



RICARDO COELHO ANDRADE

**DINÂMICA DA COMUNIDADE MICROBIANA DE BOKASHI E
EFEITO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *MIMOSA*
CAESALPINIIFOLIA BENTH.**

LAVRAS-MG

2025

RICARDO COELHO ANDRADE

**Dinâmica da comunidade microbiana de Bokashi e efeito no desenvolvimento inicial
de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
Agrícola, área de concentração Microbiologia
Agrícola, para obtenção do Título de Mestre.

Prof. DSc. Ederson da Conceição Jesus
Orientador

Prof. DSc. José Guilherme Marinho Guerra
e
Prof. DSc. Alexander Silva de Resende
Coorientadores

**LAVRAS–MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Andrade, Ricardo Coelho.

Dinâmica da comunidade microbiana de Bokashi e efeito no desenvolvimento inicial de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. / Ricardo Coelho Andrade. - 2025.
121 p.

Orientador: Ederson da Conceição Jesus

Coorientador: José Guilherme Marinho Guerra

Coorientador: Alexander Silva de Resende

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. Bokashi. 2. Micriobiota do solo. 3. *Mimosa caesalpiniiifolia*. 4. Agroecologia.
I. da Conceição Jesus, Ederson . II. Marinho Guerra, José Guilherme . III. Silva de
Resende, Alexander . IV. Universidade Federal de Lavras. V. Título.

RICARDO COELHO ANDRADE

Dinâmica da comunidade microbiana de Bokashi e efeito no desenvolvimento inicial de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

Microbial community dynamics in Bokashi and the effect on early development of *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração Microbiologia Agrícola, para obtenção do Título de Mestre.

APROVADA em 3 de outubro de 2025.

DSc. Carlos Godinho de Abreu	UFLA
DSc. Sérgio Miana de Faria	EMBRAPA

Orientador
Prof. DSc. Ederson da Conceição Jesus

Coorientadores
Prof. DSc. José Guilherme Marinho Guerra
e
Prof. DSc. Alexander Silva de Resende

**LAVRAS – MG
2025**

Dedico à sociedade brasileira, em especial, aos promotores da Agroecologia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, meus pais Rosângela de Fátima Coelho e Ricardo Flavio Rezende de Andrade que me deram forças e sustento, de todas as formas, para conseguir alcançar meus sonhos e objetivos. A meus amados irmãos Rafael Coelho Andrade, Renata Laurente Andrade e à minha companheira Juliane Correia por todo o apoio e ombro amigo em momentos difíceis.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo acolhimento e oportunidades oferecidas, e ao PPGMA - UFLA (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola), estendendo-se a todos os professores, colegas e funcionários.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de apoio e oportunidade.

À Embrapa Agrobiologia e a todos os seus pesquisadores e funcionários que me receberam e apoiaram cordialmente durante a realização deste trabalho.

Ao professor e orientador Dr. Ederson da Conceição Jesus e aos co-orientadores prof. Dr. José Guilherme Marinho Guerra e prof. Dr. Alexander Silva de Resende por todo o auxílio e orientação que me foi prestado, pelo profissionalismo, ética, incentivo e disponibilidade, assim como pelos muitos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas de laboratório dos setores de Leguminosas Florestais, Gramíneas e Agricultura Orgânica da Embrapa Agrobiologia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O uso de microrganismos nativos coletados em ambientes naturais para a produção de bioinsumos fermentados do tipo Bokashi, representa uma estratégia promissora fundamentada nos princípios da agroecologia. Esses microrganismos apresentam alta diversidade funcional, possivelmente desempenhando serviços ecossistêmicos, como atuar na ciclagem de nutrientes, na promoção do crescimento vegetal e na supressão de fitopatógenos. Ao serem incorporados a compostos orgânicos, como farelos vegetais, podem atuar como catalisadores biológicos do processo de fermentação, promovendo a decomposição parcial da matéria orgânica e a síntese de metabólitos secundários úteis às plantas cultivadas. Isso não apenas aumenta a biodisponibilidade dos nutrientes, como também favorece a colonização benéfica da rizosfera quando o bioinsumo é aplicado ao solo. Além disso, a produção de compostos fermentados contribui para a autonomia do agricultor, podendo reduzir custos com insumos químicos e promover a restauração da saúde do solo por meio da reativação dos serviços ecossistêmicos microbianos em solos degradados. Este trabalho foi dividido em 3 capítulos: a introdução geral (cap.1), a caracterização e a dinâmica microbiana durante a fermentação dos compostos farelados com microrganismos nativos (cap.2) e a avaliação do composto como fonte de inóculo na produção de mudas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (cap.3). Os resultados obtidos demonstraram que o processo de fermentação dos farelos inoculados com microrganismos nativos foi marcado por uma sucessão microbiana bem definida, caracterizada inicialmente pelo predomínio de leveduras fermentativas (*Pichia*, *Torulaspora*) e de bactérias ácido-láticas (*Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*). Ao longo do tempo, observou-se a emergência de gêneros bacterianos associados à degradação de polímeros e de potencial agrônomo, como *Bacillus* e *Streptomyces*, e de fungos filamentosos como *Aspergillus* e *Xeromyces*, capazes de explorar substratos mais recalcitrantes e atuar no biocontrole de patógenos do solo. Na avaliação do composto fermentado como fonte de inóculo, a forma concentrada favoreceu maior diversidade bacteriana, enquanto a diluída favoreceu maior diversidade fúngica, indicando que diferentes regimes de inoculação podem modular a composição da rizosfera. Esses resultados reforçam o potencial dos bioinsumos do tipo Bokashi inoculados com microrganismos nativos como uma alternativa viável para introdução de comunidades microbianas benéficas capazes de promover serviços ecossistêmicos no solo, contribuindo para uma melhor sustentabilidade e resiliência ecológica do sistema.

Palavras-chave: Bokashi; Microbiota do solo; *Mimosa caesalpiniiifolia*; Agroecologia.

ABSTRACT

The use of native microorganisms collected from natural environments to produce fermented bioinputs such as Bokashi represents a promising agroecological strategy. These microorganisms exhibit high functional diversity, providing ecosystem services such as nutrient cycling, plant growth promotion, and pathogen suppression. When incorporated into organic substrates such as plant bran, they act as biological catalysts in the fermentation process, promoting partial decomposition of organic matter and the synthesis of plant-beneficial secondary metabolites. This not only increases nutrient bioavailability but also supports beneficial rhizosphere colonization when the bioinput is applied to the soil. In addition, the production of fermented compost contributes to farmer autonomy, potentially reducing reliance on chemical inputs while fostering the restoration of soil health through the reactivation of microbial ecosystem services in degraded soils. This work is organized into three chapters: the general introduction (Chapter 1), the characterization and microbial dynamics of Bokashi fermentation with native microorganisms (Chapter 2), and the evaluation of the compost as an inoculum source for *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. seedlings (Chapter 3). The results demonstrated that Bokashi fermentation inoculated with native microorganisms followed a well-defined microbial succession. Early stages were dominated by fermentative yeasts (*Pichia*, *Torulaspora*) and lactic acid bacteria (*Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*). Over time, bacterial genera associated with polymer degradation and agronomic potential, such as *Bacillus* and *Streptomyces*, emerged, along with filamentous fungi such as *Aspergillus* and *Xeromyces*, capable of exploiting more recalcitrant substrates and contributing to the biocontrol of soil pathogens. When evaluated as an inoculum source, the concentrated form of the compost favored greater bacterial diversity, whereas the diluted form supported greater fungal diversity, indicating that different inoculation regimes modulate rhizosphere composition. These findings reinforce the potential of Bokashi inoculated with native microorganisms as a viable alternative for introducing beneficial microbial communities that deliver ecosystem services in the soil, thereby contributing to greater sustainability and ecological resilience of production systems.

Keywords: Bokashi; Soil microbiota; *Mimosa caesalpiniiifolia*; Agroecology.

INDICADORES DE IMPACTO

O aperfeiçoamento e a adoção de práticas agroecológicas geram uma série de impactos positivos alinhados aos princípios da sustentabilidade agrícola. A substituição, ainda que parcial, de insumos agrícolas sintéticos por compostos orgânicos, como o composto farelado fermentado, pode gerar impactos sociais, ambientais e econômicos, sobretudo quando analisada de forma contextual e não absolutizada. Do ponto de vista ambiental, o uso de compostos fermentados contribui para o reaproveitamento de resíduos orgânicos, para o aumento da matéria orgânica no solo e para a melhoria de atributos físicos e biológicos, além de reduzir a dependência de insumos cuja produção é energeticamente intensiva e associada a maiores emissões de gases de efeito estufa. No âmbito social, o uso desses compostos pode favorecer a diversificação de práticas de manejo, estimular processos de aprendizagem e troca de conhecimentos entre agricultores e reduzir a exposição direta a agroquímicos, especialmente em sistemas de agricultura familiar. Sob a perspectiva econômica, embora nem sempre implique redução imediata de custos, o uso complementar de compostos orgânicos pode diminuir a vulnerabilidade a oscilações de preços de insumos sintéticos, valorizar recursos locais e contribuir para maior autonomia no manejo da fertilidade do solo, com efeitos dependentes das condições produtivas e do sistema agrícola adotado. Em relação aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), a produção de compostos orgânicos pode favorecer a substituição parcial de insumos agrícolas sintéticos, alinhando-se principalmente aos ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável), ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ODS 13 (Ação contra a Mudança do Clima) e ODS 15 (Vida Terrestre). Além disso, o escopo e os impactos deste trabalho enquadram-se na área temática de Meio Ambiente da Política Nacional de Extensão, que corresponde a um dos grandes focos das políticas sociais, permitindo classificar os impactos do estudo como ambientais, com potencial de articulação extensionista voltada à promoção do uso sustentável dos recursos naturais e de sistemas produtivos ambientalmente responsáveis.

