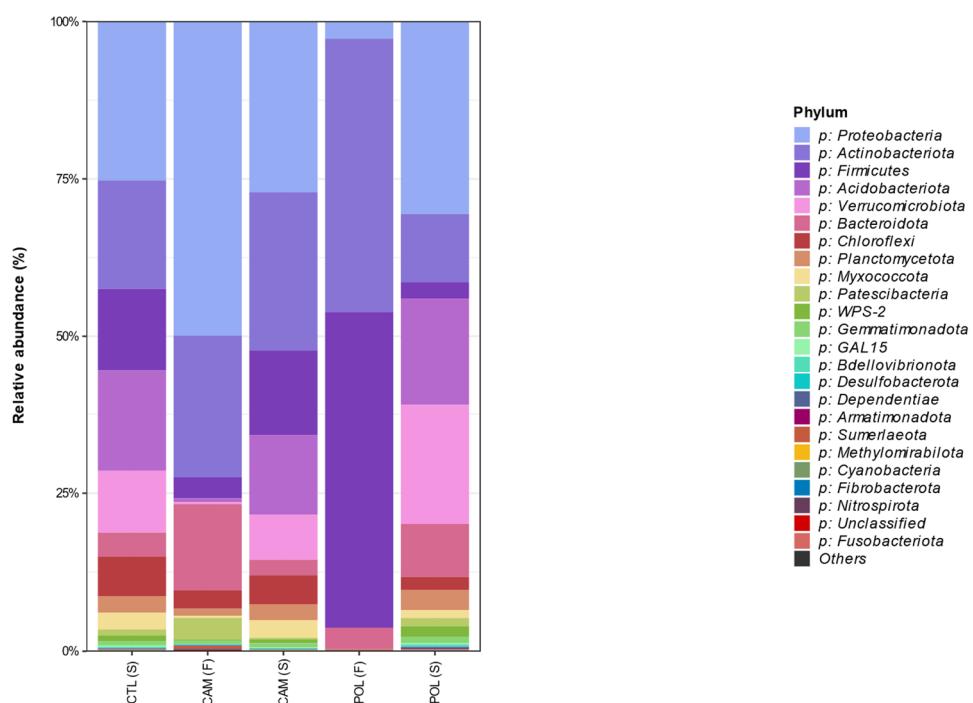


Figura 9. Relative abundance of bacterial groups at the phylum level, showing the 24 most abundant taxa in samples of cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and soils 60 days post fertilization with cattle manure (CAM-S) and poultry litter (POL-S) along with a control without application of residue (CTL-S). The less abundant phyla are grouped under the category “Others”.

The most prevalent family in CAM-F was Xanthomonadaceae (Proteobacteria) (14.73%), and POL-F presented the families Staphylococcaceae, Bacillaceae (both Firmicutes) (19.26 and 17.42%, respectively), and Brevibacteriaceae (Actinobacteriota) (15.17%). The three families found in POL-F corresponded to 52% of the ASVs. CTL-S and CAM-S showed a prevalence of the families Bacillaceae (Firmicutes) (10.31 and 11.21%, respectively), Xanthobacteraceae (Proteobacteria) (7.08 and 7.61%, respectively), and Chthoniobacteraceae (Verrucomicrobiota) (7.86 and 5.52%, respectively), while POL-S had the families Chthoniobacteraceae (Verrucomicrobiota) (15.59%), Sphingomonadaceae (Proteobacteria) (11.86%), and Chitinophagaceae (Bacteroidota) (7.02%) (Figure 10).

Among the identified ASVs, 704 were detected across all treatments, with 405 found in both CAM-S and CTL-S, 326 in POL-S and CTL-S, and 284 in POL-S and CAM-S (Figure 11). Additionally, only 66 ASVs were found exclusively in CTL-S, 110 were found in CAM-S, and 187 were in POL-S, 24 ASVs were found both in CAM-F and CAM-S, and nine were found between POL-F and POL-S.

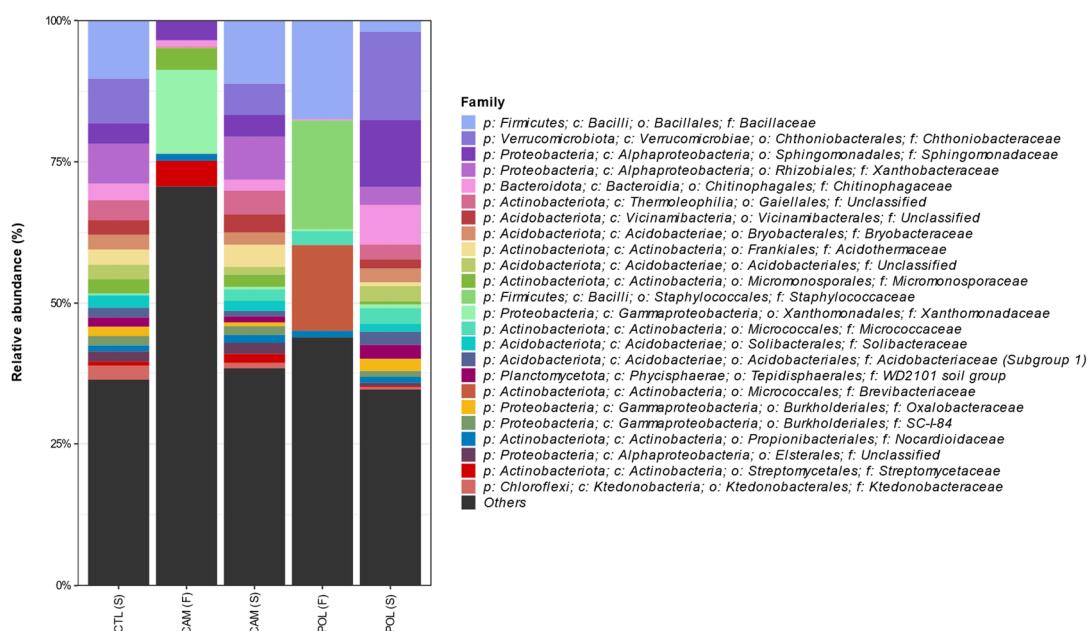


Figura 10. Relative abundance of bacterial groups at the family level, showing the 24 most abundant taxa in samples of cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and soils 60 days post fertilization with cattle manure (CAM-S) and poultry litter (POL-S) as well as a control without application of residue (CTL-S). The less abundant families are grouped under the category “Others”.

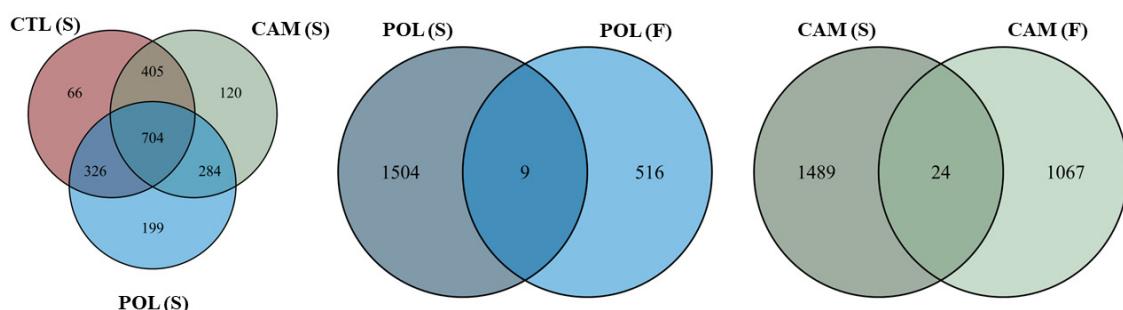


Figura 11. Venn diagram showing ASVs found in cattle manure (CAM-F), poultry litter (POL-F), and in soil samples 60 days after fertilization with cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) as well as a control (CTL-S).

Among the 24 ASVs found in CAM-F and the nine ASVs detected in POL-F, which were also present in soils incorporated with the respective fertilizers, the representation of the 20 most abundant bacterial families was limited. Specifically, only three were classified as Planococcaceae, two as Sphingomonadaceae, and one as Micrococcaceae in both CAM-F and CAM-S. POL-F presented two ASVs classified as Bacillaceae, one as Planococcaceae, and one as Nocardioidaceae. These values represent a very small portion of the 3673 ASVs found throughout the study.

A comparison between CAM-S and POL-S revealed 15 bacterial families with significantly different abundances between treatments (Figure 12). Among these, the families Chitinophagaceae and Sphingomonadaceae were more abundant in POL-S, while the families Streptomycetaceae, Planococcaceae, and Bacillaceae were more prevalent in CAM-S. A comparison between CAM-S and CTL-S showed significant differences only in the families Micrococcaceae and Ktedonobacteraceae, with Micrococcaceae being most abundant in CAM-S and Ktedonobacteraceae being most abundant in CTL-S. Among the 11 families that exhibited significant differences between POL-S and CTL-S, Micrococcaceae and Sphingomonadaceae were found to be more abundant in POL-S, while Planococcaceae, Bacillaceae, and Ktedonobacteraceae were more prevalent in CTL-S.

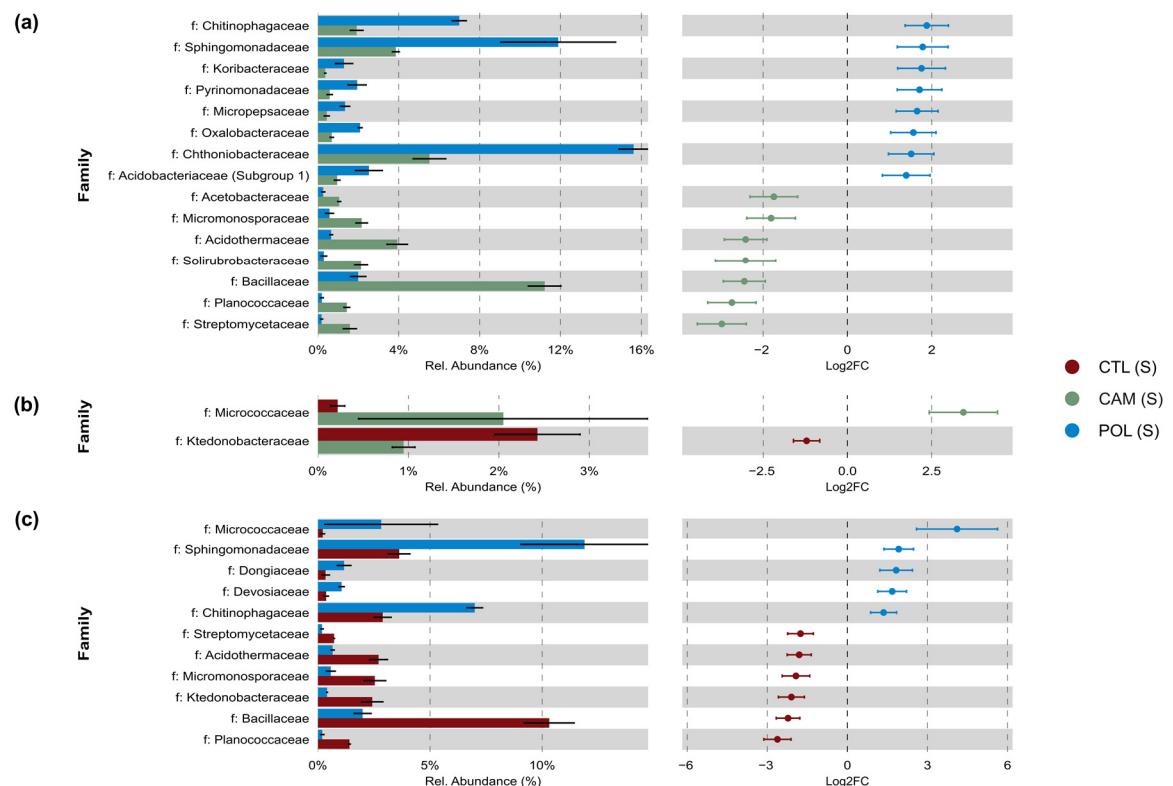


Figura 12. Differentially abundant taxa at family level in soil samples after 60 days of application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and a control soil (CTL-S) which did not receive application of these residues. (a) Comparison between CAM-S and POL-S, (b) comparison between CAM-S and CTL-S, (c) comparison between

POL-S and CTL-S. Means were compared using a negative binomial model with a Wald test (adjusted p value < 0.05).

Among the 20 most abundant bacterial families observed in the analyzed soils, 17 exhibited correlation with the chemical characteristics, with 12 of them showing either positive or negative correlations with the SOC. Moreover, among the families correlated with chemical characteristics, 10 were significantly different between treatments (Figure 13). This means that 50% of the 20 families most abundant in the soil showed significant differences correlated with some chemical characteristic of the soil between treatments.

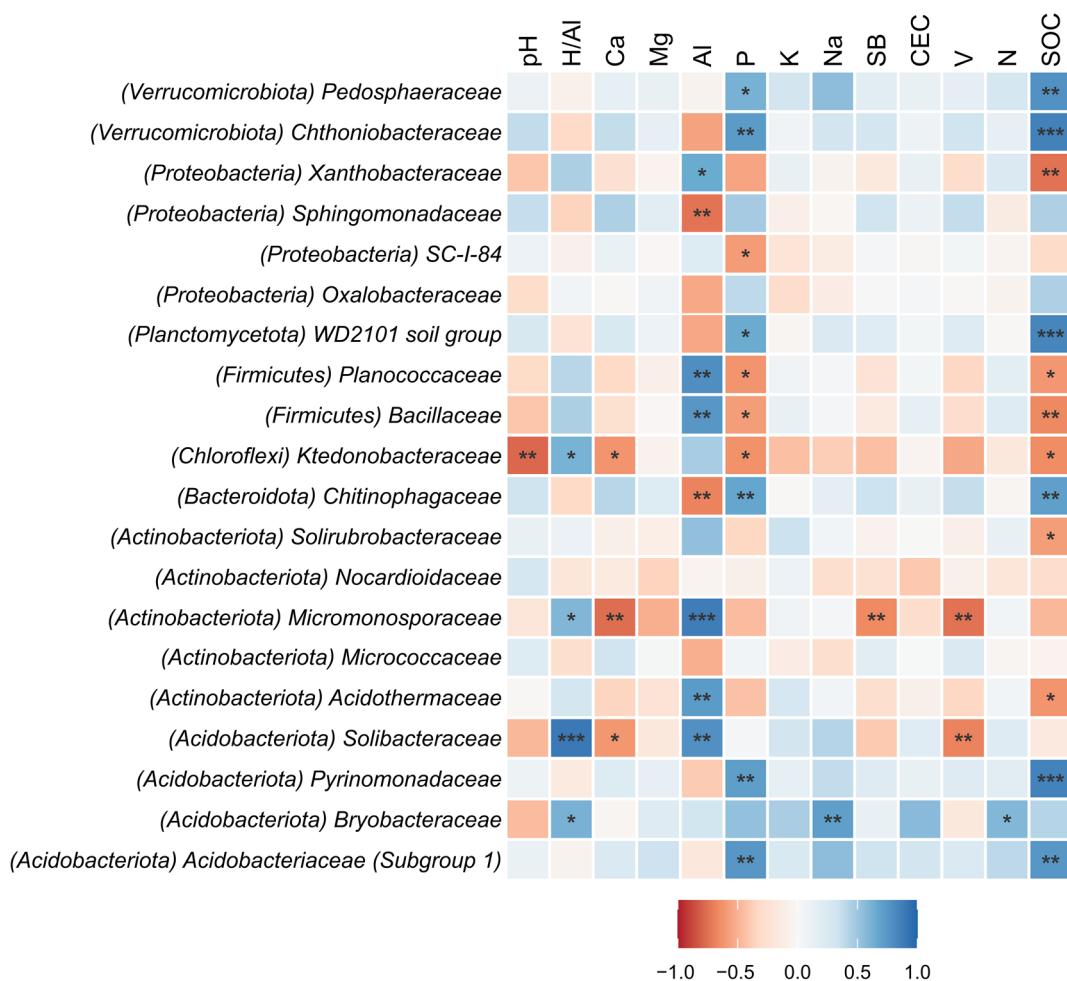


Figura 13. Correlation between chemical characteristics of the soil and the 20 most abundant bacterial families after 60 days of application of cattle manure (CAM-S) or poultry litter (POL-S) and in the control (CTL-S). Pearson's coefficient was used (p value: 0.05). Families that represented at least 1% of the sample abundance were considered. H + Al = potential acidity; SB = sum of bases; CEC = cation exchange capacity; and V = base saturation. Different numbers of asterisks (*) represent different levels of significance.

The families Chthoniobacteraceae, Sphingomonadaceae, Chitinophagaceae, Pyrinomonadaceae, and Acidobacteriaceae (subgroup 1) were most abundant in POL-F, showing a positive correlation with P and SOC and a negative correlation with Al. The families Planococcaceae, Bacillaceae, Micromonosporaceae, and Acidothermaceae were less abundant in POL-S, generally showing a positive correlation with Al and a negative correlation with P and SOC. The family Ktedonobacteraceae was more abundant in CTL-S than in the other

treatments, presenting a positive correlation with H + Al and a negative correlation with pH, Ca, P, and SOC.

4.6. DISCUSSION

This study suggests that the soil bacterial community 60 days after incorporation of POL-F, compared with soils with CAM-F and CTL-S, is likely influenced by factors such as the SOC, P, and Al contents and the pH level (Figure 8). However, POL-S and POL-F presented different bacterial compositions (Figure 8 and Figure 9). The low number of ASVs found both in POL-F and POL-S indicates a low transfer of bacteria from the litter to the soil (Figure 11). These findings imply that POL-F changed the soil bacterial community by introducing new species and altering the characteristics of the soil.

In our study, we did not observe significant differences in the composition or alpha diversity (Table 4) of the soil community between samples without organic fertilizers (CTL) and those with cattle manure (CAM). Many bacteria present in manure originate from the intestinal microbiome of cattle and may be less competitive in the soil environment. This could be due to the fact that soil is more aerobic compared with the intestinal tract, leading to the disappearance of oxygen-sensitive genera (SEMENOV et al., 2011). Therefore, depending on the microbial composition of the manure, the survival of certain taxa may be impaired in the soil, which explains the similarity between the CAM and CTL soil samples.

This study aimed to determine whether the increase in microbial biomass and soil diversity after manure application is due to the survival of microbes introduced with the manure or activation of the soil microbiome. The data revealed that manure application increased the microbial biomass and diversity, in addition to activating many underrepresented taxa in the soil. However, manure microorganisms had low survival rates in the soil, indicating the soil's ability to act as an effective buffer against the entry of new microorganisms (SEMENOV et al., 2021). Thus, it is important to conduct more studies in this area, considering the differences inherent in waste production and soil conditions that can lead to varying compositions of the soil microbiota.