IMPACT INDICATORS

The improvement and adoption of agroecological practices generate a range of positive impacts aligned with the principles of agricultural sustainability. The partial substitution of synthetic agricultural inputs with organic compounds, such as fermented bran-based compost, can generate social, environmental, and economic impacts, particularly when analyzed in a contextual and non-absolutist manner. From an environmental perspective, the use of fermented composts contributes to the reuse of organic residues, increases soil organic matter, and improves soil physical and biological attributes, while also reducing dependence on inputs whose production is energy-intensive and associated with higher greenhouse gas emissions. From a social standpoint, the use of these composts may promote diversification of management practices, stimulate learning processes and knowledge exchange among farmers, and reduce direct exposure to agrochemicals, especially in family farming systems. From an economic perspective, although it does not necessarily result in immediate cost reductions, the complementary use of organic composts may reduce vulnerability to price fluctuations of synthetic inputs, enhance the use of local resources, and contribute to greater autonomy in soil fertility management, with effects depending on production conditions and the agricultural system adopted. Regarding the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), the production of organic composts may support the partial replacement of synthetic agricultural inputs, aligning mainly with SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), SDG 12 (Responsible Consumption and Production), SDG 13 (Climate Action), and SDG 15 (Life on Land). In addition, the scope and impacts of this work fall within the Environmental thematic area of Brazil's National Extension Policy, which encompasses major social policy priorities related to environmental protection, sustainable natural resource management, and the promotion of environmentally responsible production systems. In this context, the impacts of the study can be classified as environmental, with potential extension relevance due to their applicability in sustainable agriculture and ecosystem conservation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. A biodiversidade microbiana do solo.....	15
2.2. Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCPs).....	19
2.3. Composto orgânico fermentado do tipo Bokashi	23
2.4. Produção de mudas florestais nativas.....	29
2.5. Leguminosas florestais	32
2.6. <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	34
REFERÊNCIAS.....	37
CAPÍTULO 2 – Caracterização Microbiana Durante o Processo de Fermentação de Bokashi Inoculado com Microrganismos Nativos	
47	
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAIS E MÉTODOS	50
2.1. Preparo do composto farelado	50
2.2. Captura dos Microrganismos Nativos	51
2.3. Ativação dos Microrganismos Nativos.....	53
2.4. Inoculação do composto farelado	54
2.5. Medição do pH e condutividade elétrica.....	55
2.6. Avaliação da composição das comunidades de fungos e bactérias do composto fermentado....	55
3. RESULTADOS	57
3.1. Variações de pH e Condutividade Elétrica.....	57
3.2. Caracterização da Comunidade Bacteriana.....	57
3.3. Caracterização Fúngica.....	62
4. DISCUSSÃO	65
4.1. Variáveis físico-químicas do composto	65
4.2. Ecologia das comunidades bacterianas e fúngicas associadas ao composto	67
5. CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
CAPÍTULO 3 – Avaliação de Bokashi como Fonte de Microrganismos Benéficos no Desenvolvimento Inicial de Mudanças de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	
80	
1. INTRODUÇÃO.....	84
2. MATERIAIS E MÉTODOS	87
2.1. Coleta de microrganismos eficientes (EMs), ativação e produção do Bokashi	87
2.2. Preparo das sementes, escolha do substrato e recipientes	90
2.3. Preparo dos tratamentos e delineamento experimental	91
2.4. Extração de DNA	95
2.5. Análises em software R.....	96
3. RESULTADOS	97

3.1. Análises Fitotécnicas.....	97
3.2. Caracterização das Comunidades Microbianas.....	102
4. DISCUSSÃO	106
4.1.1 Avaliação do desempenho das mudas	106
4.1.6 Diversidade Bacteriana	109
4.1.7. Diversidade Fúngica	112
5. CONCLUSÕES.....	114
REFERÊNCIAS.....	116

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

A intensificação da agricultura nas últimas décadas tem sido fortemente orientada pelo aumento da produtividade, em função da crescente demanda por alimentos, fibras e biocombustíveis. No entanto, essa busca pela maximização dos rendimentos, baseada na mecanização intensiva e no uso elevado de fertilizantes sintéticos e defensivos agrícolas, tem gerado impactos significativos na qualidade do solo. Tais práticas não são consideradas sustentáveis a longo prazo, pois contribuem para a compactação, erosão, acidificação, salinização e, sobretudo, para a degradação biológica do solo, expressa pela redução da diversidade e da funcionalidade da microbiota edáfica (Primavesi, 2006; Derpsch e Friedrich, 2009; Lal, 2015; Banerjee *et al.*, 2019).

A diminuição da diversidade microbiana no solo implica na perda dos serviços ecossistêmicos prestados pelos microrganismos, como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a mineralização de compostos orgânicos, a supressão de patógenos, a ciclagem de nutrientes e a formação de agregados estáveis, essenciais para manutenção da estrutura do solo (Bender, Wagg e van der Heijden 2016; Tomazelli *et al.*, 2024). Dessa forma, a degradação física, química e biológica do solo resulta em condições menos favoráveis para os microrganismos benéficos, desencadeando um processo de empobrecimento progressivo do ambiente edáfico, com prejuízos diretos à fertilidade, resiliência e produtividade agrícola a longo prazo, levando em casos extremos, ao abandono da área (Primavesi, 2006).

Portanto, a adoção de práticas agrícolas que promovam o aumento da biodiversidade e funcionalidade ecológica de microrganismos do solo se torna uma estratégia importante para mitigar os impactos causados pela degradação nos sistemas agrícolas e desenvolver uma agricultura mais sustentável e resiliente (Altieri, 2012; Rhodes, 2017).

Nesse contexto, a agroecologia emerge como uma alternativa necessária frente aos impactos negativos cumulativos provocados pelo manejo convencional, sobretudo no que se refere à degradação biológica dos solos e à supressão dos serviços ecossistêmicos mediados por microrganismos. Diferentemente da agricultura intensiva, que historicamente prioriza a maximização da produtividade por meio do uso desenfreado de fertilizantes químicos, pesticidas e práticas como o revolvimento frequente do solo, a agricultura ecológica busca restaurar e fortalecer os processos ecológicos naturais que sustentam os ecossistemas agrícolas, promovendo ao mesmo tempo produtividade e sustentabilidade, por meio de práticas conservacionistas de manejo do solo (Derpsch e Friedrich, 2009; Rhodes, 2017; Newton *et al.*,

2020; Giller *et al.*, 2021).

Para Newton *et al.*, (2020), a comunidade microbiana do solo exerce uma ampla gama de funções ecológicas que sustentam direta e indiretamente a produtividade agrícola, a resiliência dos sistemas naturais e a sustentabilidade dos ambientes cultivados. Diversos autores citam a importância de microrganismos, como bactérias simbiotes e de vida livre fixadoras de nitrogênio, solubilizadores de fósforo, fungos micorrízicos, e muitos outros grupos como desempenhadores de serviços ecossistêmicos fundamentais na nutrição vegetal, manutenção da estrutura do solo, indução de resistência sistêmica nas plantas, aumento da eficiência do uso da água entre outras contribuições diretas e indiretas (Brussaard, de Ruiter e Brown, 2007; Lal, 2015; Banerjee *et al.*, 2019).

Nesse sentido, o uso de compostos fermentados farelados do tipo Bokashi tem sido uma estratégia e de fácil preparo na propriedade, capaz de fornecer nutrientes de forma gradativa e equilibrada, além de introduzir comunidades microbianas benéficas responsáveis por aumentar o potencial enzimático do solo e consequentemente melhorar a qualidade e a ciclagem de nutrientes (Andrade, 2011; Footer, 2014; Quiroz e Céspedes, 2019). Trata-se de um bioinsumo produzido a partir de materiais orgânicos ricos em carbono e nitrogênio associado à ação fermentadora de comunidades microbianas benéficas conhecidas como microrganismos eficientes (EM) (Higa e Parr, 1994; Siqueira e Siqueira, 2013).

Estudos demonstram que este bioinsumo pode reduzir significativamente a dependência de fertilizantes sintéticos e de insumos derivados de combustíveis fósseis, os quais geram impactos socioambientais negativos e que oneram as operações agrícolas, além de reintroduzir microrganismos que atuam nos ciclos biogeoquímicos do solo em ambientes que se encontram fragilizados (Carvalho e Rodrigues, 2007; González-Rodríguez *et al.*, 2023).

A produção de mudas de espécies florestais para fins de recuperação de áreas degradadas também pode ser beneficiada com seu uso, uma vez que em ambientes degradados, é comum encontrar uma fauna edáfica reduzida e fragilizada, composta predominantemente por comunidades microbianas de baixa diversidade funcional e limitada capacidade simbiótica, resultado da intensa perturbação físico-química do solo causada por práticas insustentáveis de uso da terra (Macedo *et al.*, 2022; Tomazelli *et al.*, 2024; Ciricugno *et al.*, 2024; Smith *et al.*, 2024). Desse modo, a adição de compostos fermentados como o Bokashi, que são ricos em microrganismos benéficos, pode ser uma estratégia eficaz para reintroduzir biodiversidade funcional no solo nesses ambientes (Quiroz e Céspedes, 2019; Kruker *et al.*, 2023).

Portanto, quando incorporado ao substrato de viveiros, esse bioinsumo pode atuar não apenas como fonte de nutrientes, mas também como veículo de inoculação microbiana,

favorecendo o estabelecimento de interações benéficas desde a fase inicial da produção de mudas. Tais interações podem contribuir para o desenvolvimento de sistemas radiculares mais vigorosos, aumentar a resistência a estresses abióticos e promover uma maior eficiência na absorção de nutrientes pelas raízes, o que pode aumentar a resiliência das mudas após o transplante e acelerar os processos de sucessão ecológica e regeneração do solo nas áreas restauradas (Moreira *et al.*, 2009; Giller e Sanchez, 2019). Assim, o uso estratégico de compostos fermentados representa uma abordagem agroecológica promissora para a recuperação de ecossistemas degradados (Altieri e Nicholls, 2020).

No entanto, apesar dos avanços na utilização desses bioinsumos, a produção artesanal de Bokashi, embora acessível e difundida entre agricultores familiares e praticantes da agroecologia, apresenta limitações, especialmente quando considerada em escalas comerciais ou sob condições técnicas pouco controladas. Essas limitações decorrem principalmente da qualidade dos insumos utilizados, da ausência de controle dos parâmetros fermentativos e da falta de padronização dos protocolos de preparo (Goulart, 2020).

O equilíbrio adequado entre fontes de carbono e nitrogênio é um fator essencial para a fermentação eficiente e para a proliferação de microrganismos benéficos no composto, bem como para o controle de pH, temperatura e umidade. Quando o processo de fermentação não é bem conduzido ou ocorre de forma incompleta, pode haver proliferação de microrganismos oportunistas e patogênicos (Oliveira, 2015; Goulart, 2020; Villamizar, 2014). Um desequilíbrio nessa etapa também pode resultar na produção de compostos tóxicos, como aminas e ácidos orgânicos em excesso, bem como em baixa atividade microbiana.

Outra limitação se refere à captura e seleção de microrganismos do solo, processo empírico baseado em características visuais como a coloração das colônias, o que carece de critérios robustos que garantam a composição funcional desejada. Sem identificação microbiológica ou testes seletivos, há risco de incorporação de espécies não benéficas e patogênicas ao solo, às plantas, e até mesmo à saúde humana, além de não garantir captura de grupos funcionais, como os microrganismos promotores de crescimento de plantas (Villamizar, 2014; Kruker *et al.*, 2023).

Portanto, compreender como essas populações se estruturam, interagem entre si e se transformam durante as etapas de confecção do composto se torna essencial para preencher lacunas de conhecimento e aprimorar os protocolos de produção. Isso permite não apenas otimizar a eficiência agrônômica do Bokashi, mas também avançar no desenvolvimento de bioinsumos de alta qualidade, alinhados aos princípios da agricultura regenerativa e agroecológica, contribuindo para a construção de sistemas produtivos mais resilientes,

autossustentáveis e ambientalmente responsáveis (Altieri e Nicholls, 2020).

Neste estudo, a prática de confecção de compostos farelados fermentados do tipo Bokashi foi avaliada quanto à sua eficiência como fonte de inóculo de microrganismos benéficos na produção de mudas da espécie *Mimosa caesalpiniiifolia*, popularmente conhecida como sabiá, a partir da obtenção de comunidades microbianas provenientes de uma área de ocorrência da mesma espécie. Adicionalmente, a dinâmica populacional microbiana durante o processo de fermentação do composto foi avaliada. Amostras do solo rizosférico associado durante o crescimento inicial das mudas e do composto em diferentes tempos de fermentação foram submetidas à extração de DNA total e ao sequenciamento genético, usando os marcadores genéticos RNAr 16S, para bactérias, e ITS, para fungos, visando determinar os principais gêneros envolvidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A biodiversidade microbiana do solo

O solo é um componente fundamental de qualquer bioma terrestre, sendo a base sobre a qual se sustentam a vegetação, a fauna e os processos ecológicos, constituindo um ecossistema complexo, dinâmico e vivo, com papel central na regulação do clima, decomposição de matéria orgânica e consequente ciclagem de nutrientes, filtração da água e manutenção da biodiversidade (Lavelle *et al.*, 2006). Sua composição mineral, orgânica e biológica molda diretamente a estrutura e a funcionalidade dos biomas, influenciando desde a produtividade primária até a resiliência ecológica diante de distúrbios naturais ou antrópicos (Primavesi, 2006).

Muitos autores defendem que o solo seja considerado um sistema ecológico autônomo, análogo a um bioma, especialmente em termos de complexidade funcional, abrigando uma das maiores biodiversidades da Terra, com estimativas indicando que mais de 25% das espécies do planeta habitam o solo (Lavelle *et al.*, 2006; Decaëns, 2010; Bardgett e van der Putten, 2014; Rhodes, 2014). Essa diversidade não é apenas taxonômica, mas também funcional, uma vez que os organismos do solo desempenham papéis cruciais nos ciclos biogeoquímicos (Bender, Wagg e van der Heijden 2016). A complexidade do meio edáfico também se expressa em sua estrutura física e química heterogênea, com poros, agregados, gradientes de umidade, oxigênio e pH que criam microambientes específicos (Primavesi, 2006; Moreira, 2009).

A matriz mineral constitui a fração inorgânica do solo, formada por partículas que determinam a textura e influenciam a retenção de água, trocas catiônicas e a mobilidade de nutrientes (Chesworth, 2006; Brady e Weil, 2017). Sobre essa matriz, desenvolve-se a matéria

orgânica do solo, derivada da decomposição de resíduos vegetais, animais e microrganismos, e que forma o húmus, um conjunto de compostos orgânicos complexos que desempenha papel fundamental na capacidade de troca catiônica (CTC), na agregação estrutural e na retenção de água (Stevenson, 1994). Nos poros da matriz sólida do solo encontram-se a solução do solo, rica em íons e compostos orgânicos essenciais ao metabolismo biológico e geoquímico, e o ar do solo, com maior concentração de CO₂ e menor de O₂, refletindo a atividade microbiana e a porosidade do solo. Atuando sobre esses componentes está a biota do solo, cuja atividade modula a estrutura e a funcionalidade do sistema (Wall *et al.*, 2012; Lehmann e Kleber, 2015).

O conjunto desses fatores constitui o ecossistema do solo, que pode ser definido como uma unidade funcional da natureza, composta pela interação entre os componentes bióticos e abióticos, em que ocorrem fluxos de energia e ciclos de nutrientes que sustentam a vida. Dessa forma, tanto os organismos quanto o ambiente devem ser considerados em conjunto para compreender a dinâmica ecológica (Odum e Barrett, 2007; Chapin, Matson e Vitousek, 2011).

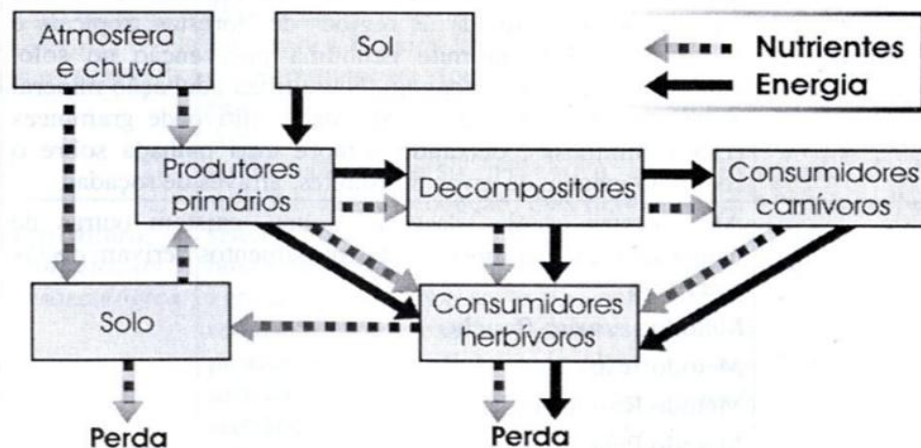
Os componentes funcionais de um ecossistema correspondem aos elementos e processos que asseguram a manutenção da estrutura ecológica e a provisão de serviços ecossistêmicos essenciais (Wall *et al.*, 2012). Esses componentes podem ser agrupados em quatro categorias principais: bióticos, abióticos, fluxos de energia e ciclagem de nutrientes. Os produtores primários são seres autotróficos, organismos fotossintetizantes, como plantas, algas e cianobactérias, responsáveis pela fixação da energia solar em compostos orgânicos.