Regarding poultry litter (POL), previous studies have reported that long-term fertilization with poultry litter alters the edaphic microbial community through changes in soil chemical attributes (ASHWORTH et al., 2017; LIU et al., 2017). Our study showed that changes in soil diversity already occurred 60 days after POL application (Table 4).

In this study, the disparity in the C:N ratio between CAM-F and POL-F likely contributed to the observed differences in soil bacterial compositions. Specifically, POL-F led to a relative increase in the abundance of the family Chthoniobacteraceae (phylum: Verrucomicrobiota), which has been positively correlated with SOC (WANG et al., 2019) and negatively correlated with the pH level (TANG et al., 2020). Previous studies have also reported a positive correlation with soil N levels (TANG et al., 2020). This family, which has only one cultivated representative (*Chthoniobacter flavus*), harbors denitrification genes and is involved in the decomposition of organic substrates (CHEN et al., 2023). N, normally associated with organic matter, requires mineralization to become available in soil, a process that largely depends on specific functional microorganism groups, including decomposers and ammonia oxidizers, whose abundance and activity depend on the C:N ratio of the soil (YE et al., 2018). Additionally, the genus RB41 represented 100% of the sequences in the family Pyrinomonadaceae (phylum: Acidobacteriota), known for its diverse metabolic processes, including the degradation of residues rich in lignocellulose and chitin and soil C cycling (WANG et al., 2020a; ZHENG et al., 2023).

The family Sphingomonadaceae (phylum: Proteobacteria), which was also abundant in the soil after POL-F incorporation, was previously negatively correlated with Al (ZHEN et al.,

2023). These bacteria participate in the N cycle (SHI et al., 2021), degrade pollutants, and inhibit pathogens (ZHANG et al., 2020). The family Chitinophagaceae (Bacteroidota), which was positively correlated with P and negatively correlated with Al in this study, tends to be relatively more prevalent in soils with higher pH levels (WANG et al., 2021b). The presence of these bacterial groups in soils incorporated with POL-F could be related to the common practice of using CaO, which is frequently used in POL-F incorporation and aims to reduce the presence of pathogenic bacteria such as *Salmonella* and *Clostridium* (DAI PRA et al., 2009). POL-F tends to increase soil's pH level due to its alkaline nature, also reducing the exchangeable acidity of the soil and, consequently, P availability (MASUD et al., 2020).

Finally, the genus *Edaphobacter* was present in 70% of the sequences in the family Acidobacteriaceae (subgroup 1), which also belongs to the phylum Acidobacteriota. This family is associated with higher nutrient contents in the soil at pH levels close to neutral, being an indicator of soil fertility (ZHANG et al., 2021). Therefore, in our study, the greater occurrence of these microorganisms in POL-S may indicate improved soil fertility with the use of POL-F.

Conversely, some bacterial families were relatively less abundant with POL-F incorporation. The family Planococcaceae (phylum: Firmicutes) may have been negatively affected by competition for resources with the family Sphingomonadaceae (SILVA et al., 2021). These bacteria are important for reducing nitrate and degrading organic pollutants in the soil (LUO et al., 2021; ZHANG; YI; LU, 2022). The family Bacillaceae (phylum: Firmicutes) was also positively correlated with Al and negatively correlated with P, corroborating BARBOSA LIMA et al. (2015). The genus *Bacillus*, which corresponded to 78% of the sequences in this family, is involved in N cycling (VERBAENDERT, 2014) and P solubilization (LÓPEZ-GONZÁLEZ et al., 2015). The family Micromonosporaceae (phylum: Actinobacteriota) showed a positive correlation with Al and H + Al and a negative correlation with Ca, SB, and V. These bacteria play important roles in soil ecology by decomposing complex organic substrates. Finally, the family Acidothermaceae (phylum Actinobacteriota) showed a positive correlation with Al, being represented by thermophilic acidophilic bacteria that have thermostable enzymes capable of degrading cellulose. This family is currently represented only by the genus *Acidothermus* (BERRY; BARABOTE; NORMAND, 2014).

Therefore, despite the increased bacterial abundance indicating soil fertility improvement, it is crucial to acknowledge that families potentially important to the soil were negatively affected by the use of POL-F. Some of the functions of these bacteria include participating in specific N and P cycling processes, degrading complex carbohydrates, and bioremediation. The reduced abundance of these families can be justified by changes in the soil characteristics. POL-F reduced the microbial groups adapted to soils with lower nutrient contents and acidic pH levels. Therefore, POL-F increased nutrient incorporation and the soil's pH due to the increased presence of microorganisms adapted to these new soil conditions, decreasing bacterial groups adapted to less fertile soils.

The Ktedonobacteraceae family (phylum: Chloroflexi) includes aerobic filamentous bacteria, which were more abundant in CTL-S than in the other treatments, and has only the species *Ktedonobacter racemifer* described for it (CAVALETTI et al., 2006). These bacteria were positively correlated with H + Al and negatively correlated with P, Ca, and the pH level. This outcome corroborates a previous study which reported increased relative abundance with lower soil pH levels (KIM et al., 2014).

Families such as Oxalobacteraceae and Micrococcaceae showed different relative abundance between treatments but without correlation with the chemical characteristics of the soil or a significant number of ASVs present in either the fertilizer or the incorporated soil. The increased or decreased relative abundance of these microorganisms in the soil with fertilizer

incorporation may be associated with other factors, including the presence of specific organic compounds or heavy metals.

The results of this highlight the impact of animal waste incorporation, particularly poultry litter (POL-F), on soil bacteria. However, optimizing soil management for subsequent crops demands further studies into the correlation between the bacterial composition of organic fertilizers and their short- and long-term impacts on soil microbiota. It is essential to ensure that the functions of these microorganisms are sustained over time.

4.7. CONCLUSION

The introduction of poultry litter (POL-F) significantly changed the soil bacterial community, whereas the incorporation of cattle manure (CAM-F) demonstrated a negligible effect compared with the control (CTL-S). This shift does not appear to be primarily linked to the direct transfer of bacteria from the fertilizer to the soil. Rather, it seems to be driven by changes in the chemical characteristics of the soil subsequent to the incorporation of POL-F.

5. CAPÍTULO III

ALTERAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA DURANTE O PROCESSO DE COMPOSTAGEM DE CAMA DE AVIÁRIO ENRIQUECIDA COM BIOCARVÃO

5.1. RESUMO

A compostagem é amplamente adotada como um método eficaz de reciclagem de resíduos orgânicos, em que os microrganismos têm um papel essencial na transformação da matéria orgânica em composto estável, com redução do risco ambiental e garantia de sua utilização segura na agricultura. Nesse contexto, o biocarvão pode ser uma alternativa para aumentar a eficiência do processo e redução de bactérias indesejáveis do composto. Assim o objetivo do trabalho foi avaliar a estrutura da comunidade bacteriana e os parâmetros da compostagem da cama de aviário enriquecido com diferentes doses de biocarvão. Para isso, foi realizado um experimento de compostagem de cama de aviário coletada em granjas de São José do Vale do Rio Preto (RJ), com diferentes proporções de biocarvão (0%, 5%, 10% e 15%, com base no peso seco) durante o período de 90 dias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante o processo de compostagem a umidade foi mantida entre 50% e 60%, e parâmetros como pH, condutividade elétrica (CE), densidade, emissões de CO₂ e NH₃ e teores de carbono orgânico, nitrogênio e de metais pesados foram avaliados ao longo dos 90 dias. Amostras de compostos foram coletadas nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias para análises de teores de carbono orgânico e nitrogênio, de metais pesados, emissões de CO₂ e NH₃ e além da diversidade bacteriana, por meio do sequenciamento massivo da região V3-V4 do gene 16S rRNA. A análise de diversidade microbiana foi realizada utilizando o pipeline 'DADA2', e a diversidade alfa foi estimada por riqueza observada e índices de Shannon e Gini-Simpson, enquanto a beta diversidade foi analisada por PCoA. Os resultados mostraram que a adição de biocarvão aumentou as temperaturas mais rapidamente em comparação com o tratamento controle. A estrutura da comunidade bacteriana foi alterada ao longo da compostagem, mas as doses de biocarvão não causaram diferenças significativas na composição bacteriana. A sucessão bacteriana foi observada, porém, o biocarvão não influenciou nesse processo. Apesar do biocarvão promover maior aeração e acelerar o processo de compostagem, ele não foi eficaz para alcançar as temperaturas necessárias para a sanitização da cama de aviário. Gêneros bacterianos indesejáveis, como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Ralstonia* e *Nicolellia*, foram mais abundantes nos tratamentos com biocarvão. Os resultados sugerem que, embora o biocarvão tenha aumentado a eficiência do processo de compostagem, ele não é suficiente para garantir a eliminação de microrganismos indesejáveis durante a compostagem.

Palavras-chave: 16S rRNA. Fertilizante orgânico. Microrganismos. Resíduos animais.

5.2. ABSTRACT

Composting is widely adopted as an effective method for recycling organic waste, where microorganisms play a crucial role in transforming organic matter into stable compost, reducing environmental risks, and ensuring its safe use in agriculture. In this context, biochar may serve as an alternative to enhance the efficiency of the composting process and reduce undesirable bacteria in the compost. Thus, the objective of this study was to evaluate the structure of the bacterial community and the composting parameters of poultry litter enriched with different doses of biochar. For this purpose, a composting experiment was conducted using poultry litter collected from farms in São José do Vale do Rio Preto (RJ), with different biochar proportions (0%, 5%, 10%, and 15%, based on dry weight) over 90 days. The experiment was carried out in a completely randomized design with four replicates at the Federal Rural University of Rio de Janeiro. During the composting process, moisture was maintained between 50% and 60%, and parameters such as pH, electrical conductivity (EC), density, CO₂ and NH₃ emissions and organic carbon, nitrogen and heavy metal contents were evaluated over the 90-day period. Compost samples were collected at 0, 30, 60, and 90 days for analyses of organic carbon and nitrogen content, heavy metals, CO₂ and NH₃ emissions, and bacterial diversity through massive sequencing of the V3-V4 region of the 16S rRNA gene. Microbial diversity analysis was performed using the 'DADA2' pipeline, and alpha diversity was estimated by observed richness and Shannon and Gini-Simpson indices, while beta diversity was analyzed via PCoA. The results showed that the addition of biochar increased temperatures more rapidly compared to the control treatment. The structure of the bacterial community was altered throughout the composting process, but biochar doses did not cause significant differences in bacterial composition. Bacterial succession was observed; however, biochar did not influence this process. Although biochar promoted greater aeration and accelerated the composting process, it was not effective in reaching the temperatures required for the sanitization of poultry litter. Undesirable bacterial genera, such as *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Ralstonia*, and *Nicolella*, were more abundant in treatments with biochar. The results suggest that while biochar increased the efficiency of the composting process, it is not sufficient to ensure the elimination of pathogenic microorganisms during composting.

Keywords: 16S rRNA. Organic fertilizer. Microorganisms. Animal waste.

5.3. INTRODUÇÃO

A geração de cama de aviário no Brasil foi estimada em milhões de toneladas anualmente e vem crescendo nos últimos anos (MARTINS, 2021). O reaproveitamento destes resíduos como fertilizantes é uma tendência mundial, tanto pela reciclagem dos nutrientes, quanto pela redução da dependência de fertilizantes minerais (BI et al., 2020; LIM; LEE; WU, 2016). Esse subproduto é rico principalmente em N, mas possui quantidades consideráveis de P, K e Ca, em formas solúveis, além de micronutrientes e elementos traço. Porém, a sua composição varia de acordo com raça de frango, sazonalidade e sistema de criação das aves (LALOUCKOVA; SKRIVANOVA, 2019; TANG et al., 2015). Uma vez no solo, esses resíduos influenciam a composição química do solo, o que promove impacto na diversidade bacteriana desse ambiente, porém, também podem introduzir microrganismos provenientes desses resíduos (SANT'ANNA et al., 2024). Entre esses microrganismos, estão bactérias potencialmente patogênicas como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*, que representam riscos à saúde humana e animal.

A compostagem consiste na transformação da matéria orgânica em um produto estabilizado por meio da rápida sucessão de populações microbianas sob condições aeróbicas. De forma geral, a compostagem é dividida em quatro fases. A primeira fase é a mesofílica ou fase inicial, onde um rápido aumento de temperatura na faixa de 10 a 42 °C determina o início da degradação da matéria orgânica, e sua duração varia entre 24 e 72 h. A segunda é a fase termofílica, caracterizada por temperaturas entre 45 e 70 °C em relação às atividades metabólicas de microrganismos termofílicos endógenos que degradam os compostos orgânicos, e pode durar de vários dias a várias semanas. Durante a fase seguinte, indicada como fase mesofílica II ou fase de maturação, a temperatura diminui entre 65 e 50 °C, e se mantém por 1 a 2 meses, com a reativação do microrganismo mesofílico e as degradações dos componentes mais recalcitrantes. Finalmente, a última fase é a fase de maturação ou cura, que pode durar de 1 a 4 meses com temperatura compreendida entre 50 e 23 °C, e onde a matéria orgânica produzida está estabilizada (FINORE et al., 2023).

A compostagem é uma prática amplamente utilizada pelos agricultores e que tem como vantagens a redução de massa e volume do resíduo, concentração de nutrientes, estabilização do material e, degradação de substâncias tóxicas (FERREIRA, 2021). Além disso, é uma estratégia eficaz para a redução de microrganismos patogênicos, promovendo a segurança no uso desses resíduos como fertilizantes, além do baixo custo operacional (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009). Dentro desse contexto, o biocarvão tem se destacado como aditivo promissor na compostagem, devido à sua estrutura porosa e capacidade de adsorção. A adição de biocarvão na compostagem de resíduos animais em uma taxa de 15 % em peso promove um aumento rápido da temperatura e pH do composto (WAQAS et al., 2018), acelera a degradação da matéria orgânica pelo aumento da atividade microbiana e ainda reduz a perda de nitrogênio (SANCHEZ-MONEDERO et al., 2018; VANDECARTEEELE et al., 2016; ZHANG et al., 2016). No entanto, a sua interação com os microrganismos envolvidos na compostagem ainda são áreas pouco exploradas e compreendidas.

Durante o processo de compostagem, diversos microrganismos e fatores ambientais desempenham papel significativo na mineralização da matéria orgânica (SONG et al., 2014), no entanto, as bactérias são as mais atuantes devido à sua adaptação a condições ambientais adversas e metabolismo (FU et al., 2015; LI et al., 2013). Portanto, a investigação da abundância relativa e da dinâmica bacteriana durante a compostagem é de grande importância para entender o mecanismo geral da mineralização de resíduos orgânicos. Porém, ainda há pouca informação

sobre a abundância relativa das bactérias-chave e sua correlação com a transformação da matéria orgânica, o que é essencial para a identificação da dinâmica bacteriana e sua importância durante a compostagem de cama de aviário (AWASTHI et al., 2018).

A hipótese desse estudo, portanto, é que a adição do biocarvão altera a comunidade bacteriana durante o processo de compostagem e, assim, a redução de bactérias indesejáveis. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a estrutura da comunidade bacteriana e os parâmetros da compostagem da cama de aviário enriquecido com diferentes doses de biocarvão (0%, 5%, 10% e 15%) em quatro períodos distintos (0, 30, 60 e 90 dias após o início da compostagem).

5.4. MATERIAL E MÉTODOS

O biocarvão foi preparado a partir de carvão vegetal comercial produzido de madeira de eucalipto. O material foi seco em estufa de circulação forçada de ar e triturado utilizando moinho de bola. A cama de aviário foi coletada em granjas localizadas no município de São José do Vale do Rio Preto (SJVRP), região serrana do Estado do Rio de Janeiro.

A compostagem foi realizada durante 90 dias em área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica/RJ, em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos compreenderam à diferentes proporções de biocarvão que foram adicionados à cama de aviário para a realização da compostagem (ausência (0%); 5%; 10%, e 15%, com base no peso seco) e pelos diferentes tempos de compostagem da cama de frango (cama de aviário não compostada, cama de aviário com 30, 60 e 90 dias de compostagem).

O composto foi homogeneizado através do revolvimento manual das leiras de acordo com a temperatura. A temperatura foi continuamente monitorada utilizando termômetros de bulbo de mercúrio. A umidade do composto foi mantida em torno de 50% a 60%. Amostras compostas representativas foram coletadas da cama de aviário não compostada e após 30, 60, e 90 dias de compostagem, obtidas a partir de amostras simples, retiradas aleatoriamente de diferentes subamostras nas leiras do topo até a base.]

O pH e a CE foram avaliados em solução de água destilada (5:1) (BRASIL, 2007) e a determinação da densidade foi feita por meio de uma proveta de 100 ml. As emissões de CO₂ e de NH₃ foram quantificadas conforme metodologia descrita por (LEAL, 2020). O teor de carbono orgânico foi realizado pelo método de oxidação por dicromato em meio ácido e o teor de nitrogênio mineral foi extraído com KCl (TEDESCO et al., 1995). Os teores totais dos metais pesados no composto e no biocarvão foram obtidos pelo método de digestão 3050 proposto pela (USEPA, 2007) e a concentração dos elementos foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica, em equipamento modelo Varian 55B com capacidade sequencial rápida e correção com lâmpada de deutério. Todas as análises foram completamente descritas por FERREIRA (2023a).

Para a extração de DNA dos compostos foi utilizado o kit de extração DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Inc., Alemanha) segundo o protocolo do fabricante. Após a extração, as amostras foram armazenadas a -20° C, e a quantidade e a qualidade do DNA obtido foram avaliadas por espectrofotômetro (Nano Drop ND-1000 Spectrophotometer Thermo Fisher Scientific). A integridade do DNA total foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (ADKINS; HALL; GEORGEL, 2007). O preparo de biblioteca dos amplicons da região variável V3-V4 do gene 16S rRNA foram gerados com a amplificação com os primers Bakt_341F ('5-CCTAYGGGNNGCWGCAG-3') e Bakt_805R ('5-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') e o sequenciamento em um sistema paired-end 2x250 na plataforma NovaSeq (Illumina, EUA) foram realizados na Novogene (Novogene, Co., China).