Os consumidores são organismos heterotróficos que obtêm energia ao consumir outros seres vivos, podendo ser primários, secundários ou terciários. Decompositores são microrganismos que degradam matéria orgânica morta, liberando nutrientes ao ambiente e fechando os ciclos biogeoquímicos (Odum e Barrett, 2007). Componentes abióticos incluem os fatores físicos e químicos que condicionam a vida no ecossistema, tais como: atmosfera, clima, solo e recursos hídricos, elementos essenciais para a sobrevivência dos organismos, que definem os limites de tolerância das espécies e influenciam a produtividade primária (Gliessman, 2000; Chapin, Matson e Vitousek, 2011).

A energia entra no ecossistema pela fotossíntese e flui entre os níveis tróficos pela cadeia alimentar. A cada transferência, uma parte da energia é dissipada como calor, conforme a segunda lei da termodinâmica. Essa perda progressiva limita o número de níveis tróficos e é definida como o fluxo de energia no sistema (Begon, Townsend e Harper, 2007). A ciclagem de nutrientes refere-se à transformação biogeoquímica dos elementos essenciais à vida, como carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio e outros. Esses elementos circulam entre os compartimentos bióticos e abióticos por meio de processos como a fixação biológica de

nitrogênio, a decomposição da matéria orgânica, a mineralização e a imobilização, a lixiviação, a volatilização e a adsorção no solo. Essa ciclagem garante o retorno dos nutrientes aos produtores, fechando os ciclos ecológicos (Gliessman, 2000).

Figura 1 – Componentes funcionais de um ecossistema natural.



Fonte: Gliessman (2000).

Ao estudarmos a ecologia edáfica, é importante conceituar a cadeia alimentar que compõe esse sistema, uma organização hierárquica complexa, estruturada em múltiplos níveis interconectados que sustentam seu funcionamento. Cada grupo de organismos ocupa um nicho ecológico que determina o equilíbrio do ecossistema. A biodiversidade é estruturada funcionalmente e diferentes grupos biológicos atuam de forma interdependente (Primavesi, 2006; Chamorro-Martínez *et al.*, 2022).

Essa cadeia baseia-se primariamente na matéria orgânica morta como principal fonte de energia, e sua organização segue uma estrutura trófica em três níveis principais, com subdivisões internas. O nível trófico basal compreende microrganismos sapróbios, responsáveis pela transformação da matéria orgânica, que é decomposta em compostos assimiláveis e inclui bactérias que degradam compostos solúveis como açúcares simples, fungos que atuam principalmente na degradação de compostos recalcitrantes como a lignina e celulose, e actinobactérias que produzem enzimas extracelulares e antibióticos, influenciando tanto a decomposição quanto a estruturação da comunidade microbiana (Moreira *et al.*, 2009; Lavelle *et al.*, 2006). Esses microrganismos constituem a base da cadeia alimentar edáfica, formando o

“pool” microbiano, que será consumido pelos níveis superiores.

O nível intermediário inclui organismos da micro e da mesofauna, que se alimentam de decompositores ou de matéria orgânica parcialmente decomposta. Esses consumidores regulam as populações microbianas e redistribuem nutrientes no solo, formando uma ponte entre os decompositores microbianos e os níveis superiores, além de influenciar diretamente a estrutura física do solo e a formação de agregados. Dentre eles estão protozoários, nematóides, colêmbolos e ácaros. (Bardgett e van der Putten, 2014; Chamorro-Martínez *et al.*, 2022).

No nível trófico superior, estão os representantes da macrofauna e, diferentemente dos grupos anteriores, são fáceis de observar a olho nu. Incluem anelídeos, insetos sociais, térmitas, besouros, aracnídeos, larvas de insetos, entre outros (Lavelle *et al.*, 1997; Wall *et al.*, 2012). Esses seres exercem funções-chave na estrutura do habitat edáfico e sua composição atua como bioindicadora da sustentabilidade em agroecossistemas (Ramos *et al.*, 2025).

Por meio da bioturbação, esses organismos constroem galerias e túneis que promovem maior porosidade, favorecem a infiltração de água, facilitam o desenvolvimento das raízes e melhoram o fluxo de gases entre as camadas do solo. Além disso, a deposição de excrementos e o transporte de matéria orgânica proporcionam microambientes ricos em nutrientes, que servem de base para a atividade da mesofauna e dos microrganismos (Six *et al.*, 2004; Lavelle *et al.*, 2006; Chamorro-Martínez *et al.*, 2022; Batista *et al.*, 2023; Ramos *et al.*, 2025; Vasconcelos *et al.*, 2025).

Essa rede de interações é crítica para a manutenção das propriedades físico-químicas do solo. A perda ou desequilíbrio de qualquer um desses grupos, seja pela alteração da estrutura, uso intensivo de agroquímicos, redução da matéria orgânica ou mudanças no uso do solo, pode causar uma ruptura na funcionalidade ecológica do ambiente edáfico (Moreira e Siqueira, 2006; Bender, Wagg e van der Heijden 2016). Isso se traduz em maior susceptibilidade à erosão, redução da capacidade de infiltração e retenção de água, diminuição da fertilidade, diminuição da aeração e troca de gases, menor ciclagem de nutrientes e perda de resiliência do agroecossistema (Brussaard e Brown, 2007).

Portanto, a interação entre solo e vegetação é bidirecional, pois, enquanto as plantas dependem do solo para nutrientes, água e estabilidade, a vegetação contribui para a formação e conservação do solo ao fornecer cobertura, matéria orgânica e ao modular o microclima. Essa interação é particularmente crítica nos biomas tropicais, onde os solos frequentemente ácidos e intemperizados, sob condições ambientais como altas temperaturas e regimes sazonais de precipitação, são fatores que aceleram a decomposição da matéria orgânica e os ciclos biogeoquímicos, o que exige uma atividade biológica contínua para a manutenção da fertilidade

e dos processos ecológicos (Primavesi, 2006; Melo *et al.*, 2013). Nesse contexto, a biodiversidade do solo torna-se uma necessidade funcional para garantir o equilíbrio dos processos bioquímicos e físicos que sustentam a produtividade nesses ecossistemas (Brussaard e Brown, 2007; Moreira e Siqueira, 2006; Mendes, Garbeva e Raaijmakers, 2013).

Compreender as relações ecológicas entre macro, meso e microfauna, fatores físicos e químicos é um fator central no desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis e conservacionistas. A adoção de práticas que conservem ou restaurem essa biodiversidade, como o uso de bioinsumos e o manejo ecológico do solo, é fundamental para enfrentar os desafios da degradação do solo e da recuperação de áreas degradadas.

2.2. Microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCPs)

A diversidade microbiana do solo sustenta uma ampla gama de interações, desde associações simbióticas altamente específicas até relações de cooperação mais generalistas (Souza, Ambrosini e Passaglia, 2020). A interação entre plantas e microrganismos do solo reflete um refinado processo de coevolução, no qual as plantas selecionam parte de sua microbiota associada por meio da liberação de exsudatos radiculares, que servem tanto como fontes de energia quanto como sinalizadores bioquímicos (Berendsen, Pieterse e Bakker, 2012; Glick, 2015; Quevedo *et al.*, 2023).

Dentre os muitos grupos de microrganismos envolvidos nos processos biogeoquímicos do solo, destacam-se os chamados Microrganismos Promotores do Crescimento de Plantas (MPCPs), cujo papel na agricultura tem se tornado cada vez mais relevante no contexto da transição para sistemas produtivos mais sustentáveis e menos dependentes de insumos sintéticos (Backer *et al.*, 2018; Smith *et al.*, 2024). Este grupo de microrganismos tem a capacidade de estimular o desenvolvimento vegetal por meio de diferentes mecanismos fisiológicos, bioquímicos e ecológicos.

O marco científico fundamental que possibilitou a compreensão da ação dos microrganismos promotores do crescimento de plantas foi o desenvolvimento da microbiologia do solo como disciplina científica no final do século XIX e no início do século XX, aliado à descoberta da fixação biológica do nitrogênio (FBN) e à elucidação das relações simbióticas e rizosféricas entre plantas e microrganismos. Martinus Beijerinck (1888–1901), microbiologista holandês, isolou e descreveu os primeiros microrganismos diazotróficos de vida livre (*Azotobacter*), estabelecendo que certos microrganismos poderiam fixar N₂ atmosférico sem a presença de nódulos em leguminosas. Essa descoberta foi fundamental para a ideia de que microrganismos poderiam nutrir plantas, influenciando seu crescimento independentemente da

adubação química (Vessey, 2003).

No início do século XX, pesquisadores como Nobbe e Hiltner em 1896, e depois Fred, Baldwin e McCoy demonstraram que o gênero *Rhizobium* era o agente simbiótico responsável pela formação de nódulos em leguminosas, permitindo a fixação simbiótica do N₂. Esse foi o primeiro modelo de interação planta-microrganismo benéfica reconhecida como fisiologicamente relevante para a nutrição vegetal (Fred, Baldwin, e McCoy, 1932)

No Brasil, pesquisas lideradas por Johanna Döbereiner nas décadas de 1960 e 1970 identificaram e demonstraram a importância de bactérias diazotróficas não nodulantes, especialmente do gênero *Azospirillum*, associadas a gramíneas como milho, trigo, sorgo e, sobretudo, cana-de-açúcar. O reconhecimento da capacidade dessas bactérias de promover o crescimento vegetal e fixar nitrogênio, em associação epifítica e endofítica com plantas não leguminosas, representou uma ruptura no paradigma vigente da época, que considerava a FBN restrita quase exclusivamente às leguminosas (Döbereiner, 1992).

Esses achados levaram ao desenvolvimento de inoculantes microbianos adaptados para culturas de gramíneas tropicais, reduzindo significativamente a dependência de fertilizantes nitrogenados industriais, altamente custosos economicamente e ambientalmente. Além dos benefícios econômicos, há um impacto expressivo na mitigação das emissões de gases de efeito estufa, especialmente de óxidos de nitrogênio, altamente poluentes e associados ao uso excessivo de fertilizantes químicos. Estima-se que a FBN associada às leguminosas economize globalmente milhões de toneladas de nitrogênio sintético, além de reduzir custos e mitigar impactos ambientais, como emissão de gases de efeito estufa e contaminação de corpos d'água por nitratos (Herridge *et al.*, 2008; Hungria, Nogueira e Araujo, 2016).

O impacto econômico e ambiental dessa descoberta é imensurável, especialmente considerando que a fixação biológica de nitrogênio (FBN) substitui, total ou parcialmente, a necessidade de fertilizantes nitrogenados industriais, cuja produção depende fortemente de combustíveis fósseis pelo processo Haber-Bosch (Reid, Ferguson e Gresshoff, 2011; Rhodes, 2017). Atualmente, mais de 80% do nitrogênio requerido pela soja no Brasil é suprido por bactérias simbióticas, especialmente do gênero *Bradyrhizobium* (Hungria e Mendes, 2015). Isso permitiu que a expansão da soja ocorresse em áreas de Cerrado, cujos solos originalmente são altamente pobres nesse nutriente.

Além da FBN, os MPCP atuam por diversos mecanismos diretos e indiretos. Entre os diretos, destacam-se a solubilização de fósforo e potássio por bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Azospirillum*, que liberam ácidos orgânicos e enzimas fosfatases, tornando nutrientes minerais biodisponíveis (Rodríguez e Fraga, 1999; Gomes *et al.*, 2016; Tomazelli *et*

al., 2024), a produção de fitormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas, que estimulam o desenvolvimento radicular e vegetativo e a produção de ACC-desaminase, enzima capaz de reduzir os níveis de etileno nas plantas sob estresse, promovendo maior resiliência (Glick, 2014). Nos mecanismos indiretos, destacam-se a supressão de fitopatógenos via produção de compostos antimicrobianos e competição por nicho ou espaço (Compant *et al.*, 2005; Backer *et al.*, 2018).

Os microrganismos também podem atuar por meio de antibiose, produção de sideróforos, indução de resistência sistêmica e parasitismo direto sobre patógenos (Lugtenberg e Kamilova, 2009). Entre eles, destaca-se *Bacillus subtilis*, que atua na supressão de *Fusarium oxysporum* por meio da produção de compostos antimicrobianos, como iturina, surfactina e fengicina, além da formação de biofilmes que limitam a colonização da rizosfera por patógenos (Ongena e Jacques, 2008). Da mesma forma, *Pseudomonas fluorescens* tem ampla aplicação no controle biológico de patógenos como *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium*, por meio da produção de sideróforos, que sequestram ferro, e da síntese de antibióticos, como o 2,4-diacetilfloroglucinol, fundamentais para a antibiose (Weller, 2007).

Entre os principais grupos de bactérias, destacam-se as gram-negativas como *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Rhizobium*, embora também haja representantes gram-positivos, como os gêneros *Bacillus* e *Paenibacillus*. Características como motilidade, quimiotaxia, capacidade de aderência, tolerância a estresses ambientais e eficiência no crescimento são determinantes para que esses microrganismos se estabeleçam na rizosfera e colonizem os tecidos internos das plantas (Compant *et al.*, 2005; Glick, 2020). Em contrapartida, as plantas liberam exsudatos radiculares que fornecem fontes de carbono, aminoácidos e metabólitos secundários, como flavonóides específicos, os quais exercem influência direta na diversidade e na atividade metabólica das comunidades microbianas associadas (Gomes *et al.*, 2016).

Com relação aos fungos benéficos, *Trichoderma harzianum* é conhecido por seu mecanismo de micoparasitismo, no qual envolve e degrada as hifas de fitopatógenos como *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani* e ainda fungos dos gêneros *Fusarium*, *Pythium* e *Botrytis*, além de produzir enzimas hidrolíticas (quitinases e glucanases) e compostos voláteis que inibem o crescimento dos patógenos, podendo induzir resistência sistêmica nas plantas (Harman, 2000). Embora *Azospirillum brasilense* não atue diretamente na supressão de patógenos, sua capacidade de promover o crescimento, fortalecer o sistema radicular e induzir resistência sistêmica contribui significativamente para a redução de doenças, especialmente as causadas por fungos de solo (Cassán *et al.*, 2020).

Além disso, espécies do gênero *Streptomyces* destacam-se pela produção de uma ampla gama de metabólitos bioativos com atividade antibiótica, demonstrando eficácia contra patógenos como *Phytophthora capsici* e *Botrytis cinerea*, o que evidencia seu grande potencial no controle biológico (Viaene *et al.*, 2016). Estudos de Mendes *et al.* (2011) indicam que consórcios microbianos, que combinam diferentes espécies bacterianas, apresentaram maior eficácia na supressão de *Rhizoctonia solani* do que isolados individuais, reforçando a importância da diversidade microbiana para a saúde do solo e das plantas.

Do ponto de vista ecológico e econômico, outras simbioses exploradas comercialmente incluem micorrizas arbusculares, estabelecidas por fungos das ordens *Glomerales* e *Diversisporales*, que expandem a área de absorção das raízes (Smith e Read, 2008), bactérias endofíticas não nodulantes, como *Azospirillum spp.*, amplamente aplicadas em gramíneas, incluindo milho, trigo e cana-de-açúcar, conferindo aumento na absorção de nutrientes e resistência a estresses abióticos (Hungria *et al.*, 2010) e ainda diversos microrganismos associados a ciclagem de carbono e degradação de compostos orgânicos, fundamentais na manutenção da estrutura física do solo, na formação de agregados e na regulação do ciclo da matéria orgânica (Primavesi, 2006; Singh *et al.*, 2011).

Os MPCPs são componentes naturais da microbiota do solo, estando intimamente associados às raízes, à rizosfera, à filosfera e até ao interior dos tecidos vegetais (endófitos) (Compant *et al.*, 2005). Esses organismos fazem parte de complexas comunidades microbianas que se estruturam em função de múltiplos fatores bióticos e abióticos, tais como a composição da matéria orgânica, a disponibilidade de nutrientes, o pH, a textura do solo, a umidade e a temperatura, além das interações com plantas e outros microrganismos (Mendes *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2016; Fierer, 2017).

A ocorrência natural dos MPCPs nos solos está diretamente relacionada à biodiversidade microbiana, especialmente em ambientes que mantêm cobertura vegetal, elevada quantidade de matéria orgânica e baixos níveis de perturbação antrópica (Van der Heijden *et al.*, 2008). Sendo assim, práticas agrícolas convencionais como o uso intensivo de agroquímicos, fertilizantes sintéticos, revolvimento excessivo do solo e monocultivos, contribuem significativamente para a redução da diversidade e da abundância desses microrganismos, além de favorecerem o surgimento de desequilíbrios ecológicos e o aumento de fitopatógenos (Tiedje *et al.*, 1999; Primavesi, 2006; Philippot *et al.*, 2013; Bender, Wagg e van der Heijden 2016).

Portanto, para favorecer o aparecimento, estabelecimento e atividade dos MPCPs no solo, torna-se fundamental a adoção de práticas de manejo ecológico e incorporação de resíduos

com fontes de carbono facilmente assimilável, como aplicação de matéria orgânica de qualidade como biomassa vegetal de leguminosas, compostos fermentados, biofertilizantes, esterco curtido e práticas como a rotação e consórcio de culturas, manutenção de cobertura permanente do solo (plantas de cobertura, adubação verde e palhada), redução do uso de agroquímicos, além da aplicação de inoculantes biológicos (Altieri, 2012; Moreira e Siqueira, 2006; Mendes *et al.*, 2011).

Técnicas agroecológicas como a captura de microrganismos nativos do solo e sua multiplicação em substratos têm sido utilizadas com sucesso para restaurar a microbiota funcional em áreas degradadas, promovendo resiliência edáfica e redução da dependência de insumos industriais (Mendes, Garbeva e Raaijmakers, 2013; Oliveira, 2015; Altieri e Nicholls, 2020). Nesse contexto, a evolução do entendimento da ecologia microbiana do solo, incluindo a dinâmica populacional dos MPCPs na produção de compostos fermentados, é essencial para o desenvolvimento de bioinsumos mais eficientes e para o aprimoramento de estratégias de manejo que favoreçam a resiliência dos agroecossistemas (Fierer, 2017).