Para a aferição inicial da qualidade dos dados sequenciados, utilizou-se o programa "FastQC" (v.0.11.9) (ANDREWS, 2020). Adicionalmente, as bibliotecas foram submetidas as funções "fastx_info" e "fastq_eestats2", do programa "USEARCH" (v.11.0.667) (EDGAR, 2010), onde constatou-se a distribuição de qualidades, tamanhos de sequência e erros esperados. Neste mesmo programa, utilizou-se a função "search_oligodb", fornecendo como parâmetros as sequências do par de primers referentes a região V3-V4 do gene 16S rRNA (341F '5-CCTAYGGGNNGCWGCAG-3'; 805R '5 GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'), de modo a

detectar a presença e posição desses nas leituras. Em seguida, realizou-se a remoção dos primers com o programa "Atropos" (v.1.1.310) (DIDION; MARTIN; COLLINS, 2017), filtrando sequências cujos primers não estavam presentes ("--discard-untrimmed"). A porção final das sequências foram podadas de modo a assegurar uma melhor qualidade. Para isso, utilizou-se o programa "Fastp" (v.0.23.2) (CHEN et al., 2018) de modo a remover até 20 ("--max_len1 230") e 30 ("--max_len2 220") bases finais de baixa qualidade das bibliotecas forward e reverse, respectivamente. Além disso, leituras completas cuja média total do Phred Score (Q) fosse inferior a Q20 foram removidas ("--average_qual 20"). Por fim, os pares de bibliotecas foram fundidas por sobreposição, através do programa "Flash" (v.1.2.11) (MAGOČ; SALZBERG, 2011), aceitando uma sobreposição mínima de 10 bases ("--min-overlap 10").

As leituras fundidas com tamanhos entre 390 e 430 bases foram submetidas ao pipeline "DADA2" (CALLAHAN et al., 2016). Para isso, utilizamos o pacote "dada2" (v.1.22.0) do programa estatístico "R" (v.4.1.2) (R CORE TEAM, 2021). Inicialmente, as leituras foram filtradas pela função "filterAndTrim", considerando um erro esperados de 4 ("maxEE = 4"). Em seguida, estimou-se as probabilidades de erros em bases ("learnErrors") e, então, corrigiu-se as sequências com base no modelo obtido ("dada"). Dessa forma, foram designadas as Sequências Variantes de Amplicons (ASVs) presentes em cada amostra, as quais foram investigadas e filtradas quanto a presença de possíveis sequências químéricas ("removeBimeraDenovo"). As ASVs foram anotadas taxonomicamente contra o banco de dados de sequências-referências SILVA (v.138) (QUAST et al., 2013) com suporte adicional dos bancos RDP (v.18) (COLE et al., 2014) e GTDB (v.202) (PARKS et al., 2022) para detecção de contaminantes. Foram filtradas ASVs não-anotadas como bactérias ou arqueias, bem como aquelas cuja anotação remetia a cloroplastos ou mitocôndrias. Além disso, ASVs prevalentes em apenas uma única réplica, foram desconsideradas. As contagens e anotações taxonômicas das ASVs foram exportadas no formato "phyloseq" (Pacote R "phyloseq"; v.1.38.0) (MCMURDIE; HOLMES, 2013), o qual foi, posteriormente, transformado em dados composicionais ("method = 'total'") pela função "phyloseq_standardize_otu_abundance" do pacote R "metagMisc" (v.0.040) (MIKRYUKOV, 2019).

A avaliação da efetividade da amostragem foi inferida pela obtenção das curvas de rarefação, pela análise "amp_rarecurve" do pacote R "ampvis2" (v.2.7.17) (ANDERSEN et al., 2018). A alfa diversidade foi estimada através averiguação da riqueza observada e de medidas de diversidade (índice de Shannon e Gini-Simpson), obtidas com a função "alpha" do pacote R "microbiome" (v.1.16.0) (LAHTI; SHETTY, 2018). As medidas obtidas foram comparadas estatisticamente através do teste de Kruskal-Wallis (p-valor ≤ 0.1) e o teste post-hoc Fisher's LSD foi utilizado para a comparação par-a-par e agrupamento das médias (p-valor ≤ 0.1). Ambos foram implementados pela função "kruskal" do pacote R "agricolae" (v.1.3.5) (MENDIBURU, 2020). A análise de beta diversidade se deu pelo cálculo das dissimilaridades de Bray-Curtis, obtidas pela função "distance" do pacote R "phyloseq". Realizou-se uma análise PERMANOVA (função "adonis" do pacote R "vegan"; v.2.6.2) (OKSANEN et al., 2020) para avaliar se houve diferença entre os tratamentos (p-valor ≤ 0.1). Adicionalmente, foi feita uma análise post-hoc (função "pairwise.adonis" do pacote R "pairwiseAdonis"; v.0.4) (MARTINEZ ARBIZU, 2020) para avaliar quais tratamentos diferiram entre si (p-valor ≤ 0.1). A fim de reduzir a multidimensionalidade das distâncias, realizou-se uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), da qual utilizou-se posteriormente para a plotagem do gráfico.

A avaliação dos táxons diferencialmente abundantes permitiu identificar aqueles com abundância relativa maior que 1% cuja presença foi significativamente superior em um tratamento quando comparado com os demais. Foram feitas duas comparações: as diferentes doses de biocarbôno no tempo de 90 dias e a comparação dos dias no tratamento controle, sem a adição de biocarbôno. Para isso, utilizamos a abordagem do "DESeq2" (pacote R v.1.34.0) (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014), a qual compara as médias com base em um modelo

binomial-negativo, por meio do teste Wald (p-valor ajustado < 0.05). Para a análise ao longo dos dias, foram filtrados os 20 gêneros com maior ou menor Log2FC. As representações gráficas das análises supracitadas foram feitas no "R", por meio do pacote "ggplot2" (v.3.3.6) (KASSAMBARA, 2020).

As correlações entre as propriedades do composto com a microbiota, foram obtidas levando em consideração os níveis taxonômicos de Filo e Família. Os coeficientes de Pearson foram calculados entre cada táxon e propriedade do solo, com a função "corr.test" do pacote R "psych", e plotadas na forma de um heatmap.

5.5. RESULTADOS

No início do experimento, as temperaturas do composto sem adição de biocarvão e na dose de 5% apresentaram temperaturas maiores que os tratamentos com 10% e 15% de biocarvão (Tabela 6). Dos 7 aos 14 dias do experimento, as temperaturas decresceram e não variaram de acordo com as doses de biocarvão. Aos 30 dias, os tratamentos com adição do biocarvão não se diferenciaram, estatisticamente entre si, entretanto, foram estatisticamente superiores ao tratamento sem adição do biocarvão. Nesse tempo, foram registradas as maiores temperaturas do composto, sendo a maior no tratamento com 5% de biocarvão (34,8 °C). Dos 60 aos 90 dias de compostagem, as temperaturas foram decrescendo e, de forma geral, o tratamento sem adição de biocarvão apresentou as maiores temperaturas em relação aos tratamentos com este aditivo. Os demais parâmetros analisados durante o processo de compostagem foram apresentados nos Apêndices 1 e 2.

Tabela 6. Temperatura da cama de aviário (°C) sem adição de biocarvão (0%), com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem

Dose (%)	Dias de compostagem					
	0	7	14	30	60	90
0	34,1 Aa	29,0 Abc	26,9 Ad	28,3 Bcd	30,3 Ab	24,5 Ae
5	33,4 Aba	29,9 Ab	27,4 Ac	34,8 Aa	27,5 Bc	23,3 ABd
10	32,0 CBb	29,1 Ac	27,3 Ad	34,3 Aa	27,8 Bcd	23,0 Be
15	32,6 Cb	29,5 Ac	27,4 Ad	34,4 Aa	29,5 Ac	22,9 Be

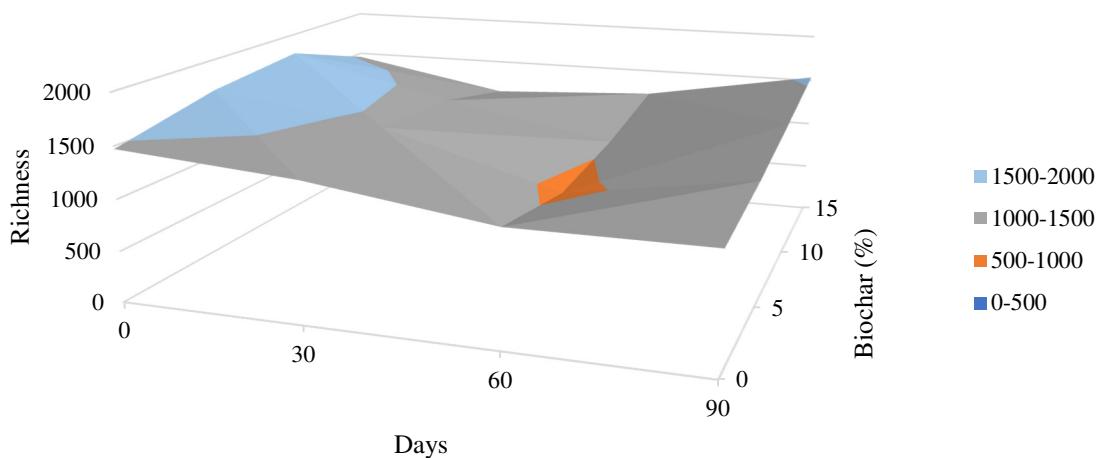
Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna ou minúsculas na linha, não diferem entre si segundo teste de Tukey, com 5% de significância

A diversidade bacteriana do composto apresentou interação significativa entre os fatores (dias e doses de biocarvão) (Tabela 7). Foi observado que há diferença significativa nos índices de alta diversidade ao longo dos dias para os índices de Riqueza e diversidade Shannon e Gini-Simpson (Figura 14). Porém, as doses de biocarvão promoveram apenas alteração significativa no índice Gini-Simpson. De forma geral, os índices de alfa-diversidade decresceram com o tempo, atingindo os menores valores aos 60 dias e voltando a aumentar aos 90 dias. Aos 60 dias, a dose de 5% apresentou os menores índices de alfa-diversidade.

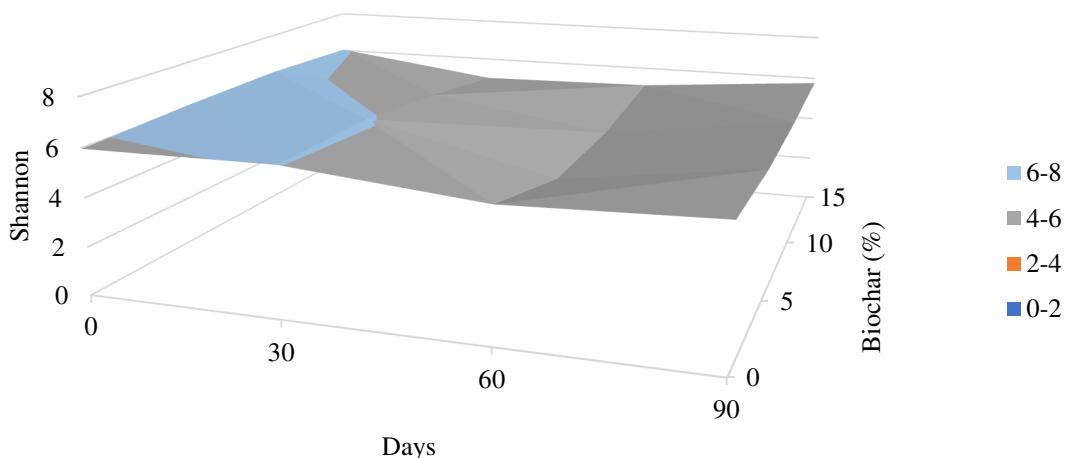
Tabela 7. Análise de variância e teste de interação entre dias de compostagem e doses de biocarvão nos índices de diversidade bacteriana

	Riqueza	Shannon	Gini-Simpson
	p-value		
Dias	0,000000	0,000000	0,0000108
Biocarvão	0,084512	0,187467	0,0302988
Dias*Biocarvão	0,000156	0,001797	0,0056794

(A)



(B)



(C)

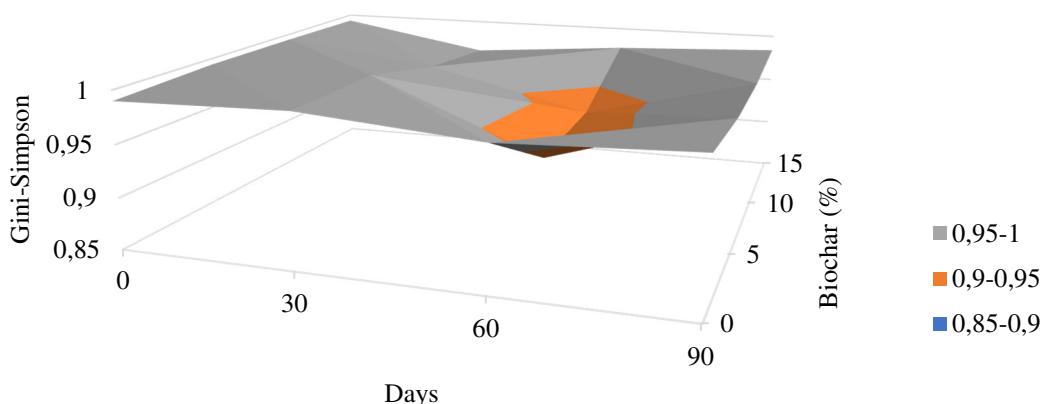


Figura 14. Índices de alfa-diversidade bacteriana no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem. Riqueza de ASVs (A), índices Shannon (B) e Gini-Simpson (C).

A estrutura da comunidade bacteriana foi alterada significativamente ao longo dos dias de compostagem e em relação as doses de biocarvão (**Figura 15**. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) usando a distância Bray-Curtis e teste de hipóteses multivariadas PERMANOVA da estrutura da comunidade bacteriana no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem. Figura 15). As comunidades bacterianas dominantes foram os filos Firmicutes (33%), Proteobacteria (24%), Actinobacteriota (21%) e Bacteroidota (14%) (Figura 16). Os gêneros mais abundantes foram os gêneros não classificados da família Bacillaceae (7%), *Bacillus* (6%), *Glutamicibacter* (5%), *Staphylococcus* (4%), *Brevibacterium* (3%), gêneros não classificados da família Staphylococcaceae (2%) e *Pricia* (2%) (Figura 17).

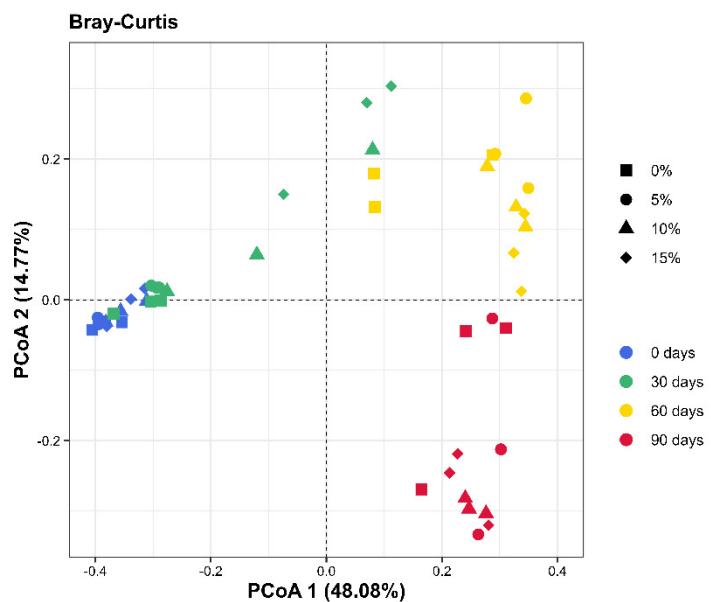


Figura 15. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) usando a distância Bray-Curtis e teste de hipóteses multivariadas PERMANOVA da estrutura da comunidade bacteriana no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.

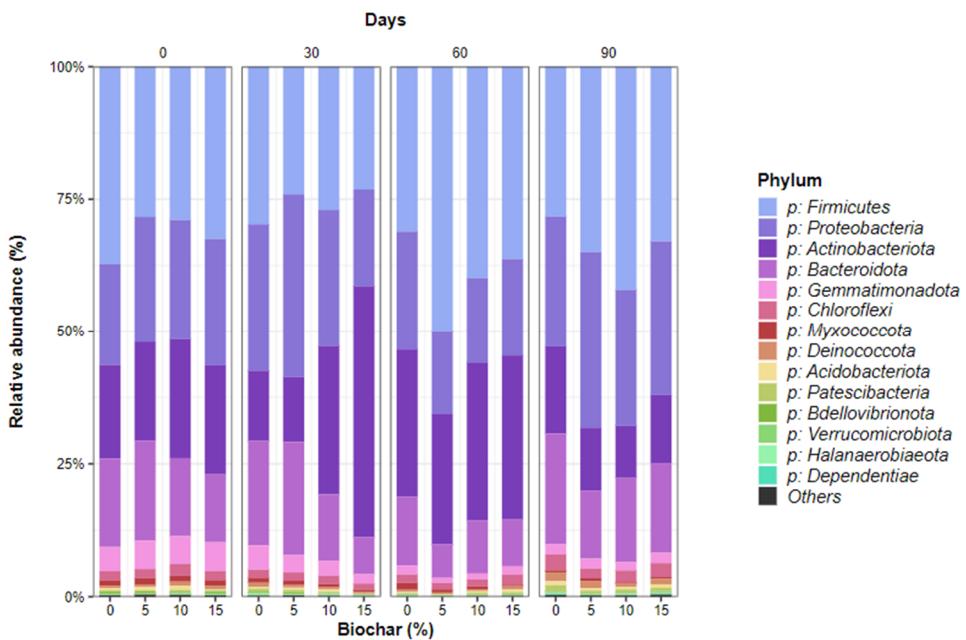


Figura 16. Filos bacterianos mais abundantes no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.

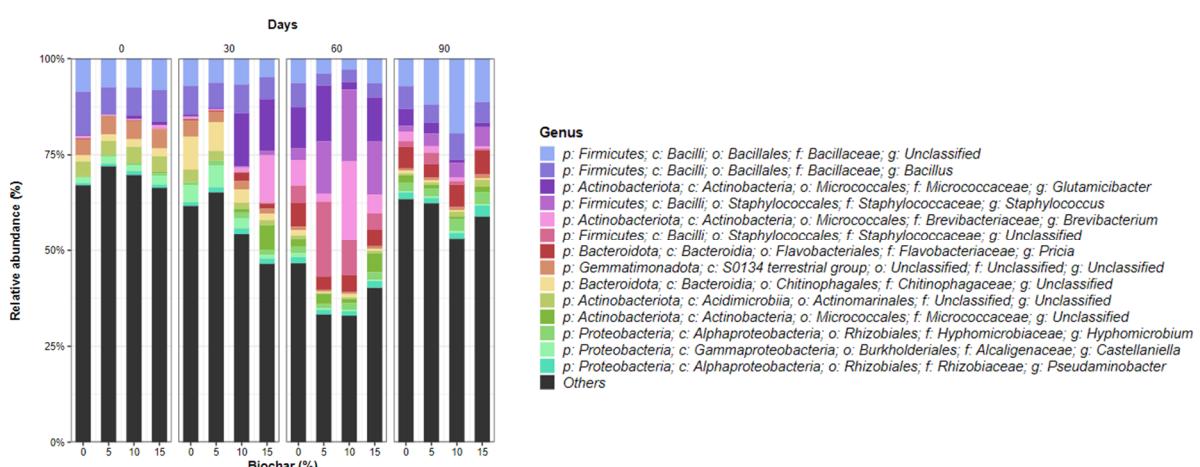


Figura 17. Gêneros bacterianos mais abundantes no composto da cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão (5%, 10% e 15%) durante 90 dias de compostagem.

Os gêneros *Pseudomonas*, *Glutamicibacter*, *Pricia*, foram menos abundantes no tempo 0 e aos 30 dias em relação aos demais tratamentos (Figura 18). O gênero *Glutamicibacter* (Actinobacteriota) ainda foi enriquecido aos 60 dias e o gênero *Pseudomonas* (Proteobacteria) enriquecido aos 90 dias em relação aos demais tempos. O gênero bacteriano *Pseudomonas* apresentou correlação positiva com a temperatura e com as emissões de CO₂ e NH₃, enquanto o gênero *Glutamicibacter* foi correlacionado positivamente com as emissões de CO₂ mas negativamente com as de NH₃ (Figura 19). Já os gêneros *Arachidicoccus*, *Dyella* e *Massilia* foram depletados aos 90 dias de compostagem.

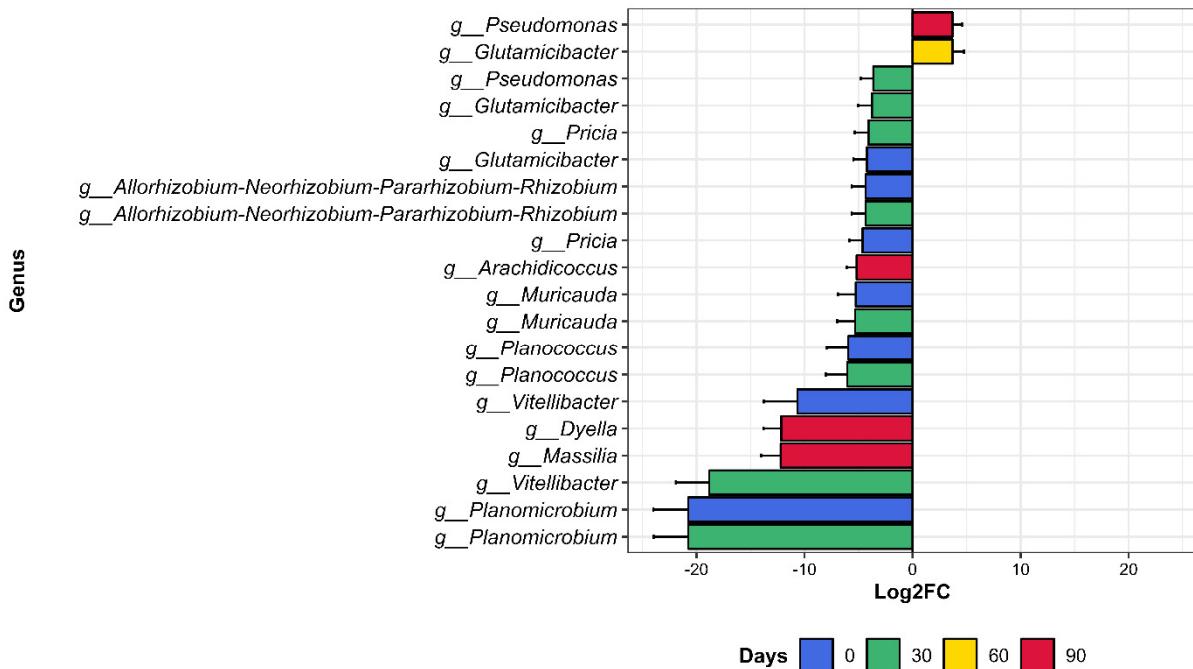


Figura 18. Gêneros diferencialmente abundantes no composto da cama de aviário sem a adição de biocarvão durante 90 dias de compostagem. Comparação entre os tempos 0, 30, 60 e 90 dias de compostagem.

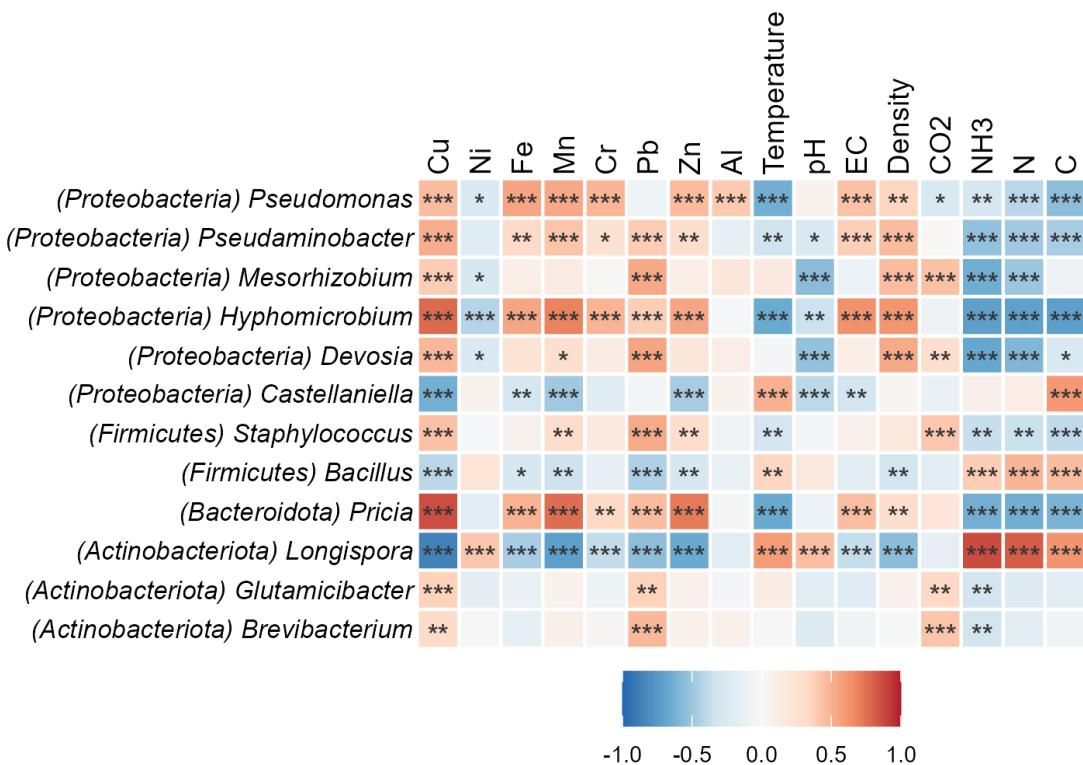


Figura 19. Correlação entre os gêneros bacterianos mais abundantes na compostagem de cama de aviário e os parâmetros Cobre (Cu), Níquel (Ni), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cromo (Cr), Chumbo (Pb), Zinco (Zn) e Alumínio (Al), Temperatura, pH, condutividade elétrica (EC) e densidade emissões de CO₂ (CO₂) e NH₃ (NH₃), nitrogênio mineral (N) e carbono orgânico (C).

Ao final do período de compostagem, apenas o tratamento controle, sem adição de biocarvão e o tratamento com a dose intermediária de 10% apresentaram alterações significativas na composição bacteriana em relação aos demais tratamentos (Figura 20). Os gêneros bacterianos *Ralstonia*, *Hoppeia*, *Nicoletella* e *Corynebacterium* apresentaram menor abundância relativa no tratamento controle em relação aos demais, enquanto os gêneros *Vitellibacter* e *Truepera* foram depletados com a dose de 10% de biocarvão. Já o gênero *Nicoletella* foi enriquecido com a dose de 10% de biocarvão, assim como os gêneros *Muricalda*, *Vitellibacter* e o clado *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, que foram enriquecidos pelo tratamento controle, sem a adição de biocarvão.

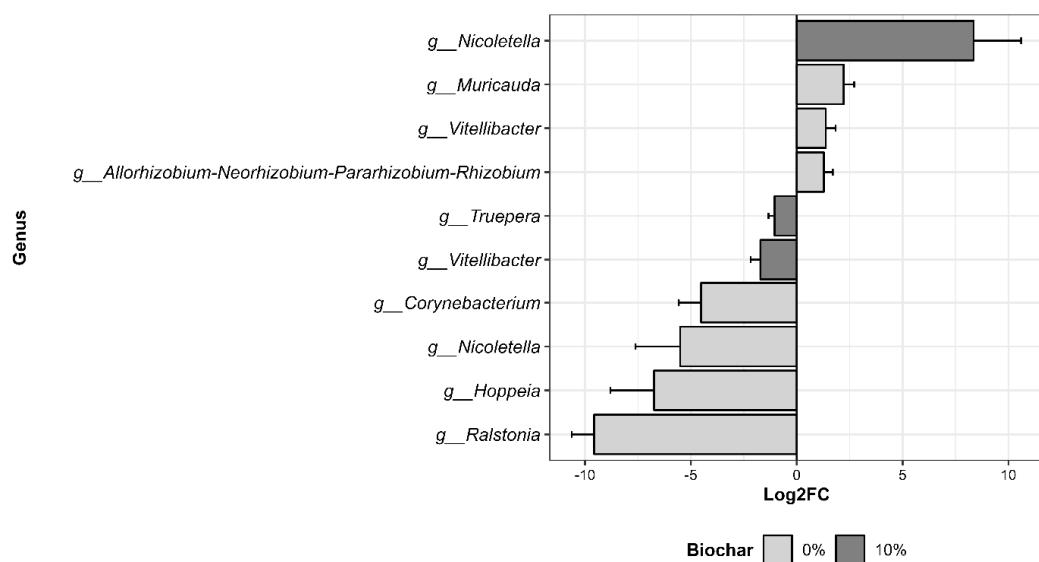


Figura 20. Gêneros diferencialmente abundantes no composto da cama de aviário com adição de biocarvão nas doses de 0%, 5%, 10% e 15% aos 90 dias de compostagem.

5.6. DISCUSSÃO

Os tratamentos que receberam biocarvão, independentemente da dose, podem ter apresentado maior aeração devido aos microsítios do biocarvão, favorecendo a atividade dos microrganismos (FERREIRA, 2023). A adição de biocarvão aumenta a aeração e, consequentemente, a atividade de microrganismos, o que acelera as transformações e causa um aumento na quantidade de calor produzido (ZHANG et al., 2016). Por isso, esses tratamentos atingiram temperaturas superiores em um tempo mais curto, antecedendo o tratamento controle, que alcançou seu pico de temperatura mais tarde, aos 60 dias. O aumento da temperatura, por sua vez, contribui para a diminuição da população microbiana, resultando na redução da diversidade. Por esse motivo, durante a compostagem, geralmente é observada forte correlação negativa entre a riqueza microbiana e a temperatura (ZHANG et al., 2018), o que corrobora com nosso estudo.

A adição de biocarvão, independentemente da dose, promoveu diferença significativa na estrutura da comunidade bacteriana em relação ao controle aos 30, 60 e 90 dias de compostagem (Apêndice 3), porém, não contribuiu para a elevação da temperatura a ponto de realizar a sanitização da cama de aviário. Segundo a resolução CONAMA 481/2017, o tempo e temperatura necessários para higienização dos resíduos sólidos orgânicos durante a compostagem em sistemas abertos é de 55 °C durante 14 dias ou 65 °C durante 3 dias (BRASIL, 2017), o que não foi observado em nosso estudo. Entretanto, as maiores temperaturas aos 30 dias foram determinantes para reduzir os índices de alfa diversidade aos 60 dias. Apesar disso, a temperatura não atingiu o patamar necessário para reduzir os microrganismos patogênicos como *Pseudomonas* (Proteobacteria) e *Staphylococcus* (Firmicutes). Contudo, apesar da compostagem geralmente ser eficiente para reduzir bactérias potencialmente patogênicas, estes gêneros mencionados são prevalentes em compostos (WANG et al., 2020b).

O controle promoveu menor abundância relativa do gênero *Ralstonia* em relação aos demais tratamentos utilizando biocarvão. Membros desse gênero (*Ralstonia solanacearum*) tem importância na produção de tomates e batatas, causando murcha nessas culturas (VAILLEAU; GENIN, 2023). Alguns membros desse gênero (*Ralstonia pickettii*) podem até causar doenças hospitalares em humanos (BEDIR DEMIRDAG et al., 2022). Além disso, o controle também promoveu maior abundância relativa de bactérias classificadas como *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, clado caracterizado por bactérias simbóticas do solo que promovem a fixação de nitrogênio (XIA et al., 2023). O gênero *Nicolellia*, depletado no tratamento controle e enriquecido com a dose de 10% de biocarvão, é relevante na medicina veterinária por estar associado ao trato respiratório de equinos, podendo causar doenças pulmonares nesses animais (RILEY et al., 2021).

Foi observada também que houve a sucessão bacteriana durante o processo de compostagem, evidenciada pela Análise de Coordenadas Principais (PCoA). Essa diferenciação das comunidades durante a compostagem varia de acordo com material (WANG et al., 2015), porém, padrões de mudança na estrutura e funções metabólicas são análogas e estão relacionadas com o metabolismo de carboidratos e nitrogênio (AMIR et al., 2008; CHEN et al., 2020; WEI et al., 2018). Isso significa que processos ecológicos consistentes controlam as mudanças na composição microbiana e nas funções metabólicas ao longo da compostagem (BAO et al., 2021).

Bactérias reconhecidamente atuantes na dinâmica do N na compostagem, como *Staphylococcus* que atua no processo de amonificação (CHANGSONG; DALI; PEIJIN, 1995), *Hypomicrobium*, que realiza desnitrificação (GRENIER et al., 2023), e *Pseudomonas*, atuante

nos processos de amonificação (WANG et al., 2023) e desnitrificação (GRENIER et al., 2023), podem ter sido determinantes nesse processo de sucessão na compostagem de cama de aviário. Estes gêneros aumentaram sua abundância relativa durante o processo e foram negativamente correlacionados com as emissões de NH₃. Outros gêneros bacterianos geralmente dominantes em compostagem contendo biocarvão como *Halomonas*, *Pusillimonas* e *Pseudofulvimonas*, todos conhecidos como bactérias nitrificantes e desnitrificantes, já foram significativamente correlacionados com a dinâmica do conteúdo de NO₂⁻ e NO₃⁻ ao longo do processo de compostagem (ZAINUDIN et al., 2020).

Durante o processo de compostagem de cama de aviário, a transformação do nitrogênio ocorre por meio da amonificação, nitrificação e desnitrificação. Os compostos nitrogenados presentes no esterco de aves, como proteínas e ureia, são inicialmente convertidos em amônio (NH₄⁺) por meio da amonificação. Em seguida, o NH₄⁺ é oxidado a nitrito (NO₂⁻) e nitrito (NO₃⁻) por meio da nitrificação. Por fim, o NO₃⁻ é reduzido a N₂O e, posteriormente, a N₂ por meio da desnitrificação (CHEN et al., 2017). Os materiais ricos em N e com pH alcalino, assim como o composto do presente estudo, emitem grande quantidade de amônia (NH₃) obtida a partir do processo de decomposição de proteínas e aminoácidos. As emissões de NH₃ estão frequentemente correlacionadas às altas temperaturas, uma vez que ambas resultam da mineralização da matéria orgânica. Dessa forma, à medida que a estabilização do composto é alcançada, a produção de NH₃ reduz significativamente (BERTHOLOTO, 2022; LEAL et al., 2011).

Apesar do biocarvão adicionado ao processo de compostagem ter sido eficiente para acelerar a atividade bacteriana e reduzir o tempo para atingir a fase termofílica, o sucesso da compostagem depende de vários fatores, entre eles a oxigenação adequada do composto. A ventilação excessiva pode resultar em perda de calor, o que compromete a fase termofílica do processo, fase crítica para a eliminação de patógenos. Portanto, controlar a temperatura durante a compostagem é essencial para assegurar a eficácia.

A compostagem é uma prática amplamente utilizada e promissora para o tratamento de resíduos orgânicos em sistemas agrícolas. No entanto, para que os resíduos sejam aproveitados de forma segura e eficiente, é fundamental que os parâmetros de manejo sejam continuamente aprimorados. Isso inclui otimizar condições como aeração, temperatura e umidade, uso de aditivos, bem como investigar seus impactos na microbiota do solo. Esses avanços são essenciais para garantir que os resíduos animais compostados possam ser utilizados de maneira segura, sem comprometer a saúde do solo, a sustentabilidade ambiental e a segurança dos agroecossistemas. Assim, como a saúde humana, animal e ambiental estão interconectadas, conceito conhecido como “saúde única” (*One health*), esses resultados sugerem que a aplicação de resíduos oriundos de um processo de compostagem ineficiente no solo pode oferecer riscos, não só para a saúde humana, mas para o ambiente e os animais do agroecossistema.

5.7. CONCLUSÕES

O processo de compostagem promoveu a alteração da estrutura da comunidade bacteriana, porém, a adição de biocarvão apresentou pouca influência durante esse processo. O biocarvão aumentou a eficiência do processo, reduzindo o tempo para atingir as temperaturas mais altas, porém, se mostrou ineficiente para eliminar alguns microrganismos indesejáveis no composto, como membros dos gêneros *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Ralstonia* e *Nicolellia*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo destacam a vulnerabilidade do agroecossistema de montanha tropical e a importância de práticas de manejo que garantam a manutenção da fertilidade do solo nesse ambiente. O uso intensivo do solo promove alterações significativas nos atributos químicos, físicos e microbiológicos, que comprometem a sua qualidade e resiliência. Esse cenário ressalta a necessidade de adotar práticas de manejo mais sustentáveis, que contribuam para a conservação da biodiversidade, a funcionalidade ecológica e a sustentabilidade a longo prazo dessas áreas. Soluções como a rotação de culturas, o uso de adubação orgânica e a preservação de áreas de vegetação nativa são essenciais para garantir a estabilidade dos agroecossistemas tropicais de montanha.