2.3. Composto orgânico fermentado do tipo Bokashi

O Bokashi, técnica de compostagem acelerada originária do Japão, tem sido historicamente utilizado como insumo orgânico de rápida disponibilização de nutrientes, produzido a partir da fermentação de farelos vegetais, tortas oleaginosas e outros resíduos agrícolas. No método tradicional, a fermentação era conduzida por comunidades microbianas nativas presentes nos insumos e no ambiente, resultando em um produto cuja composição microbiológica variava conforme as condições locais de produção (Yamada e Xu, 2000).

A partir da década de 1980, Teruo Higa, pesquisador da Universidade de Ryukyus, no Japão, sistematizou a aplicação de consórcios microbianos benéficos, denominados “Effective Microorganisms” (EM), no processo de produção do Bokashi (Higa & Parr, 1994). Esse consórcio de microrganismos simbióticos, composto principalmente por bactérias ácido-láticas, leveduras, bactérias fotossintéticas, actinobactérias e fungos benéficos, é inoculado à matéria orgânica como cultura inicial com o objetivo de padronizar a fermentação e potencializar a geração de compostos bioativos (ácidos orgânicos, vitaminas, aminoácidos e fitohormônios), além de servir como veículo de inóculos microbianos benéficos, favorecendo o estabelecimento de relações simbióticas no solo (Footer, 2014; Olle, 2020).

O processo de produção do Bokashi difere substancialmente da compostagem aeróbica tradicional, pois enquanto a compostagem convencional é conduzida sob condições aeróbias, com predomínio de microrganismos termofílicos responsáveis pela oxidação da matéria

orgânica, elevação da temperatura e mineralização avançada dos resíduos (Insam e de Bertoldi, 2007), o Bokashi é obtido por um processo fermentativo, conduzido em condições predominantemente anaeróbias, no qual atuam os microrganismos inoculados (Higa e Parr, 1994).

Nessa fermentação, a temperatura se mantém na faixa mesofílica (20–40 °C), o tempo de maturação é reduzido (7–21 dias) e a matéria orgânica é parcialmente decomposta, preservando compostos funcionais e metabólitos microbianos bioativos, que continuam a se mineralizar após aplicação no solo. Assim, enquanto a compostagem tradicional se caracteriza pela higienização térmica e fornecimento de matéria orgânica estabilizada, o Bokashi atua também como bioinoculante, fornecendo microrganismos vivos e estimulando a microbiota edáfica benéfica (Yamada e Xu, 2000; Insam e de Bertoldi, 2007; Bernal, Albuquerque e Moral, 2009).

Segundo Footer (2014), a “compostagem” com Bokashi é, na verdade, um processo fermentativo, não o processo oxidativo tradicionalmente associado à compostagem. O autor descreve o processo como “a produção de substâncias úteis (álcool, aminoácidos, ácidos orgânicos e substâncias antioxidantes) e subprodutos capazes de suprimir micróbios que causam putrefação da matéria orgânica e doenças em plantas, por meio do metabolismo de microrganismos benéficos”. Esses microrganismos ainda conferem aos bioinsumos elevada eficiência funcional, seja na mineralização de nutrientes, na promoção de interações benéficas na rizosfera e na supressão de fitopatógenos (Higa e Parr, 1994; Compant *et al.*, 2005).

Os autores Siqueira e Siqueira (2013) corroboram essa afirmativa, apontando que a fermentação controlada gera um ambiente propício à multiplicação de comunidades microbianas funcionalmente ativas e de interesse agrícola, que uma vez aplicadas ao solo ou às plantas, colaboram para a melhoria da qualidade física (proporcionando a formação de agregados, aumentando a capacidade do solo de armazenar água e drenar o excesso, minimizando os riscos da erosão), química (diminuindo as perdas por lixiviação e promovendo maior disponibilização de nutrientes a partir da fermentação da matéria orgânica) e sanitária (pela diminuição das populações de fitopatógenos do solo).

Portanto o Bokashi é uma ferramenta que articula princípios ecológicos com práticas agrícolas, pois, além de fornecer macro e micronutrientes em formas biodisponíveis, atua como veículo de microrganismos benéficos (Andrade, 2011). No solo, principalmente em áreas potencialmente degradadas, a introdução da microbiota associada à matéria orgânica pode contribuir com o aumento de produtividade pela promoção de serviços ecossistêmicos prestados pelos microrganismos (Higa e Parr, 1994; Primavesi, 2006).

Segundo Goulart (2020), o Bokashi tem sido empregado principalmente na olericultura orgânica, uma vez que esse setor agrícola demanda insumos que aliem fornecimento contínuo de nutrientes sem deixar de ser condizente com a legislação orgânica, que proíbe o uso de fertilizantes químicos sintéticos. Ainda segundo o autor, por se tratar de um fertilizante orgânico, rico em microrganismos benéficos e metabólitos bioativos, o Bokashi promove a atividade enzimática no solo, o que leva à uma rápida disponibilização de nutrientes, favorece a ciclagem de nutrientes e contribui para o equilíbrio da microbiota rizosférica, aspectos fundamentais em sistemas sem o uso de agroquímicos de síntese. Além disso, sua aplicação frequente pode atender às exigências nutricionais elevadas e cíclicas das hortaliças, culturas de ciclo curto que necessitam de reposição constante de nutrientes em formas prontamente assimiláveis (Yamada e Xu, 2000; Oliveira, 2015; Olle, 2020).

Inoculantes comerciais à base de EMs consistem em consórcios microbianos formulados como culturas iniciadoras, destinados a acelerar processos fermentativos em diferentes matrizes orgânicas, incluindo a produção de Bokashi. Esses consórcios microbianos atuam como inóculos padronizados, introduzindo uma comunidade funcional capaz de induzir rapidamente a fermentação láctica. Como consequência, ocorrem a redução do pH do substrato e a produção de ácidos orgânicos, o que promove a estabilização do material, inibindo processos de putrefação e o desenvolvimento de microrganismos deterioradores. Além disso, os EMs podem contribuir para a síntese de metabólitos bioativos, como bacteriocinas, enzimas e vitaminas, que exercem efeitos benéficos sobre a qualidade do biofertilizante e potencialmente sobre a saúde das plantas e do solo (Higa e Parr, 1994; Xu, 2001; Joshi *et al.*, 2019)

Formulações clássicas incluem bactérias ácido-láticas (BAL) (*Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Leuconostoc* spp.), responsáveis pela fermentação láctica, redução do pH e inibição de patógenos por produção de ácidos orgânicos (Compant *et al.*, 2005); bactérias fotossintéticas (especialmente roxas não sulfurosas, como *Rhodospseudomonas* spp.), que participam da fixação de nitrogênio e produção de substâncias bioativas (Olle, 2020); bactérias promotoras do crescimento vegetal, que atuam na fixação de N₂, solubilização de fósforo, supressão de patógenos, produção de auxinas e sideróforos, incluem *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium* spp. (Compant *et al.*, 2005; Glick, 2020); leveduras (*Saccharomyces* spp., *Candida* spp.), produtoras de vitaminas, aminoácidos e fatores de crescimento, além de participarem da fermentação alcoólica (Fleet, 2007); actinobactérias (*Streptomyces* spp. e correlatas), produtoras de antibióticos naturais e enzimas hidrolíticas, importantes para a decomposição de compostos complexos (Chater, 2016) e fungos filamentosos (*Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. e *Mucor* spp.), degradadores de

polímeros complexos (celulose, hemicelulose, lignina), que aceleram a decomposição da matéria orgânica e atuam no biocontrole (Harman, 2000).

Apesar de existirem no mercado várias estirpes de microrganismos e produtos comerciais à base de EM de comprovada eficiência e que garantem maior reprodutibilidade nos bioinsumos, muitos pequenos produtores não têm acesso a esses produtos, como inoculantes ou consórcios microbianos, devido a uma série de fatores, como a falta de informação técnica, baixa disponibilidade no mercado local, custos relativamente altos em comparação aos insumos químicos subsidiados, ausência de assistência técnica contínua e desconfiança quanto à eficácia. Além disso, a cadeia de distribuição de bioinsumos ainda é pouco estruturada em muitas regiões, concentrando-se em polos agrícolas maiores, o que limita o acesso em áreas rurais mais isoladas (Sambuichi, Policarpo e Alves, 2024).

No entanto, uma das principais características deste biofertilizante é que sua confecção costuma ser feita de forma artesanal e até mesmo empírica, por meio do uso de microrganismos nativos para a inoculação do composto. Termos análogos incluem microrganismos indígenas, ou ainda, microrganismos benéficos. A prática conhecida como captura de microrganismos eficientes (EMs), geralmente realizada com arroz cozido, farelos ou outros substratos simples dispostos sob a serapilheira, tem raízes em saberes tradicionais e populares de agricultores, especialmente em contextos asiáticos (como no Japão, na Coreia e nas Filipinas) e também em práticas agroecológicas difundidas na América Latina. Esses conhecimentos locais decorrem da observação empírica de que a serapilheira de florestas preservadas abriga uma microbiota diversificada e funcional, capaz de promover a saúde do solo e o vigor das plantas.