Verificamos também que a aplicação de cama de aviário e esterco bovino tem efeitos distintos nos solos, sendo que a cama de aviário promove alterações mais pronunciadas nas propriedades do solo e na composição bacteriana. Contudo, é importante ressaltar que a aplicação de resíduos deve ser cuidadosamente monitorada para evitar riscos à saúde humana, animal e ambiental. Nesse contexto, a aplicação de biocarvão como ferramenta para otimizar o processo de compostagem de resíduos orgânicos se mostra promissora por reduzir o tempo necessário para alcançar a fase termofílica.

Este estudo está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, como o ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), o ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis) e o ODS 15 (Vida Terrestre), e visa promover soluções sustentáveis para garantir a sustentabilidade da agricultura familiar em agroecossistemas tropicais de montanha e melhorar a qualidade do solo. Por fim, com o avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing - NGS*) e a utilização de ferramentas bioinformáticas cada vez mais sofisticadas, será possível uma compreensão mais profunda da dinâmica das comunidades microbianas em solos e resíduos animais, proporcionando suporte para o desenvolvimento de políticas públicas que integrem a saúde do solo, a produtividade e a sustentabilidade ambiental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. **Relatório Anual - ABPA**. Disponível em: <https://abpa-br.org/abpa-relatorio-anual/>. Acesso em: 31 mar. 2025.

ADKINS, N. L.; HALL, J. A.; GEORGEL, P. T. The use of Quantitative Agarose Gel Electrophoresis for rapid analysis of the integrity of protein-DNA complexes. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, n. 5, p. 721–726, 1 ago. 2007.

AI, C.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; GUO, D.; ZHOU, W.; HUANG, S. Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation. **Geoderma**, v. 319, 2018.

ALAREFEE, H. A.; ISHAK, C. F.; OTHMAN, R.; KARAM, D. S. Effectiveness of mixing poultry litter compost with rice husk biochar in mitigating ammonia volatilization and carbon dioxide emission. **Journal of Environmental Management**, v. 329, 2023.

AMIR, S.; MERLINA, G.; PINELLI, E.; WINTERTON, P.; REVEL, J. C.; HAFIDI, M. Microbial community dynamics during composting of sewage sludge and straw studied through phospholipid and neutral lipid analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 159, n. 2–3, 2008.

AMORIM, H. C. S.; ASHWORTH, A. J.; ZINN, Y. L.; SAUER, T. J. Soil Organic Carbon and Nutrients Affected by Tree Species and Poultry Litter in a 17-Year Agroforestry Site. **Agronomy**, v. 12, n. 3, 2022.

ANDERSEN, K. S.; KIRKEGAARD, R. H.; KARST, S. M.; ALBERTSEN, M. **ampvis2: An R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data** *bioRxiv*, 2018.

ANDREWS, S. Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. **Soil**, v. 5, n. 1, 2020.

ANTONIO, G. J. Y.; DE ASSIS, R. L.; DE AQUINO, A. M.; RIFAN, A. M.; PINTO, M. C. E. The adoption of green manure processes applied to vegetable cultivation systems in mountainous environments of Rio de Janeiro State, Brazil. **Open Agriculture**, v. 4, n. 1, 2019.

ARIKAN, O. A.; MULBRY, W.; LANSING, S. Effect of temperature on methane production from field-scale anaerobic digesters treating dairy manure. **Waste Management**, v. 43, 2015.

ASHWORTH, A. J.; CHASTAIN, J. P.; MOORE, P. A. Nutrient Characteristics of Poultry Manure and Litter. Em: WALDRIP, H. M.; PAGLIARI, P. H.; HE, Z. (Eds.). **Animal Manure: Production, Characteristics, Environmental Concerns, and Management**. 1. ed. E-book: ASA Special Publications, 2020. v. 67p. 63–87.

ASHWORTH, A. J.; DEBRUYN, J. M.; ALLEN, F. L.; RADOSEVICH, M.; OWENS, P. R. Microbial community structure is affected by cropping sequences and poultry litter under long-term no-tillage. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 114, p. 210–219, 1 nov. 2017.

ATTUM, O.; EASON, P.; COBBS, G.; BAHÀ EL DIN, S. M. Response of a desert lizard community to habitat degradation: Do ideas about habitat specialists/generalists hold? **Biological Conservation**, v. 133, n. 1, 2006.

AVILA, V. S. DE; OLIVEIRA, U. DE; FIGUEIREDO, E. A. P. DE; COSTA, C. A. F.; ABREU, V. M. N.; ROSA, P. S. Avaliação de materiais alternativos em substituição à maravalha como cama de aviário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, 2008.

AWASTHI, M. K.; CHEN, H.; WANG, Q.; LIU, T.; DUAN, Y.; AWASTHI, S. K.; REN, X.; TU, Z.; LI, J.; ZHAO, J.; ZHANG, Z. Succession of bacteria diversity in the poultry manure composted mixed with clay: Studies upon its dynamics and associations with physicochemical and gaseous parameters. **Bioresource Technology**, v. 267, 2018.

AYUB, Y.; MEHMOOD, A.; REN, J.; LEE, C. K. M. Sustainable recycling of poultry litter to value-added products in developing countries of South Asia. **Journal of Cleaner Production**, v. 357, 2022.

AZIM, K.; SOUDI, B.; BOUKHARI, S.; PERISSOL, C.; ROUSSOS, S.; THAMI ALAMI, I. **Composting parameters and compost quality: a literature review** *Organic Agriculture*, 2018.

BALESSENT, J.; CHENU, C.; BALABANE, M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. **Soil and Tillage Research**, v. 53, n. 3–4, 2000.

BALVANERA, P.; PFISTERER, A. B.; BUCHMANN, N.; HE, J. S.; NAKASHIZUKA, T.; RAFFAELLI, D.; SCHMID, B. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. **Ecology Letters**, v. 9, n. 10, 2006.

BANERJEE, S.; WALDER, F.; BÜCHI, L.; MEYER, M.; HELD, A. Y.; GATTINGER, A.; KELLER, T.; CHARLES, R.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. **ISME Journal**, v. 13, n. 7, 2019.

BAO, Y.; FENG, Y.; QIU, C.; ZHANG, J.; WANG, Y.; LIN, X. Organic matter- and temperature-driven deterministic assembly processes govern bacterial community composition and functionality during manure composting. **Waste Management**, v. 131, 2021.

BARBOSA LIMA, A.; CANNANAN, F. S.; NAVARRETE, A. A.; TEIXEIRA, W. G.; KURAMAE, E. E.; TSAI, S. M. Amazonian Dark Earth and Plant Species from the Amazon Region Contribute to Shape Rhizosphere Bacterial Communities. **Microbial Ecology**, v. 69, n. 4, p. 855–866, 1 maio 2015.

BASSO, M. F.; NEVES, M. F.; GROSSI-DE-SA, M. F. Agriculture evolution, sustainability and trends, focusing on Brazilian agribusiness: a review. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 2023.

BASTIAN, M.; HEYMANN, S.; JACOMY, M. **Gephi: An Open Source Software for Exploring and Manipulating Networks**. Proceedings of the 3rd International AAAI Conference on Weblogs and Social Media, ICWSM 2009. **Anais...** 2009

BEDIR DEMIRDAG, T.; OZKAYA-PARLAKAY, A.; BAYRAKDAR, F.; GULHAN, B.; KANIK YUKSEK, S.; SUZUK YILDIZ, S.; MUMCUOGLU, İ.; DINC, B.; YARALI, N. An outbreak of *Ralstonia pickettii* bloodstream infection among pediatric leukemia patients. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 55, n. 1, 2022.

BERNAL, M. P.; ALBURQUERQUE, J. A.; MORAL, R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, 2009.

BERRY, A. M.; BARABOTE, R. D.; NORMAND, P. The Family Acidothermaceae. **The Prokaryotes: Actinobacteria**, p. 13–19, 1 nov. 2014.

BERTHOLOTO, D. M. **Efeito da Compostagem na Comunidade Bacteriana de Cama de Aviário Proveniente de Sistema de Produção Orgânico e Convencional: uma Abordagem em Saúde Única**. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 6 dez. 2022.

BHERING, A. DA S.; DO CARMO, M. G. F.; MATOS, T. DE S.; LIMA, E. S. A.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Soil factors related to the severity of clubroot in Rio De Janeiro, Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 8, 2017.

BI, Q. F.; LI, K. J.; ZHENG, B. X.; LIU, X. P.; LI, H. Z.; JIN, B. J.; DING, K.; YANG, X. R.; LIN, X. Y.; ZHU, Y. G. Partial replacement of inorganic phosphorus (P) by organic manure reshapes phosphate mobilizing bacterial community and promotes P bioavailability in a paddy soil. **Science of the Total Environment**, v. 703, 2020.

BISCARRA-BELLIO, J. C.; DE OLIVEIRA, G. B.; MARQUES, M. C. P.; MOLENTO, C. F. M. Demand changes meat as changing meat reshapes demand: The great meat revolution. **Meat Science**, v. 196, p. 109040, 1 fev. 2023.

BLANCO-CANQUI, H.; HERGERT, G. W.; NIELSEN, R. A. Cattle Manure Application Reduces Soil Compactibility and Increases Water Retention after 71 Years. **Soil Science Society of America Journal**, v. 79, n. 1, 2015.

BOLAN, N. S.; SZOGI, A. A.; CHUASAVATHI, T.; SESHADRI, B.; ROTHROCK, M. J.; PANNEERSELVAM, P. **Uses and management of poultry litterWorld's Poultry Science Journal**, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa SDA Nº 17 de 21 de maio de 2007. **Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos e Condicionadores de Solos**. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), 21 maio 2007.

BRASIL. Lei n° 12.651, de 25 de maio de 2012. **Diário Oficial da União**, 2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA n° 481, de 03 de outubro de 2017. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 2017.

BRASIL. **Balança comercial tem superávit de US\$ 74,5 bilhões em 2024, segundo melhor resultado da série histórica.** Disponível em: <https://www.gov.br/secom/pt-br/assuntos/noticias/2025/janeiro/balanca-comercial-tem-superavit-de-us-74-5-bilhoes-em-2024-segundo-melhor-resultado-da-serie-historica>. Acesso em: 12 jan. 2025.

BÜCHI, L.; VUILLEUMIER, S. Coexistence of specialist and generalist species is shaped by dispersal and environmental factors. **American Naturalist**, v. 183, n. 5, 2014.

CAI, Z. QUAN; ZHANG, Y. HONG; YANG, C.; WANG, S. Land-use type strongly shapes community composition, but not always diversity of soil microbes in tropical China. **Catena**, v. 165, 2018.

CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULIZANI, E. A.; COSTA, M. B. B. DA; MIYASAKA, S.; AMADO, T. J. C. **Aspectos gerais de adubação verde**. 2. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. v. 1

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nat Methods**, v. 13, n. 7, p. 581–583, 2016.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, J.; FIERER, N.; OWENS, S. M.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, M.; GORMLEY, N.; GILBERT, J. A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **ISME Journal**, v. 6, n. 8, 2012.

CARVALHO, D. F. DE; SILVA, L. B. D.; FOLEGATTI, M. V.; COSTA, J. R. C.; CRUZ, F. A. DA. Avaliação da evapotranspiração de referência na região de Seropédica- RJ, utilizando lisímetro de pesagem. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 14, n. 2, p. 1–9, 2006.

CAULFIELD, M. E.; FONTE, S. J.; GROOT, J. C. J.; VANEK, S. J.; SHERWOOD, S.; OYARZUN, P.; BORJA, R. M.; DUMBLE, S.; TITTONELL, P. Agroecosystem patterns and land management co-develop through environment, management, and land-use interactions. **Ecosphere**, v. 11, n. 4, 2020.

CAVALETTI, L.; MONCIARDINI, P.; BAMONTE, R.; SCHUMANN, P.; RONDE, M.; SOSIO, M.; DONADIO, S. New lineage of filamentous, spore-forming, gram-positive bacteria from soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 6, 2006.

CHACON, F.; MARTA, A.; MARÍA, A. **Métodos, metodologías y nuevas epistemologías en las ciencias sociales: desafíos para el conocimiento profundo de Nuestra América**. n. 2408–3976, p. 21, 2016.

CHANGSONG, X.; DALI, L.; PEIJIN, Z. Preliminary approach on the soil microbial ecological effect in the Great Wall Station area, Antarctic. **Biodiversity Science**, v. 03, n. 3, p. 138, 20 ago. 1995.

CHEN, C.; XU, X. J.; XIE, P.; YUAN, Y.; ZHOU, X.; WANG, A. J.; LEE, D. J.; REN, N. Q. Pyrosequencing reveals microbial community dynamics in integrated simultaneous desulfurization and denitrification process at different influent nitrate concentrations. **Chemosphere**, v. 171, 2017.

CHEN, H.; ZHANG, Y.; AWASTHI, S. K.; LIU, T.; ZHANG, Z.; AWASTHI, M. K. Effect of red kaolin on the diversity of functional genes based on Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathways during chicken manure composting. **Bioresource Technology**, v. 311, 2020.

CHEN, S.; ZHOU, Y.; CHEN, Y.; GU, J. **Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor**. *Bioinformatics. Anais...* 2018

CHEN, Z.; JIANG, X. Microbiological Safety of Chicken Litter or Chicken Litter-Based Organic Fertilizers: A Review. *Agriculture (Switzerland)*, 2014.

CHEN, Z.; ZHANG, W.; PENG, A.; SHEN, Y.; JIN, X.; STEDTFELD, R. D.; BOYD, S. A.; TEPPEN, B. J.; TIEDJE, J. M.; GU, C.; ZHU, D.; LUO, Y.; LI, H. Bacterial community assembly and antibiotic resistance genes in soils exposed to antibiotics at environmentally relevant concentrations. *Environmental Microbiology*, 2023.

CHINIVASAGAM, H. N.; REDDING, M.; RUNGE, G.; BLACKALL, P. J. Presence and incidence of food-borne pathogens in Australian chicken litter. *British Poultry Science*, v. 51, n. 3, p. 311–318, 2010.

COLE, J. R.; WANG, Q.; FISH, J. A.; CHAI, B.; MCGARRELL, D. M.; SUN, Y.; BROWN, C. T.; PORRAS-ALFARO, A.; KUSKE, C. R.; TIEDJE, J. M. Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 42, n. D1, 2014.

COMBALBERT, S.; BELLET, V.; DABERT, P.; BERNET, N.; BALAGUER, P.; HERNANDEZ-RAQUET, G. Fate of steroid hormones and endocrine activities in swine manure disposal and treatment facilities. *Water Research*, v. 46, n. 3, 2012.

CORDERO, O. X.; POLZ, M. F. Explaining microbial genomic diversity in light of evolutionary ecology. *Nature Reviews Microbiology*, 2014.

COUTINHO, F. H.; MEIRELLES, P. M.; MOREIRA, A. P. B.; PARANHOS, R. P.; DUTILH, B. E.; THOMPSON, F. L. Niche distribution and influence of environmental parameters in marine microbial communities: A systematic review. *PeerJ*, 2015.

CUI, X.; ZHANG, Y.; GAO, J.; PENG, F.; GAO, P. Long-term combined application of manure and chemical fertilizer sustained higher nutrient status and rhizospheric bacterial diversity in reddish paddy soil of Central South China. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, 2018.

DA CUNHA SILVEIRA, D.; MONACO VIEIRA, F. Caracterização da geração de resíduos da produção de frangos de corte. *Naturae*, v. 2, n. 1, 2020.

DAI PRA, M. A.; CORRÊA, É. K.; ROLL, V. F.; EDUARDO, G. X.; LOPES, D. C. N.; LOURENÇO, F. F.; ZANUSSO, J. T.; ROLL, A. P. Quicklime for controlling *Salmonella* spp. and *Clostridium* spp in litter from floor pens of broilers. *Ciencia Rural*, v. 39, n. 4, 2009.

DANTAS, M. E.; ARMESTO, R. C. G.; SILVA, C. R. DA; SHINZATO, E. Geodiversidade e análise da paisagem: uma abordagem teórico-metodológica. *Terraes Didatica*, v. 11, n. 1, p. 4, 2015.

DE OLIVEIRA, E.; DE AQUINO, A. M.; DE ASSIS, R. L.; CORREIA BAPTISTA SOARES DE MELLO, J. C.; MEZA, L. A. Performance and productive diversity of agriculture in mountain environments. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v. 24, n. 1, 2021.

DE SOUZA, C. DA C. B.; GARCÍA, A. C.; LIMA, E. S. A.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Humic substances formation during poultry litter composting and its influence on the

structural characteristics of the compost. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 25, n. 4, 2023.

DHAKAL, B.; KATTEL, R. R. Effects of global changes on ecosystems services of multiple natural resources in mountain agricultural landscapes. **Science of the Total Environment**, v. 676, 2019.

DHUNGANA, B.; LOHANI, S. P.; MARSOLEK, M. Anaerobic Co-Digestion of Food Waste with Livestock Manure at Ambient Temperature: A Biogas Based Circular Economy and Sustainable Development Goals. **Sustainability (Switzerland)**, v. 14, n. 6, 2022.

DIAS, D. V. DA S. **Geotecnologias para o planejamento da transição agroecológica: estudo de caso na Microbacia Hidrográfica de Barracão dos Mendes, Nova Friburgo, RJ**. Dissertação—Seropédica: UFRRJ, 18 out. 2017.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v. Documentos, 2014.

DIDION, J. P.; MARTIN, M.; COLLINS, F. S. Atropos: Specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. **PeerJ**, v. 2017, n. 8, 2017.

DINCĂ, L. C.; GRENNI, P.; ONET, C.; ONET, A. Fertilization and Soil Microbial Community: A Review. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2022.

DONG, W.; LIU, E.; YAN, C.; TIAN, J.; ZHANG, H.; ZHANG, Y. Impact of no tillage vs. conventional tillage on the soil bacterial community structure in a winter wheat cropping succession in northern China. **European Journal of Soil Biology**, v. 80, 2017.

DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: Managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v. 15, n. 1, 2000.

DOS SANTOS, C. A.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; DA MOTA GONÇALVES, R. G.; COSTA, T. G. A.; DO CARMO, M. G. F. Toxic Metals in Broccoli by Combined Use of Acidity Correctives and Poultry Litter Under Mountain Tropical Conditions. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 3, 2021.

ECKHOLM, E. P. The deterioration of mountain environments. **Science**, v. 189, n. 4205, 1975.

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

EGBOLUCHE, N. P.; YU, H.; WACHIRA, J. Alteration of Soil Bacteriome by Prolonged Exposure to Metal Oxide Nanoparticles. **bioRxiv**, 2022.

EMATER. **Olericultura**. Disponível em: <https://www.rj.gov.br/emater/node/176>. Acesso em: 26 set. 2024.

FAHIMI, A.; BILO, F.; ASSI, A.; DALIPI, R.; FEDERICI, S.; GUEDES, A.; VALENTIM, B.; OLGUN, H.; YE, G.; BIALECKA, B.; FIAMENI, L.; BORGESE, L.; CATHELINEAU, M.; BOIRON, M. C.; PREDEANU, G.; BONTEMPI, E. Poultry litter ash characterisation and recovery. **Waste Management**, v. 111, 2020.

FAO. FAOSTAT. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 14 ago. 2024.

FENG, Y.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; ZHU, Y.; HAN, X.; HAN, X.; XIN, X.; LI, W.; GUO, Z.; DANG, T.; LI, C.; ZHU, B.; CAI, Z.; LI, D.; ZHANG, J. Responses of Soil Bacterial Diversity to Fertilization are Driven by Local Environmental Context Across China. **Engineering**, v. 12, 2022.

FERNANDES, L.; SARTAJ, M. Comparative study of static pile composting using natural, forced and passive aeration methods. **Compost Science and Utilization**, v. 5, n. 4, 1997.

FERREIRA, F. J. P. **Uso do biocarvão na redução de solubilidade de metais pesados durante a compostagem da cama de frango**. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2023.

FERREIRA, P. F. A. **Efeito da Compostagem de Resíduos Animais na Redução da Carga Microbiológica, Parasitária e de Determinantes da Resistência a Antimicrobianos**. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2021.

FERREIRA, P. F. A.; ROCHA, F. I.; HOWE, A.; BARBOSA, D. R.; DA CONCEIÇÃO JESUS, E.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; DA SILVA COELHO, I. Chemical attributes, bacterial community, and antibiotic resistance genes are affected by intensive use of soil in agro-ecosystems of the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 46, n. 4, 2024.

FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology** 2017 **15:10**, v. 15, n. 10, p. 579–590, 21 ago. 2017.

FIERER, N.; BRADFORD, M. A.; JACKSON, R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria. **Ecology**, v. 88, n. 6, 2007.

FIGUEIREDO, C. C. DE; RAMOS, M. L. G.; MCMANUS, C. M.; MENEZES, A. M. DE. Mineralização de esterco de ovinos e sua influência na produção de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 175–179, mar. 2012.

FINORE, I.; FEOLA, A.; RUSSO, L.; CATTANEO, A.; DI DONATO, P.; NICOLAUS, B.; POLI, A.; ROMANO, I. Thermophilic bacteria and their thermozymes in composting processes: a review. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 2023.

FORSSBERG, B. Opportunities: Biogas, the greenest and cleanest renewable fuel. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 9, n. 4, 2010.

FRANCIOLI, D.; SCHULZ, E.; LENTENDU, G.; WUBET, T.; BUSCOT, F.; REITZ, T. Mineral vs. organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. SEP, 2016.

FU, Y.; LI, X.; ZHENG, S.; DU, J.; LIANG, A. Classification and identification of bacteria in the soil treated by AcMNPV using high-throughput sequencing technique. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 20, n. 5, 2015.

GEBREZGABHER, S. A.; MEUWISSEN, M. P. M.; PRINS, B. A. M.; LANSINK, A. G. J. M. O. Economic analysis of anaerobic digestion-A case of Green power biogas plant in the Netherlands. **NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 57, n. 2, 2010.

GENG, J.; LIU, X.; WANG, J.; LI, S. Accumulation and risk assessment of antibiotics in edible plants grown in contaminated farmlands: A review. **Science of the Total Environment**, 2022.

GEVAO, B.; SEMPLE, K. T.; JONES, K. C. Bound pesticide residues in soils: A review. **Environmental Pollution**, 2000.

GILROYED, B.; HAO, X.; LARNEY, F. J.; MCALLISTER, T. A. **Greenhouse gas emissions from cattle feedlot manure composting and anaerobic digestion as a potential mitigation strategy**. ACS Symposium Series. **Anais...**2011

GIROTTI, F.; COSSU, R. Animal Waste: Opportunities and Challenges. Em: LICHTFOUSE, E. (Ed.). **Sustainable Agriculture Reviews**. 1. ed. E-book: Springer, 2017. v. 22.

GIRVAN, M. S.; CAMPBELL, C. D.; KILLHAM, K.; PROSSER, J. I.; GLOVER, L. A. Bacterial diversity promotes community stability and functional resilience after perturbation. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 3, 2005.

GOLDAN, E.; NEDEFF, V.; BARSAN, N.; CULEA, M.; PANAINTE-LEHADUS, M.; MOSNEGUTU, E.; TOMOZEI, C.; CHITIMUS, D.; IRIMIA, O. Assessment of Manure Compost Used as Soil Amendment—A Review. **Processes**, 2023.

GOVAERTS, B.; SAYRE, K. D.; GOODESEUNE, B.; DE CORTE, P.; LICHTER, K.; DENDOOVEN, L.; DECKERS, J. Conservation agriculture as a sustainable option for the central Mexican highlands. **Soil and Tillage Research**, v. 103, n. 2, 2009.

GRENIER, V.; GONZALEZ, E.; BRERETON, N. J. B.; PITRE, F. E. Dynamics of bacterial and archaeal communities during horse bedding and green waste composting. **PeerJ**, v. 11, 2023.

GUIMARÃES, L. D. D.; LIMA, E. S. A.; DE SOUZA, C. DA C. B.; PINHEIRO, H. S. K.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Spatial distribution and factors influencing the accumulation of toxic metals in soils in mountain agroecosystems, Rio De Janeiro, Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 46, n. 10, p. 1–17, 1 out. 2024.

GUO, Z.; LIU, H.; WAN, S.; HUA, K.; WANG, D.; GUO, X.; HE, C. L. Fertilisation practice changes rhizosphere microbial community structure in the agroecosystem. **Annals of Applied Biology**, v. 174, n. 2, p. 123–132, 1 mar. 2019.

GUPTA, A.; SINGH, U. B.; SAHU, P. K.; PAUL, S.; KUMAR, A.; MALVIYA, D.; SINGH, S.; KUPPUSAMY, P.; SINGH, P.; PAUL, D.; RAI, J. P.; SINGH, H. V.; MANNA, M. C.; CRUSBERG, T. C.; KUMAR, A.; SAXENA, A. K. Linking Soil Microbial Diversity to Modern Agriculture Practices: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2022.

GURMESSA, B.; ASHWORTH, A. J.; YANG, Y.; SAVIN, M.; MOORE, P. A.; RICKE, S. C.; CORTI, G.; PEDRETTI, E. F.; COCCO, S. Variations in bacterial community structure and

antimicrobial resistance gene abundance in cattle manure and poultry litter. **Environmental Research**, v. 197, p. 111011, 1 jun. 2021.

HAGEDORN, B. Acid Extraction of Sediments , Sludges , and Soils. **Digestion**, n. May, 2008.

HERMANS, S. M.; BUCKLEY, H. L.; CASE, B. S.; CURRAN-COURNANE, F.; TAYLOR, M.; LEAR, G. Bacteria as emerging indicators of soil condition. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 1, 2017.

HERMANS, S. M.; BUCKLEY, H. L.; CASE, B. S.; CURRAN-COURNANE, F.; TAYLOR, M.; LEAR, G. Using soil bacterial communities to predict physico-chemical variables and soil quality. **Microbiome**, v. 8, n. 1, 2020.

HILAIRE, S. S.; CHEN, C.; PAN, Z.; RADOLINSKI, J.; STEWART, R. D.; MAGUIRE, R. O.; XIA, K. Subsurface Manure Injection Reduces Surface Transport of Antibiotic Resistance Genes but May Create Antibiotic Resistance Hotspots in Soils. **Environmental Science and Technology**, v. 56, n. 21, 2022.

HOYOS-SEBÁ, J. J.; ARIAS, N. P.; SALCEDO-MENDOZA, J.; ARISTIZÁBAL-MARULANDA, V. Animal manure in the context of renewable energy and value-added products: A review. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 196, 2024.

HUG, L. A.; BAKER, B. J.; ANANTHARAMAN, K.; BROWN, C. T.; PROBST, A. J.; CASTELLE, C. J.; BUTTERFIELD, C. N.; HERNSDORF, A. W.; AMANO, Y.; ISE, K.; SUZUKI, Y.; DUDEK, N.; RELMAN, D. A.; FINSTAD, K. M.; AMUNDSON, R.; THOMAS, B. C.; BANFIELD, J. F. A new view of the tree of life. **Nature Microbiology**, v. 1, n. 5, 2016.

HUGENHOLTZ, P. Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. **Genome Biology**, 2002.

IBGE. PPM - Produção da Pecuária Municipal 2021. **IBGE 2022 - Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Estatísticas Agropecuárias, Pesquisa da Pecuária Municipal**, v. 49, n. 01014234, 2022.

JANSSON, J. K.; HOFMOCKEL, K. S. The soil microbiome — from metagenomics to metagenomics. **Current Opinion in Microbiology**, v. 43, p. 162–168, 1 jun. 2018.

JAT, H. S.; CHOUDHARY, M.; DATTA, A.; YADAV, A. K.; MEENA, M. D.; DEVI, R.; GATHALA, M. K.; JAT, M. L.; MCDONALD, A.; SHARMA, P. C. Temporal changes in soil microbial properties and nutrient dynamics under climate smart agriculture practices. **Soil and Tillage Research**, v. 199, p. 104595, 1 maio 2020.

JEANNE, T.; PARENT, S. É.; HOGUE, R. Using a soil bacterial species balance index to estimate potato crop productivity. **PLoS ONE**, v. 14, n. 3, 2019.

JIANG, X.; CHEN, Z.; DHARMASENA, M. The role of animal manure in the contamination of fresh food. Em: **Advances in Microbial Food Safety**. E-book: Woodhead Publishing, 2015. v. 2p. 312–350.

JIAO, P.; YANG, L.; LI, Z.; LIU, C.; ZHENG, P.; TONG, D.; CHANG, X.; TANG, C.; XIAO, H. Responses of microbial community composition and respiration to soil moisture in eroded soil. **Applied Soil Ecology**, v. 181, 2023.

KALAM, A.; TAH, J.; MUKHERJEE, A. K. Pesticide effects on microbial population and soil enzyme activities during vermicomposting of agricultural waste. **Journal of Environmental Biology**, v. 25, n. 2, 2004.

KANANI, F.; HEIDARI, M. D.; GILROYED, B. H.; PELLETIER, N. Waste valorization technology options for the egg and broiler industries: A review and recommendations. **Journal of Cleaner Production**, 2020.

KARIMI, B.; DEQUIEDT, S.; TERRAT, S.; JOLIVET, C.; ARROUAYS, D.; WINCKER, P.; CRUAUD, C.; BISPO, A.; CHEMIDLIN PRÉVOST-BOURÉ, N.; RANJARD, L. Biogeography of Soil Bacterial Networks along a Gradient of Cropping Intensity. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

KASSAMBARA, A. ggpubr: “ggplot2” based publication ready plots. R package version 0.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>, 2020.

KENNEDY, A. C.; STUBBS, T. L. Soil microbial communities as indicators of soil health. **Annals of Arid Zone**, 2006.

KIM, H. M.; JUNG, J. Y.; YERGEAU, E.; HWANG, C. Y.; HINZMAN, L.; NAM, S.; HONG, S. G.; KIM, O. S.; CHUN, J.; LEE, Y. K. Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 89, n. 2, 2014.

KNEITEL, J. M. Occupancy and environmental responses of habitat specialists and generalists depend on dispersal traits. **Ecosphere**, v. 9, n. 3, 2018.

KOOHAFKAN, P.; ALTIERI, M. A. **Globally important agricultural heritage systems: a legacy for the future**. 1 . ed. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011

KROEGER, M. E.; DELMONT, T. O.; EREN, A. M.; MEYER, K. M.; GUO, J.; KHAN, K.; RODRIGUES, J. L. M.; BOHANNAN, B. J. M.; TRINGE, S. G.; BORGES, C. D.; TIEDJE, J. M.; TSAI, S. M.; NÜSSLEIN, K. New biological insights into how deforestation in amazonia affects soil microbial communities using metagenomics and metagenome-assembled genomes. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUL, 2018.

LAHTI, L.; SHETTY, S. **Introduction to the microbiome R packageBioconductor**, 2018.

LALOUCKOVA, K.; SKRIVANOVA, E. Antibiotic Resistance in Livestock Breeding: A Review. **Scientia Agriculturae Bohemica**, 2019.

LANGENHEDER, S.; SZÉKELY, A. J. Species sorting and neutral processes are both important during the initial assembly of bacterial communities. **ISME Journal**, v. 5, n. 7, 2011.

LAUBER, C. L.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; FIERER, N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 15, p. 5111–5120, 2009.

LAVELLE, P. Ecological challenges for soil science. **Soil Science**, v. 165, n. 1, 2000.

LEAL, M. A. DE A. **Método de avaliação da estabilidade de materiais orgânicos por meio de emissões potenciais de CO₂ e de NH₃**. 1. ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2020.

LEAL, M. A. DE A.; GUERRA, J. G. M.; PEIXOTO, R. T. DOS G.; SANTOS, S. DA S. **Processo de compostagem a partir da mistura entre capim elefante e crotalária**. 1. ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2011. v. 1

LEHMANN, J.; JOSEPH, S. Biochar for environmental management: An introduction. Em: LEHMANN, J.; JOSEPH, S. (Eds.). **Biochar for Environmental Management: Science and Technology**. 2. ed. New York: Routledge, 2012.

LEPESTEUR, M. Human and livestock pathogens and their control during composting. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 2022.

LI, J.; CHEN, Q.; LI, H.; LI, S.; LIU, Y.; YANG, L.; HAN, X. Impacts of different sources of animal manures on dissemination of human pathogenic bacteria in agricultural soils. **Environmental Pollution**, v. 266, 2020a.

LI, L.; XU, M.; ALI, M. E.; ZHANG, W.; DUAN, Y.; LI, D. Factors affecting soil microbial biomass and functional diversity with the application of organic amendments in three contrasting cropland soils during a field experiment. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, 2018.

LI, M. X.; HE, X. S.; TANG, J.; LI, X.; ZHAO, R.; TAO, Y. Q.; WANG, C.; QIU, Z. P. Influence of moisture content on chicken manure stabilization during microbial agent-enhanced composting. **Chemosphere**, v. 264, 2021.

LI, Q.; WANG, X. C.; ZHANG, H. H.; SHI, H. L.; HU, T.; NGO, H. H. Characteristics of nitrogen transformation and microbial community in an aerobic composting reactor under two typical temperatures. **Bioresource Technology**, v. 137, 2013.

LI, Z.; ZHANG, X.; XU, J.; CAO, K.; WANG, J.; XU, C.; CAO, W. Green manure incorporation with reductions in chemical fertilizer inputs improves rice yield and soil organic matter accumulation. **Journal of Soils and Sediments**, v. 20, n. 7, p. 2784–2793, 1 jul. 2020b.

LIDDICOAT, C.; WEINSTEIN, P.; BISSETT, A.; GELLIE, N. J. C.; MILLS, J. G.; WAYCOTT, M.; BREED, M. F. Can bacterial indicators of a grassy woodland restoration inform ecosystem assessment and microbiota-mediated human health? **Environment International**, v. 129, 2019.

LIENHARD, P.; TERRAT, S.; PRÉVOST-BOURÉ, N. C.; NOWAK, V.; RÉGNIER, T.; SAYPHOUMMIE, S.; PANYASIRI, K.; TIVET, F.; MATHIEU, O.; LEVÈQUE, J.; MARON, P. A.; RANJARD, L. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 2, p. 525–533, 2014.

LIM, S. L.; LEE, L. H.; WU, T. Y. Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: Recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. **Journal of Cleaner Production**, 2016.

LIN, Y. TE; WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C.; SHI, S. Y.; TANG, S. L.; CHIU, C. Y. Changes of soil bacterial communities in bamboo plantations at different elevations. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 5, 2015.

LIN, Y.; YE, G.; KUZYAKOV, Y.; LIU, D.; FAN, J.; DING, W. Long-term manure application increases soil organic matter and aggregation, and alters microbial community structure and keystone taxa. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 134, p. 187–196, 1 jul. 2019.

LIU, P.; JIA, S.; HE, X.; ZHANG, X.; YE, L. Different impacts of manure and chemical fertilizers on bacterial community structure and antibiotic resistance genes in arable soils. **Chemosphere**, v. 188, 2017.

LIU, Q.; ZHAO, Y.; LI, T.; CHEN, L.; CHEN, Y.; SUI, P. Changes in soil microbial biomass, diversity, and activity with crop rotation in cropping systems: A global synthesis. **Applied Soil Ecology**, 2023.

LIU, W. R.; ZENG, D.; SHE, L.; SU, W. X.; HE, D. C.; WU, G. Y.; MA, X. R.; JIANG, S.; JIANG, C. H.; YING, G. G. Comparisons of pollution characteristics, emission situations, and mass loads for heavy metals in the manures of different livestock and poultry in China. **Science of the Total Environment**, 2020.

LIU, X.; LU, X.; ZHAO, W.; YANG, S.; WANG, J.; XIA, H.; WEI, X.; ZHANG, J.; CHEN, L.; CHEN, Q. The rhizosphere effect of native legume *Albizzia julibrissin* on coastal saline soil nutrient availability, microbial modulation, and aggregate formation. **Science of the Total Environment**, v. 806, 2022.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, J. A.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; LÓPEZ, M. J.; JURADO, M. M.; MORENO, J. Dynamics of bacterial microbiota during lignocellulosic waste composting: Studies upon its structure, functionality and biodiversity. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 406–416, 1 jan. 2015.

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

LUO, D.; MENG, X.; ZHENG, N.; LI, Y.; YAO, H.; CHAPMAN, S. J. The anaerobic oxidation of methane in paddy soil by ferric iron and nitrate, and the microbial communities involved. **Science of The Total Environment**, v. 788, p. 147773, 20 set. 2021.

LUPATINI, M.; SULEIMAN, A. K. A.; JACQUES, R. J. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; DE SIQUEIRA FERREIRA, A.; KURAMAE, E. E.; ROESCH, L. F. W. Network topology reveals high connectance levels and few key microbial genera within soils. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, n. 10, 2014.

MA, Y.; SHEN, S.; WAN, C.; WANG, S.; YANG, F.; ZHANG, K.; GAO, W. Organic fertilizer substitution over six years improves the productivity of garlic, bacterial diversity, and microbial communities network complexity. **Applied Soil Ecology**, v. 182, 2023.

MAGOĆ, T.; SALZBERG, S. L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, 2011.