Essa interface entre o conhecimento tradicional e a ciência agroecológica é frequentemente destacada como uma das bases do uso de EM e de Bokashi. Higa (1998) já havia relatado que o desenvolvimento do conceito de *Effective Microorganisms* se inspirou em práticas locais de fermentação e manejo biológico de resíduos. No Brasil, autores como Altieri (2012) e Siqueira e Siqueira (2013) ressaltam que a agroecologia valoriza e incorpora os saberes tradicionais, incluindo a coleta e multiplicação de microrganismos nativos como parte da construção de sistemas agrícolas mais sustentáveis.

Outras fontes de inóculos para a produção de compostos fermentados são obtidas através da coleta e multiplicação de microrganismos oriundos de diversas fontes alternativas, pois estes ocorrem naturalmente em certos ambientes, como em solos saudáveis; preparados de raízes noduladas; líquidos de compostagens; fermentados de grãos cozidos ou frutas, onde há riqueza de microbiota de interesse (Oliveira, 2015). Um estudo de Siqueira e Siqueira (2013) menciona que outra fonte de inóculo pode ser obtida pelo Kefir, por conter colônias de bactérias lácticas

e leveduras.

O autor Footer (2014), levanta a ideia de que a composição do consórcio microbiano da formulação EM funciona principalmente em função dos grupos principais (bactérias roxas não sulfurosas, bactérias ácido-láticas, bactérias fotossintetizantes, fungos benéficos, leveduras e actinomicetos) que iniciam a fermentação. A premissa proposta por Dr. Higa enfatiza que não é a combinação exata ou a proporção de microrganismos que torna o EM funcional, mas o fato de que os microrganismos trabalham juntos como um grupo, apoiando-se mutuamente e alimentando-se uns dos outros, de modo que nenhuma espécie se torna protagonista, mas tornando o conjunto em si forte e adaptável. Essa sinergia e diversidade conferem ao consórcio microbiano a capacidade de se adaptar a uma gama mais ampla de condições ambientais, além de permitir aos microrganismos que, individualmente, seriam incapazes de sobreviver a serem usados com sucesso no consórcio. Isso atesta o poder de ter esses micróbios operando e agindo em um consórcio, em vez de individualmente (Higa, 1996)

As fontes orgânicas que servirão de substrato e de fonte de nutrientes também podem ser adaptadas à realidade de cada produtor. Substratos como farelos de trigo e mamona têm ganhado destaque nesse sentido, pois desempenham papéis fundamentais como fontes de energia e nutrientes, além de oferecer suporte físico ao desenvolvimento e ao metabolismo da microbiota fermentativa. Cada um desses ingredientes contribui de forma distinta, mas complementar, para o processo de fermentação, dependendo do tipo de Bokashi adotado (Goulart, 2020; González-Rodríguez *et al.*, 2023).

O farelo de trigo é uma fonte rica em carboidratos complexos (como amido e celulose), além de conter proteínas, fibras, minerais e vitaminas do complexo B. Quando associado a outros ingredientes energéticos da mistura, como melaço ou açúcar, atua como meio de cultura para microrganismos, estimulando sua multiplicação e a produção de ácidos orgânicos, enzimas e metabólitos bioativos, além de ajudar na estrutura física do composto, favorecendo aeração e controle da umidade (Pian, 2019; Goulart, 2020).

Já o farelo de mamona é particularmente valioso por ser rico em nitrogênio orgânico, com teor elevado de proteínas (em torno de 5 a 6% N), o que o torna um insumo de alto valor como fonte de nitrogênio para os microrganismos e para as plantas. Possui também compostos secundários, como a ricina e outras substâncias com potencial antimicrobiano e bioestimulante, que podem modular a composição microbiana do Bokashi, além de contribuir para a mineralização do N durante a fermentação. Quando bem fermentado, a toxicidade natural da mamona é degradada, tornando o composto seguro e eficiente como biofertilizante (Moreira e Siqueira, 2006; Goulart, 2020).

A combinação desses dois insumos promove um equilíbrio entre a relação C/N (carbono/nitrogênio), fundamental para a fermentação eficiente e para a estabilização da matéria orgânica. Um Bokashi com C/N adequado favorece a multiplicação de microrganismos benéficos, como bactérias fixadoras de nitrogênio, solubilizadoras de fósforo, produtoras de fitohormônios e indutoras de resistência sistêmica (Glick, 2020). Segundo Goulart (2020), outro insumo rico em N que pode ser utilizado nas formulações de compostos fermentados é o farelo da fitomassa das fabáceas, vantajosa estratégia pois pode ser produzida especificamente nas dependências da propriedade agrícola, fato que pode contribuir para a redução de custos quanto a aquisição de insumos, principalmente os de elevados teores de N.

Portanto, a integração dos conhecimentos da ecologia microbiana do solo, das interações biológicas e dos processos fermentativos pode não apenas preencher lacunas técnicas na produção de compostos como o Bokashi, mas também conduzir a agricultura para modelos regenerativos, de baixa dependência de insumos sintéticos e combustíveis fósseis, alinhados aos princípios da sustentabilidade e da saúde dos agroecossistemas tropicais (Altieri, 2012).

Nesse sentido, a utilização de microrganismos nativos na produção de compostos orgânicos fermentados, têm se mostrado uma estratégia promissora na agricultura sustentável, especialmente por sua capacidade de melhorar a qualidade do solo. Estudos recentes demonstram que, quando bem formulados, esses compostos podem ter impactos significativos tanto na produtividade agrícola quanto na sustentabilidade dos sistemas de cultivo (Quiroz e Céspedes, 2019; González-Rodríguez *et al.*, 2023).

No entanto, apesar dos avanços no uso desses compostos, ainda são escassos os estudos que detalham a dinâmica populacional microbiana durante o processo de fermentação, bem como a sua persistência e funcionalidade após a aplicação no campo, principalmente quando são utilizados microrganismos nativos. Entender quais grupos microbianos prevalecem, como interagem entre si e com a matriz orgânica, e como se adaptam às condições do solo receptor, constitui uma fronteira científica que pode aprimorar significativamente a eficiência desses bioinsumos (Compant *et al.*, 2005; Mendes *et al.*, 2011).

Alguns estudos apontam limitações no uso de microrganismos nativos, especialmente quando não há controle adequado das condições de fermentação ou quando há desequilíbrio na composição dos materiais utilizados. Quiroz e Céspedes (2019) afirmam que a fermentação do Bokashi requer temperatura e umidade controlada, caso contrário pode ocorrer o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e putrefativos, que competem com os microrganismos benéficos desejáveis.

Em outro estudo, González-Rodríguez *et al.*, (2023) salientam que a ausência de análise

de qualidade do produto final como avaliação laboratorial de pH e condutividade elétrica, o Bokashi mal elaborado pode apresentar baixa concentração de nutrientes disponíveis, e ainda pode apresentar fitotoxicidade quando aplicado em excesso. A falta de repetibilidade e padronização também é uma limitação importante, visto que cada lote pode variar significativamente, devido à sensibilidade dos processos fermentativos e a variabilidade de microrganismos inoculados. Isso limita a reprodutibilidade dos resultados e a comparação científica dos efeitos agrônômicos entre diferentes áreas, culturas e condições edafoclimáticas.

Esses dados revelam que, embora os compostos fermentados produzidos com microrganismos nativos apresentem alto potencial, seu sucesso depende de uma série de fatores, como os microrganismos utilizados na inoculação, o equilíbrio dos materiais orgânicos utilizados e o controle das condições físico-químicas da fermentação. Além disso, a escassez de estudos que acompanhem a dinâmica populacional dos microrganismos ao longo do processo de fermentação representa uma lacuna crítica no desenvolvimento desses bioinsumos.

2.4. Produção de mudas florestais nativas

O Brasil é um país de dimensões continentais, e a produção de mudas florestais têm um papel fundamental em atividades relacionadas à recomposição da vegetação nativa e na restauração ecológica de ecossistemas degradados. A promulgação da Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012, conhecida como o novo Código Florestal Brasileiro, representou um marco regulatório para a conciliação entre produção agrícola e conservação ambiental.

Um dos pilares dessa legislação é a obrigatoriedade de recuperação de áreas de Preservação Permanente e Reservas Legais, especialmente em imóveis rurais que desmataram além dos limites legais antes de 2008. Essa exigência criou uma demanda crescente por mudas de espécies nativas adaptadas aos diferentes biomas brasileiros, para que os proprietários possam cumprir suas obrigações legais de recomposição da vegetação nativa (BRASIL, 2012).

A biotecnologia, a micropropagação e o melhoramento genético têm se consolidado como estratégias eficazes para a produção massiva de mudas e clones comerciais, permitindo a formação de plantios homogêneos, com alto vigor e desenvolvimento acelerado. Essas tecnologias viabilizam um *stand* de plantas padronizado, condição fundamental para atender às exigências da silvicultura intensiva. Como consequência, viveiros comerciais tendem a priorizar espécies exóticas de rápido crescimento, especialmente *Eucalyptus* spp., cuja cadeia produtiva apresenta demanda consolidada e retorno econômico imediato. Essa priorização reflete uma lógica predominantemente voltada aos interesses da indústria em detrimento da ampliação da produção de espécies nativas de alto valor ecológico para fins de restauração

(Wendling, Trueman e Xavier, 2014; Brancalion e Holl, 2020).