MARCHI, C. M. D. F.; GONÇALVES, I. DE O. Compostagem: a importância da reutilização dos resíduos orgânicos para a sustentabilidade de uma instituição de ensino superior. **Revista Monografias Ambientais**, v. 19, n. 1, p. 1–25, 2020.

MARTINEZ ARBIZU, P. **pairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonisR package version 0.4**, 2020.

MARTINS, G. **Compostagem de resíduos agropecuários: seguridade ambiental, ciclagem de nutrientes e eficácia agronômica**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2021.

MASUD, M. M.; BAQUY, M. A. AL; AKHTER, S.; SEN, R.; BARMAN, A.; KHATUN, M. R. Liming effects of poultry litter derived biochar on soil acidity amelioration and maize growth. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 202, 2020.

MCMAHON, S.; ANDERSON, R. P.; SAUPE, E. E.; BRIGGS, D. E. G. Experimental evidence that clay inhibits bacterial decomposers: Implications for preservation of organic fossils. **Geology**, v. 44, n. 10, 2016.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 22 abr. 2013.

MĘCIK, M.; BUTA-HUBENY, M.; PAUKSZTO, L.; MAŽDZIARZ, M.; WOLAK, I.; HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E. Poultry manure-derived microorganisms as a reservoir and source of antibiotic resistance genes transferred to soil autochthonous microorganisms. **Journal of Environmental Management**, v. 348, 2023.

MEIJENFELDT, F. A. B. VON; HOGEWEG, P.; DUTILH, B. E. On specialists and generalists: niche range strategies across the tree of life. **bioRxiv**, 2022.

MENDIBURU, F. DE. Package “agricolae” Title Statistical Procedures for Agricultural Research. **Statistical procedures for agricultural research**, 2020.

MICHEL, F. C.; FORNEY, L. J.; HUANG, A. J. F.; REDDY, C. A.; DREW, S.; LINDEBERG, J. D.; CZUPRENSKI, M. Effects of turning frequency, leaves to grass mix ratio and windrow vs. Pile configuration on the composting of yard trimmings. **Compost Science and Utilization**, v. 4, n. 1, p. 26–43, 1 jan. 1996.

MIKRYUKOV, V. **metagMisc: Miscellaneous functions for metagenomic analysis**, 2019.

MOORE, P. A.; MILES, D.; BURNS, R.; POTE, D.; BERG, K.; CHOI, I. H. Ammonia Emission Factors from Broiler Litter in Barns, in Storage, and after Land Application. **Journal of Environmental Quality**, v. 40, n. 5, 2011.

MUHAMMAD, B.; DIARRA, M. S.; ISLAM, M. R.; LEPP, D.; MASTIN-WOOD, R. E.; TOPP, E.; BITTMAN, S.; ZHAO, X. Effects of litter from antimicrobial-fed broiler chickens on soil bacterial community structure and diversity. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 68, n. 10, 2022.

MUNISAMY, P.; RAVICHANDRAN, M.; NATARAJAN, S. D.; VARADHAARAJU, C. Biological aspects of anaerobic digestion and its kinetics: An overview. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 6, n. 4, 2017.

NAVARRETE, A. A.; SOARES, T.; ROSSETTO, R.; VAN VEEN, J. A.; TSAI, S. M.; KURAMAE, E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 108, n. 3, 2015.

NENNICH, T. D.; HARRISON, J. H.; VANWIERINGEN, L. M.; MEYER, D.; HEINRICHS, A. J.; WEISS, W. P.; ST-PIERRE, N. R.; KINCAID, R. L.; DAVIDSON, D. L.; BLOCK, E. Prediction of manure and nutrient excretion from dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, 2005.

NETTO, A. L.; DE ASSIS, R. L.; DE AQUINO, A. M. Análise de políticas públicas do plano de manejo do Parque Estadual dos Três Picos: estudo de caso em sua zona de amortecimento em Campo do Coelho, Nova Friburgo (RJ). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 11, p. 216–225, 2016.

NURMI, T.; PARVINEN, K. On the evolution of specialization with a mechanistic underpinning in structured metapopulations. **Theoretical Population Biology**, v. 73, n. 2, 2008.

OKADA, E.; YOUNG, B. J.; PÉREZ, D. J.; PELLEGRINI, M. C.; CARCIOCHI, W. D.; LAVALLÉN, C. M.; PONCE, A. G.; DOPCHIZ, M. C.; HERNÁNDEZ GUIJARRO, K.; FRANCO, M. DEL R.; DI MARTINO, A. M.; RIZZO, P. F. Effect of on-farm poultry litter composting processes on physicochemical, biological, and toxicological parameters and reduction of antibiotics and antibiotic-resistant *Escherichia coli*. **Waste Management**, v. 174, 2024.

OKSANEN, J.; LEGENDRE, P.; O'HARA, B.; STEVENS, M. H. H.; OKSANEN, M. J.; SUGGESTS, M. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-7. **Community ecology package**, v. 10, n. 10, 2020.

OLIVER, M. A.; GREGORY, P. J. Soil, food security and human health: A review. **European Journal of Soil Science**, v. 66, n. 2, 2015.

ONEȚ, A.; TEUȘDEA, A.; BOJA, N.; DOMUȚA, C.; ONEȚ, C. Effects of common oak (*Quercus robur* L.) defoliation on the soil properties of an oak forest in Western plain of Romania. **Annals of Forest Research**, v. 59, n. 1, 2016.

ONWOSI, C. O.; IGBOKWE, V. C.; ODIMBA, J. N.; EKE, I. E.; NWANKWOALA, M. O.; IROH, I. N.; EZEOGU, L. I. **Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects**. **Journal of Environmental Management**, 2017.

OZLU, E.; KUMAR, S. Response of Soil Organic Carbon, pH, Electrical Conductivity, and Water Stable Aggregates to Long-Term Annual Manure and Inorganic Fertilizer. **Soil Science Society of America Journal**, v. 82, n. 5, 2018.

OZLU, E.; KUMAR, S.; ARRIAGA, F. J. Responses of Long-Term Cattle Manure on Soil Physical and Hydraulic Properties under a Corn–Soybean Rotation at Two Locations in Eastern South Dakota. **Soil Science Society of America Journal**, v. 83, n. 5, 2019.

PAJURA, R. Composting municipal solid waste and animal manure in response to the current fertilizer crisis - a recent review. **Science of the Total Environment**, 2024.

PAN, Y.; CASSMAN, N.; DE HOLLANDER, M.; MENDES, L. W.; KOREVAAR, H.; GEERTS, R. H. E. M.; VAN VEEN, J. A.; KURAMAE, E. E. Impact of long-term N, P, K, and NPK fertilization on the composition and potential functions of the bacterial community in grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 90, n. 1, 2014.

PARANHOS, A. G. DE O. **Efeitos da tilosina na digestão anaeróbia do resíduo avícola : produção de biogás, resistência a antibióticos e comunidade microbiana**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2021.

PARENTE, C. E. T.; BRITO, E. M. S.; CARETTA, C. A.; CERVANTES-RODRÍGUEZ, E. A.; FÁBILA-CANTO, A. P.; VOLLÚ, R. E.; SELDIN, L.; MALM, O. Bacterial diversity changes in agricultural soils influenced by poultry litter fertilization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 675–686, 1 jun. 2021.

PARKS, D. H.; CHUVOCHINA, M.; RINKE, C.; MUSSIG, A. J.; CHAUMEIL, P. A.; HUGENHOLTZ, P. GTDB: An ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. **Nucleic Acids Research**, v. 50, n. D1, 2022.

PARVINEN, K.; EGAS, M. Dispersal and the evolution of specialisation in a two-habitat type metapopulation. **Theoretical Population Biology**, v. 66, n. 3, 2004.

PESCHEL, S.; MÜLLER, C. L.; VON MUTIUS, E.; BOULESTEIX, A. L.; DEPNER, M. NetCoMi: Network construction and comparison for microbiome data in R. **Briefings in Bioinformatics**, 2021.

PHILIPPOT, L.; SPOR, A.; HÉNAULT, C.; BRU, D.; BIZOUARD, F.; JONES, C. M.; SARR, A.; MARON, P. A. Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. **ISME Journal**, v. 7, n. 8, 2013.

PIN VISO, N. D.; RIZZO, P. F.; YOUNG, B. J.; GABIOUD, E.; BRES, P.; RIERA, N. I.; MERINO, L.; FARBER, M. D.; CRESPO, D. C. The Use of Raw Poultry Waste as Soil Amendment Under Field Conditions Caused a Loss of Bacterial Genetic Diversity Together with an Increment of Eutrophic Risk and Phytotoxic Effects. **Microbial Ecology**, v. 86, n. 2, 2023.

POVEDA, K.; MARTÍNEZ, E.; KERSCH-BECKER, M. F.; BONILLA, M. A.; TSCHARNTKE, T. Landscape simplification and altitude affect biodiversity, herbivory and Andean potato yield. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, n. 2, 2012.

QIAN, F.; HUANG, X.; SU, X.; BAO, Y. Responses of microbial communities and metabolic profiles to the rhizosphere of *Tamarix ramosissima* in soils contaminated by multiple heavy metals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 438, 2022.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, 2013.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021.

RAGAGNIN, V. A.; SENA JÚNIOR, D. G. DE; DIAS, D. S.; BRAGA, W. F.; NOGUEIRA, P. D. M. Growth and nodulation of soybean plants fertilized with poultry litter. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, n. 1, 2013.

RAMIMOGHADAM, D.; BAGHERI, S.; HAMID, S. B. A. Progress in electrochemical synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 2014.

RAWAT, S. R.; MÄNNISTÖ, M. K.; STAROVOYTOV, V.; GOODWIN, L.; NOLAN, M.; HAUSER, L.; LAND, M.; DAVENPORT, K. W.; WOYKE, T.; HÄGGBLOM, M. M. Complete genome sequence of *Granulicella tundricola* type strain MP5ACTX9T, an Acidobacteria from tundra soil. **Standards in Genomic Sciences**, v. 9, n. 3, 2013.

REVELLE, W. **Package “psych” - Procedures for Psychological, Psychometric and Personality ResearchR Package**. Evanston, Illinois, 2023. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=psych>. Acesso em: 17 jun. 2024

RIBEIRO, D. O.; CARBALLAL, M. R.; SILVA, A. J. DA; LEAL, A. J. F.; CAETANO, J. O.; RODRIGUES, A. A.; VITAL, R. G.; PRADO, R. L. F.; SILVA, H. D. DA; MARTINS FILHO, M. B. Organic fertilization in soy farming in a tropical region. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 11, n. 7, p. 18–22, 2017.

RIBEIRO MAURI, L. V.; MENDONÇA, E. D. S.; BOLZAN, L. J.; ANGELETTI, M. D. P. Olericulture No-Till System at Mountain Region: Physical and Biological Attributes of the Soil. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2024, 2024.

RIEKE, E. L.; SOUPIR, M. L.; MOORMAN, T. B.; YANG, F.; HOWE, A. C. Temporal Dynamics of Bacterial Communities in Soil and Leachate Water After Swine Manure Application. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

RILEY, C. B.; ALDRICH, E. D.; PEMBERTON, S. L.; MIRZA, A. A. First report of pulmonary disease associated with *Nicoletella semolina* in a horse in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 69, n. 1, 2021.

RINKE, C.; SCHWIENTEK, P.; SCZYRBA, A.; IVANOVA, N. N.; ANDERSON, I. J.; CHENG, J. F.; DARLING, A.; MALFATTI, S.; SWAN, B. K.; GIES, E. A.; DODSWORTH, J. A.; HEDLUND, B. P.; TSIAMIS, G.; SIEVERT, S. M.; LIU, W. T.; EISEN, J. A.; HALLAM, S. J.; KYRPIDES, N. C.; STEPANAUSKAS, R.; RUBIN, E. M.; HUGENHOLTZ, P.; WOYKE, T. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. **Nature**, v. 499, n. 7459, 2013.

RODRIGUES BARBOSA, D.; DA ROCHA FORTES SARAIVA, A. L.; FERREIRA SANTAREN, K. C.; DA COSTA BARROS DE SOUZA, C.; SOUTO ABREU LIMA, E.; DA SILVA COELHO, I.; MOURA BRASIL DO AMARAL SOBRINHO, N. Influence of nutrient, toxic metal and herbicide contents on the soil bacterial communities in tropical vegetable growing areas. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 59, n. 3, 2024.

SANCHEZ-MONEDERO, M. A.; CAYUELA, M. L.; ROIG, A.; JINDO, K.; MONDINI, C.; BOLAN, N. **Role of biochar as an additive in organic waste composting**. *Bioresouce Technology*, 2018.

SANT'ANNA, G. S. L.; DE CARVALHO, L. A. L.; DA SILVA, M. S. R. DE A.; GONÇALVES, J. V. DA S.; PINHEIRO, D. G.; ZONTA, E.; COELHO, I. DA S. Short-Term Effects of Poultry Litter and Cattle Manure on Soil's Chemical Properties and Bacterial Community. **Agronomy**, v. 14, n. 7, p. 1382, 27 jun. 2024.

SANTOLINI, M.; BARABÁSI, A. L. Predicting perturbation patterns from the topology of biological networks. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 27, 2018.

SANTOS, H. G. DOS; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. DOS; OLIVEIRA, V. Á. DE; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. DE; ARAÚJO FILHO, J. C. DE; OLIVEIRA, J. B. DE; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. Brasília-DF: Embrapa, 2018.

SEmenov, A. V.; VAN OVERBEEK, L.; TERMORSHUIZEN, A. J.; VAN BRUGGEN, A. H. C. Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* in Luria-Bertani broth, farm-yard manure and slurry. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, 2011.

SEmenov, M. V.; KRASNOV, G. S.; SEMENOV, V. M.; KSENOFONTOVA, N.; ZINYAKOVA, N. B.; VAN BRUGGEN, A. H. C. Does fresh farmyard manure introduce surviving microbes into soil or activate soil-borne microbiota? **Journal of Environmental Management**, v. 294, 2021.

SHADE, A. Diversity is the question, not the answer. **ISME Journal**, 2017.

SHI, L.; ZHANG, P.; HE, Y.; ZENG, F.; XU, J.; HE, L. Enantioselective effects of cyflumetofen on microbial community and related nitrogen cycle gene function in acid-soil. **Science of The Total Environment**, v. 771, p. 144831, 1 jun. 2021.

SILVA, A. M. M.; ESTRADA-BONILLA, G. A.; LOPES, C. M.; MATTEOLI, F. P.; COTTA, S. R.; FEILER, H. P.; RODRIGUES, Y. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Does Organomineral Fertilizer Combined with Phosphate-Solubilizing Bacteria in Sugarcane Modulate Soil Microbial Community and Functions? **Microbial Ecology** 2021 **84:2**, v. 84, n. 2, p. 539–555, 9 set. 2021.

SINGH, T. B.; ALI, A.; PRASAD, M.; YADAV, A.; SHRIVASTAV, P.; GOYAL, D.; DANTU, P. K. Role of organic fertilizers in improving soil fertility. Em: **Contaminants in Agriculture: Sources, Impacts and Management**. E-book: Springer, Cham, 2020. v. 1p. 61–77.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 11th. ed. Washington, DC: USDA-National Resources Conservation Service, 2014. v. 12

SONG, C.; LI, M.; JIA, X.; WEI, Z.; ZHAO, Y.; XI, B.; ZHU, C.; LIU, D. Comparison of bacterial community structure and dynamics during the thermophilic composting of different types of solid wastes: Anaerobic digestion residue, pig manure and chicken manure. **Microbial Biotechnology**, v. 7, n. 5, 2014.

SOUZA, C. DA C. B. DE. Alterações químicas, estruturais e na capacidade de adsorção de metais pesados da cama de frango durante a compostagem. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 13 set. 2021.

SUI, Q.; ZHANG, J.; CHEN, M.; WANG, R.; WANG, Y.; WEI, Y. Fate of microbial pollutants and evolution of antibiotic resistance in three types of soil amended with swine slurry. **Environmental Pollution**, v. 245, p. 353–362, 1 fev. 2019.

TACKMANN, J.; MATIAS RODRIGUES, J. F.; VON MERING, C. Rapid Inference of Direct Interactions in Large-Scale Ecological Networks from Heterogeneous Microbial Sequencing Data. **Cell Systems**, v. 9, n. 3, 2019.

TANG, X.; LOU, C.; WANG, S.; LU, Y.; LIU, M.; HASHMI, M. Z.; LIANG, X.; LI, Z.; LIAO, Y.; QIN, W.; FAN, F.; XU, J.; BROOKES, P. C. Effects of long-term manure applications on the occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in paddy soils: Evidence from four field experiments in south of China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 90, 2015.

TANG, X.; ZHONG, R.; JIANG, J.; HE, L.; HUANG, Z.; SHI, G.; WU, H.; LIU, J.; XIONG, F.; HAN, Z.; TANG, R.; HE, L. Cassava/peanut intercropping improves soil quality via rhizospheric microbes increased available nitrogen contents. **BMC Biotechnology**, v. 20, n. 1, 2020.

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. **Análise de solos, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. v. 1

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017. v. 3

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y. Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 1–2, 1998.

TOMAZELLI, D.; KLAUBERG-FILHO, O.; MENDES, L. W.; GOSS-SOUZA, D. The impact of land-use changes and management intensification on bacterial communities in the last decade: a review. **Applied and Environmental Microbiology**, 14 jun. 2024.

TOMAZELLO, D. A.; DA FONSECA MELO, E. M.; SANTOS, A. J. M.; BACKES, C.; TEODORO, A. G.; BEZERRA FERNANDES, P.; RODRIGUES, L. M.; DA SILVA BELIZÁRIO, D.; RIBON, A. A. Agronomic performance and soil chemical composition when using poultry litter as organic fertilizer in Mombasa Guinea grass production. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 2023.

USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. **United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service**, 2024.

USEPA. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Method 3051a. In Test methods for evaluating solid waste. **US Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste, Economic, Methods, and Risk Analysis Division, Washington, DC, USA**, 2007.

VAILLEAU, F.; GENIN, S. *Ralstonia solanacearum: An Arsenal of Virulence Strategies and Prospects for Resistance* *Annual Review of Phytopathology*, 2023.

VANDECARTE, B.; SINICCO, T.; D'HOSE, T.; VANDEN NEST, T.; MONDINI, C. Biochar amendment before or after composting affects compost quality and N losses, but not P plant uptake. *Journal of Environmental Management*, v. 168, 2016.

VERBAENDERT, I. **Denitrification in Gram-positive bacteria, with focus on members of the Bacillaceae**. Ghent: Ghent University, 23 out. 2014.

VISSCHER, A. M.; MELI, P.; FONTE, S. J.; BONARI, G.; ZERBE, S.; WELLSTEIN, C. Agroforestry enhances biological activity, diversity and soil-based ecosystem functions in mountain agroecosystems of Latin America: A meta-analysis. *Global Change Biology*, v. 30, n. 1, 2024.

VON MEIJENFELDT, F. A. B.; HOGEWEG, P.; DUTILH, B. E. A social niche breadth score reveals niche range strategies of generalists and specialists. *Nature Ecology and Evolution*, v. 7, n. 5, 2023.

WAGG, C.; BENDER, S. F.; WIDMER, F.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 111, n. 14, 2014.

WANG, C.; JIA, Y.; LI, J.; WANG, Y.; NIU, H.; QIU, H.; LI, X.; FANG, W.; QIU, Z. Effect of bioaugmentation on tetracyclines influenced chicken manure composting and antibiotics resistance. *Science of the Total Environment*, v. 867, 2023.

WANG, H.; DONG, Y.; YANG, Y.; TOOR, G. S.; ZHANG, X. Changes in heavy metal contents in animal feeds and manures in an intensive animal production region of China. *Journal of Environmental Sciences (China)*, v. 25, n. 12, 2013.

WANG, H.; HE, X.; ZHANG, Z.; LI, M.; ZHANG, Q.; ZHU, H.; XU, S.; YANG, P. Eight years of manure fertilization favor copiotrophic traits in paddy soil microbiomes. *European Journal of Soil Biology*, v. 106, 2021a.

WANG, M.; LAN, X.; XU, X.; FANG, Y.; SINGH, B. P.; SARDANS, J.; ROMERO, E.; PEÑUELAS, J.; WANG, W. Steel slag and biochar amendments decreased CO₂ emissions by altering soil chemical properties and bacterial community structure over two-year in a subtropical paddy field. *Science of The Total Environment*, v. 740, p. 140403, 20 out. 2020a.

WANG, Q.; CHU, C.; ZHAO, Z.; WU, S.; ZHOU, D. Pre-flooding soil used in monocropping increased strawberry biomass and altered bacterial community composition. *Soil Science and Plant Nutrition*, v. 67, n. 6, p. 643–652, 2021b.

WANG, X.; CUI, H.; SHI, J.; ZHAO, X.; ZHAO, Y.; WEI, Z. Relationship between bacterial diversity and environmental parameters during composting of different raw materials. *Bioresource Technology*, v. 198, 2015.

WANG, Y.; GONG, J.; LI, J.; XIN, Y.; HAO, Z.; CHEN, C.; LI, H.; WANG, B.; DING, M.; LI, W.; ZHANG, Z.; XU, P.; XU, T.; DING, G. C.; LI, J. Insights into bacterial diversity in

compost: Core microbiome and prevalence of potential pathogenic bacteria. **Science of the Total Environment**, v. 718, 2020b.

WANG, Z.; ZHANG, Q.; STALEY, C.; GAO, H.; ISHII, S.; WEI, X.; LIU, J.; CHENG, J.; HAO, M.; SADOWSKY, M. J. Impact of long-term grazing exclusion on soil microbial community composition and nutrient availability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 55, n. 2, 2019.

WAQAS, M.; NIZAMI, A. S.; ABURIAZAIZA, A. S.; BARAKAT, M. A.; ISMAIL, I. M. I.; RASHID, M. I. Optimization of food waste compost with the use of biochar. **Journal of Environmental Management**, v. 216, 2018.

WEI, H.; WANG, L.; HASSAN, M.; XIE, B. Succession of the functional microbial communities and the metabolic functions in maize straw composting process. **Bioresouce Technology**, v. 256, 2018.

WILKINSON, K. G.; TEE, E.; TOMKINS, R. B.; HEPWORTH, G.; PREMIER, R. Effect of heating and aging of poultry litter on the persistence of enteric bacteria. **Poultry Science**, v. 90, n. 1, 2011.

WONGKIEW, S.; CHAIKAEW, P.; TAKRATTANASARAN, N.; KHAMKAJORN, T. Evaluation of nutrient characteristics and bacterial community in agricultural soil groups for sustainable land management. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022.

WU, J.; WANG, J.; LI, Z.; GUO, S.; LI, K.; XU, P.; OK, Y. S.; JONES, D. L.; ZOU, J. **Antibiotics and antibiotic resistance genes in agricultural soils: A systematic analysis** *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2023.

XIA, Q.; LIU, X.; GAO, Z.; WANG, J.; YANG, Z. Responses of rhizosphere soil bacteria to 2-year tillage rotation treatments during fallow period in semiarid southeastern Loess Plateau. **PeerJ**, v. 2020, n. 3, 2020.

XIA, Y.; HE, R.; XU, W.; ZHANG, J. The Zoige pioneer plant *Leymus secalinus* has different endophytic bacterial community structures to adapt to environmental conditions. **PeerJ**, v. 11, 2023.

XU, Q.; LUO, G.; GUO, J.; XIAO, Y.; ZHANG, F.; GUO, S.; LING, N.; SHEN, Q. Microbial generalist or specialist: Intraspecific variation and dormancy potential matter. **Molecular Ecology**, v. 31, n. 1, 2022.

XU, Y.; LI, J.; ZHANG, X.; WANG, L.; XU, X.; XU, L.; GONG, H.; XIE, H.; LI, F. Data integration analysis: Heavy metal pollution in China's large-scale cattle rearing and reduction potential in manure utilization. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 308–317, 20 set. 2019.

YANG, X.; LI, Q.; TANG, Z.; ZHANG, W.; YU, G.; SHEN, Q.; ZHAO, F. J. Heavy metal concentrations and arsenic speciation in animal manure composts in China. **Waste Management**, v. 64, 2017.

YANG, Y.; ASHWORTH, A. J.; DEBRUYN, J. M.; WILLETT, C.; DURSO, L. M.; COOK, K.; MOORE, P. A.; OWENS, P. R. Soil bacterial biodiversity is driven by long-term pasture

management, poultry litter, and cattle manure inputs. **PeerJ**, v. 2019, n. 10, p. e7839, 1 out. 2019.

YE, C.; HUANG, S.; SHA, C.; WU, J.; CUI, C.; SU, J.; RUAN, J.; TAN, J.; TANG, H.; XUE, J. Changes of bacterial community in arable soil after short-term application of fresh manures and organic fertilizer. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 43, n. 6, 2022.

YE, J.; PEREZ, P. G.; ZHANG, R.; NIELSEN, S.; HUANG, D.; THOMAS, T. Effects of different C/N ratios on bacterial compositions and processes in an organically managed soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, n. 1, 2018.

ZAINUDIN, M. H.; MUSTAPHA, N. A.; MAEDA, T.; RAMLI, N.; SAKAI, K.; HASSAN, M. Biochar enhanced the nitrifying and denitrifying bacterial communities during the composting of poultry manure and rice straw. **Waste Management**, v. 106, p. 240–249, 1 abr. 2020.

ZHANG, F.; LI, Y.; YANG, M.; LI, W. Content of heavy metals in animal feeds and manures from farms of different scales in Northeast China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 8, 2012.

ZHANG, H.; WANG, K.; SHEN, L.; CHEN, H.; HOU, F.; ZHOU, X.; ZHANG, D.; ZHU, X. Microbial community dynamics and assembly follow trajectories of an early-spring diatom bloom in a semienclosed bay. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 18, 2018.

ZHANG, J.; CHEN, G.; SUN, H.; ZHOU, S.; ZOU, G. Straw biochar hastens organic matter degradation and produces nutrient-rich compost. **Bioresource Technology**, v. 200, 2016.

ZHANG, L.; REN, J.; BAI, W. A Review of Poultry Waste-to-Wealth: Technological Progress, Modeling and Simulation Studies, and Economic- Environmental and Social Sustainability. **Sustainability (Switzerland)**, 2023.

ZHANG, L.; YI, M.; LU, P. Effects of pyrene on the structure and metabolic function of soil microbial communities. **Environmental Pollution**, v. 305, p. 119301, 15 jul. 2022.

ZHANG, M.; RIAZ, M.; LIU, B.; XIA, H.; EL-DESOUKI, Z.; JIANG, C. Two-year study of biochar: Achieving excellent capability of potassium supply via alter clay mineral composition and potassium-dissolving bacteria activity. **Science of the Total Environment**, v. 717, 2020.

ZHANG, Y.; DING, K.; YRJÄLÄ, K.; LIU, H.; TONG, Z.; ZHANG, J. Introduction of broadleaf species into monospecific Cunninghamia lanceolata plantations changed the soil Acidobacteria subgroups composition and nitrogen-cycling gene abundances. **Plant and Soil**, v. 467, n. 1–2, 2021.

ZHAO, Z. B.; HE, J. Z.; QUAN, Z.; WU, C. F.; SHENG, R.; ZHANG, L. M.; GEISEN, S. Fertilization changes soil microbiome functioning, especially phagotrophic protists. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 148, 2020.

ZHEN, Z.; LUO, S.; CHEN, Y.; LI, G.; LI, H.; WEI, T.; HUANG, F.; REN, L.; LIANG, Y. Q.; LIN, Z.; ZHANG, D. Performance and mechanisms of biochar-assisted vermicomposting in accelerating di-(2-ethylhexyl) phthalate biodegradation in farmland soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 443, 2023.

ZHENG, J.; WANG, Q.; LI, S.; ZHANG, B.; ZHANG, F.; ZHAO, T.; QIAO, J.; ZHAO, M. Mowing effects on soil bacterial community assembly processes in a semiarid grassland. **Plant and Soil**, p. 1–16, 22 ago. 2023.

ZHOU, J.; XIA, B.; TREVES, D. S.; WU, L. Y.; MARSH, T. L.; O’NEILL, R. V.; PALUMBO, A. V.; TIEDJE, J. M. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 326–334, 2002.

ZHU, Y.; MERBOLD, L.; LEITNER, S.; PELSTER, D. E.; OKOMA, S. A.; NGETICH, F.; ONYANGO, A. A.; PELLIKKA, P.; BUTTERBACH-BAHL, K. The effects of climate on decomposition of cattle, sheep and goat manure in Kenyan tropical pastures. **Plant and Soil**, v. 451, n. 1–2, 2020.

8. APÊNDICES

Apêndice 1: Parâmetros na compostagem de cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão nas doses de 5%, 10% e 15% ao longo de 90 dias

Bio-carvão (%)	Dias de compostagem							
	1	7	14	20	30	60	90	
Emissão de CO ₂ (gMS dia ⁻¹)	0	7,96 Ab	8,96 Ab	-	-	6,53 Bb	18,43 Aa	6,78 Ab
	5	10,19 Ab	9,55 Ab	-	-	10,02 Ab	14,82 Ba	7,75 Ab
	10	9,56 Abc	7,52 Ac	-	-	11,26 Aab	13,63 Bca	6,75 Ac
	15	9,31 Aab	8,4 Aab	-	-	10,87 Aa	11,01 Ca	6,25 Ac
Teor de carbono (%)	0	12,38 Aa	-	-	-	12,41 Aa	11,88 Aa	8,02 Ab
	5	12,56 Aa	-	-	-	12,10 Aba	8,50 Bb	8,01 Ab
	10	10,56 Ba	-	-	-	9,17 Cbc	9,59 Bab	7,88 Ac
	15	10,69 Ba	-	-	-	10,77 Ba	8,83 Bb	7,93 Ab
Densidade (kg m ⁻³)	0	170 Abc	-	201 Aabc	237 Aa	209 Da	170 Bc	208 Cab
	5	177 Ac	-	207 Abc	224 Aab	255 BCa	230 Aab	254 ABa
	10	181 Ad	-	214 Abcd	206 Acd	281 Aa	222 Abc	247 Bab
	15	178 Ac	-	213 Abc	212 Abc	227 CDb	231 Ab	284 Aa
pH	0	8,69 Ba	7,63 Ad	6,87 Ae	-	6,97 Be	8,05 Bc	8,24 Ab
	5	8,81 Aa	7,67 Ad	6,80 Af	-	7,39 Ae	8,37 Ab	8,24 Ac
	10	8,71 Aba	7,28 Bd	6,65 Be	-	7,42 Ac	7,89 Cb	7,82 Bb
	15	8,62 Ba	7,29 Bd	6,58 Be	-	7,33 Ad	7,76 Dc	7,91 Bb
CE (mS)	0	1,92 Bb	2,37 Aa	1,76 Ab	-	1,86 Ab	2,10 ABab	1,81 Db
	5	1,94 Bb	2,31 Aa	1,84 Ab	-	1,82 Ab	1,81 Bb	2,43 Ca
	10	1,70 Bc	2,22 Ab	2,09 Ab	-	1,96 Abc	2,20 Ab	3,04 Ba
	15	2,28 Ab	2,05 Ab	2,08 Ab	-	2,00 Ab	2,19 Ab	3,61 Aa
N mineral (mg kg ⁻¹)	0	532 Aa	323 Ab	234 Bc	289 Bbc	212 ABcd	220 Ac	126 Ad
	5	561 Aa	346 Ab	272 ABbc	329 ABB	185 Bcd	152 Ad	119 Ad
	10	415 Ba	336 Aab	311 Abc	311 Bbc	233 ABcd	220 Ad	180 Ad
	15	412 Ba	374 Aab	303 ABbc	400 Aa	273 Acd	196 Ade	182 Ae

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna ou minúsculas na linha, não diferem entre si segundo teste de tukey, com 5% de significância

Apêndice 2: Parâmetros na compostagem de cama de aviário sem biocarvão (0%) e com adição de biocarvão nas doses de 5%, 10% e 15% ao longo de 90 dias

(mg/kg)	Biocarvão (%)	Dias de compostagem			
		0	14	30	60
Cu	0	159 Ac	160 Ac	158 Cc	273 Ab
	5	151 Abc	141 Bc	147 Cc	264 Ab
	10	142 ABb	142 Bb	257 Aa	261 Aa
	15	135 Bc	131 Bc	229 Bb	241 Bb
Ni	0	6,99 Aab	8,49 Aa	6,04 Ab	5,83 Ab
	5	7,23 Aab	8,40 Aa	6,33 Ab	6,19 Ab
	10	7,03 Aa	7,19 Aa	5,56 Aab	6,59 Aab
	15	7,10 Aa	7,29 Aa	5,04 Ab	6,50 Aab
Fe	0	6431 Aab	6622 Aab	5729 Bb	6683 Aa
	5	5994 ABb	6227 ABb	6694 Ab	6534 Ab
	10	5346 Bc	5625 BCbc	5994 ABbc	6317 Ab
	15	5225 Bb	5238 Cb	5370 Bb	5960 Ab
Mn	0	522 Ac	570 Ac	572 Ac	648 Ab
	5	528 Ab	535 ABb	556 Ab	650 Aa
	10	517 Ac	537 ABC	570 Abc	628 ABab
	15	513 Ac	500 Bc	537 Abc	590 Bb
Cr	0	13,58 Ab	29,57 Aa	12,60 Ab	10,93 Bb
	5	12,85 Ab	28,52 Aa	15,84 Ab	13,05 ABb
	10	9,35 Ac	24,53 Aa	13,25 Abc	15,47 ABbc
	15	10,05 Ac	27,44 Aa	13,18 Abc	19,62 Aab
Pb	0	10,90 Ab	10,88 Ab	14,50 Aa	15,50 Aa
	5	9,92 Ab	10,88 Ab	14,25 Aa	16,00 Aa
	10	12,25 Ab	11,92 Ab	13,13 Ab	15,88 Aa
	15	10,67 Ac	11,88 Abc	14,29 Aab	15,63 Aa
Zn	0	537 Ac	538 Ac	537 Ac	611 Ab
	5	521 ABb	476 Bc	529 ABb	601 Aa
	10	485 BCb	487 Bb	515 ABb	571 ABA
	15	459 Cc	453 Bc	494 Bbc	535 Bb
Al	0	5167 Aa	5896 Aa	4414 Aa	5750 Aa
	5	4867 Aa	5573 Aa	6250 Aa	5128 Aa
	10	3983 Aa	5030 Aa	5319 Aa	5063 Aa
	15	3952 Aa	4131 Aa	5027 Aa	3840 Aa

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na coluna ou minúsculas na linha, não diferem entre si segundo teste de tukey, com 5% de significância

Apêndice 3: Comparação por meio de teste de hipóteses multivariadas PERMANOVA da estrutura da comunidade bacteriana na cama de aviário (00) e no composto nos dias 30, 60 e 90 de compostagem (30, 60 e 90, respectivamente), sem biocarvão (0.00) e com adição de biocarvão nas doses 5%, 10% e 15% (0.05, 0.10 e 0.15, respectivamente) durante 90 dias de compostagem

Comparações	Soma dos quadrados	F	R2	p.valor	sig
00_0.00 vs 00_0.05	0,042	1,165	0,226	0,3	ns
00_0.00 vs 00_0.10	0,066	1,637	0,290	0,1	*
00_0.00 vs 00_0.15	0,062	1,695	0,298	0,2	ns
00_0.05 vs 00_0.10	0,059	1,571	0,282	0,2	ns
00_0.05 vs 00_0.15	0,075	2,233	0,358	0,1	*
00_0.10 vs 00_0.15	0,049	1,269	0,241	0,3	ns
30_0.00 vs 30_0.05	0,059	2,692	0,402	0,1	*
30_0.00 vs 30_0.10	0,199	2,591	0,393	0,1	*
30_0.00 vs 30_0.15	0,456	9,670	0,707	0,1	*
30_0.05 vs 30_0.10	0,149	2,102	0,344	0,1	*
30_0.05 vs 30_0.15	0,428	10,41	0,722	0,1	*
30_0.10 vs 30_0.15	0,163	1,699	0,298	0,2	ns
60_0.00 vs 60_0.05	0,224	6,358	0,614	0,1	*
60_0.00 vs 60_0.10	0,301	9,987	0,714	0,1	*
60_0.00 vs 60_0.15	0,182	6,122	0,605	0,1	*
60_0.05 vs 60_0.10	0,234	10,38	0,722	0,1	*
60_0.05 vs 60_0.15	0,210	9,496	0,704	0,1	*
60_0.10 vs 60_0.15	0,245	14,35	0,782	0,1	*
90_0.00 vs 90_0.05	0,133	1,756	0,305	0,2	ns
90_0.00 vs 90_0.10	0,288	5,513	0,580	0,1	*
90_0.00 vs 90_0.15	0,220	3,228	0,447	0,1	*
90_0.05 vs 90_0.10	0,153	3,314	0,453	0,1	*
90_0.05 vs 90_0.15	0,175	2,810	0,413	0,2	ns
90_0.10 vs 90_0.15	0,093	2,426	0,378	0,2	ns

* = $p \leq 0,1$ e ns = não significativo