Detentor de uma das maiores biodiversidades florísticas do planeta, o Brasil apresenta elevado potencial para a restauração ecológica com elevada diversidade de espécies nativas. No entanto, a produção de mudas nativas no Brasil enfrenta múltiplas limitações: desde questões técnicas (como a falta de padronização nos protocolos de germinação, manejo, adubação e controle fitossanitário) até fatores estruturais e institucionais, como distribuição desigual de viveiros e ausência de políticas públicas robustas. Essas barreiras dificultam a viabilidade econômica e a escalabilidade de viveiros nativos, especialmente em biomas como Cerrado e Amazônia. Essas problemáticas têm sido destacadas em levantamentos nacionais (Alonso, 2013; IPEA, 2015; Freire, 2024), em estudos-práticas de educação ambiental (Rodrigues, Silva e Oliveira, 2024) e em manuais técnicos de silvicultura (Dionísio *et al.*, 2025).

Essa assimetria compromete a oferta de mudas adaptadas às condições locais e com diversidade genética e funcional compatível com as metas de restauração em larga escala. Além disso, a diversidade de espécies efetivamente produzidas é muito inferior à riqueza florística nativa brasileira, dificultando a implementação de projetos de restauração com elevada diversidade funcional e estrutural, como preconizado pelo Código Florestal (Rodrigues *et al.*, 2009).

A produção de mudas em viveiros florestais brasileiros caracteriza-se por uma baixa diversidade taxonômica, marcada pela predominância de espécies exóticas ou de nativas de fácil propagação, geralmente pioneiras e com interesse econômico imediato (madeireiro, ornamental ou de rápido crescimento) (Alonso, 2013). Essa simplificação compromete a restauração da complexidade estrutural e funcional dos ecossistemas. Estima-se que, do total de mais de 8.000 espécies arbóreas nativas do Brasil, menos de 400 sejam cultivadas com alguma frequência em viveiros, representando cerca de apenas 5% da flora arbórea nativa do país (IPEA, 2015). Essa baixa representatividade limita a diversidade funcional dos plantios de restauração, dificultando a recuperação de processos ecológicos essenciais, como a oferta de recursos para a fauna e resiliência a distúrbios ambientais (Brancalion *et al.*, 2012).

Outra limitação é que a maior parte da produção de mudas nativas é feita por viveiros de pequeno porte, com baixa mecanização e infraestrutura limitada, o que gera variabilidade na qualidade e inviabiliza o atendimento de grandes projetos de restauração (IPEA, 2015). A falta de padronização no uso de substratos e recipientes também impacta diretamente a qualidade da muda e sua sobrevivência no campo. A produção de mudas nativas ainda enfrenta a baixa valorização da atividade por políticas de fomento e financiamento. A ausência de subsídios e incentivos fiscais reduz a atratividade econômica da atividade (Rodrigues *et al.*, 2009). Além

disso, a demanda por mudas nativas frequentemente está atrelada a projetos específicos, como compensações ambientais ou programas públicos, e não apresenta regularidade de mercado, como ocorre com espécies comerciais.

Os custos com coleta, transporte de sementes, produção e manutenção das mudas até o plantio também oneram a atividade, especialmente em projetos em áreas remotas ou de difícil acesso. Além disso, a demanda ainda é sazonal e incerta. Para finalizar, o controle de pragas e doenças em viveiros de nativas também é desafiador, pela diversidade de espécies e pela ausência de defensivos registrados para esse uso (Carvalho, 2006; Lemes, 2021).

Apesar dessas limitações, diversas iniciativas vêm apontando caminhos promissores para o fortalecimento da cadeia produtiva de mudas. A adoção de viveiros como espaços de educação ambiental, o uso do resgate de plântulas da regeneração natural e a valorização do conhecimento ecológico tradicional são práticas que contribuem para ampliar a diversidade e resiliência das mudas produzidas (Viani e Rodrigues, 2007; Calegari *et al.*, 2011). Do ponto de vista técnico, avanços como a adoção de substratos mais sustentáveis e econômicos, a automação de sistemas de irrigação e a aplicação de bioinsumos, como microrganismos promotores do crescimento, podem aumentar a eficiência e a qualidade das mudas.

Nesse contexto, a adoção de estratégias agroecológicas na produção de mudas florestais pode ser uma alternativa promissora para elevar a qualidade fisiológica das plantas e contribuir com a recuperação de solos degradados. Dentre essas estratégias, destaca-se o uso de compostos fermentados, como o Bokashi, que alia o fornecimento de nutrientes à inoculação de microrganismos benéficos, com potencial para promover a saúde do substrato e estimular o crescimento radicular das mudas (Oliveira, 2015; Goulart, 2020). A incorporação desse bioinsumo ao substrato dos viveiros pode atuar como veículo de inóculo microbiano, contribuindo para enriquecer a rizosfera das plantas desde a fase inicial de produção, o que é especialmente relevante para a posterior introdução em áreas degradadas, onde o solo apresenta microbiota simplificada, baixa fertilidade e estrutura física comprometida (Hungria *et al.*, 2010).

Desse modo a inoculação prévia com consórcios microbianos benéficos pode favorecer a formação de simbioses funcionais e contribuir para o restabelecimento das cadeias tróficas do solo (Compant *et al.*, 2005; Mendes *et al.*, 2011). Assim, a utilização de Bokashi como condicionador biológico de substratos em viveiros florestais representa uma estratégia sinérgica entre a produção de mudas de alta qualidade e a reintrodução de biodiversidade funcional em ecossistemas em processo de restauração.

2.5. Leguminosas florestais

As espécies florestais da família Fabaceae são caracterizadas como espécies facilitadoras no processo de regeneração ambiental, em função de sua plasticidade ecológica, tolerância à toxicidade por alumínio (Al^{3+}) e capacidade de associação com microrganismos benéficos do solo, sendo reconhecidas como componentes estratégicos em projetos de restauração ecológica, reflorestamento e sistemas agroflorestais (SAFs) (Dias *et al.*, 1995; Schroth *et al.*, 2004; Espindola *et al.*, 2005).

Uma das principais contribuições dessas espécies está relacionada à simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, principalmente dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, que convertem o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas, reduzindo a dependência de fertilizantes nitrogenados e promovendo o enriquecimento natural do solo (Moreira e Siqueira, 2006).

Além da FBN, as leguminosas são reconhecidas por sua capacidade de acumular biomassa rapidamente, tolerar solos de baixa fertilidade e compactação, atuar na recuperação da estrutura física e química do solo e proporcionar cobertura vegetal densa, que reduz a erosão e contribui para a conservação da umidade (Carvalho, 2006; Silva *et al.*, 2013; Gei *et al.*, 2018). Por apresentarem copa ampla e sistema radicular vigoroso, muitas dessas espécies também exercem influência positiva sobre o microclima local, contribuindo com sombreamento e proteção contra a radiação solar direta, o que favorece a regeneração natural de espécies secundárias e clímax (Rodrigues *et al.*, 2009).

Em sistemas agroflorestais, as leguminosas arbóreas são amplamente utilizadas como espécies de serviço, com funções agroecológicas que incluem a ciclagem e a mobilização de nutrientes por meio da adubação verde, o fornecimento de matéria orgânica, o suporte a trepadeiras, além do uso como fonte de forragem, madeira, sombra e alimentação animal e humana. Espécies como *Inga edulis*, *Gliricidia sepium*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Leucaena leucocephala* e *Clitoria fairchildiana* são frequentemente utilizadas por apresentarem rápido crescimento, alta rusticidade e valor multipropósito. (Schroth *et al.*, 2004; Espindola *et al.*, 2005).

Nos ambientes degradados, onde há severa perda da microbiota funcional (Macedo *et al.*, 2022; Tomazelli *et al.*, 2024), a introdução de leguminosas pode acelerar o processo de sucessão ecológica, atuando como espécies facilitadoras, criando condições mais favoráveis para o estabelecimento de outras espécies vegetais, inclusive de difícil regeneração natural (Reis *et al.*, 2010; Gei *et al.*, 2018). Do ponto de vista operacional, essas espécies são também vantajosas para viveiros florestais, pois, em geral, apresentam boa produção de sementes,

facilidade de germinação e alta taxa de sobrevivência no campo, características que as tornam ideais para projetos em larga escala e com restrições orçamentárias.

No entanto, é necessário avançar em estudos sobre sua ecologia funcional, diversidade genética regional e interações simbióticas, a fim de ampliar seu uso com base em critérios técnicos e ecológicos mais robustos. Ainda existem muitos gargalos científicos, técnicos e operacionais que necessitam ser superados para o avanço do desenvolvimento dessas espécies em programas de restauração ecológica, entre eles aumentar a variedade, uma vez que a maioria dos projetos utiliza um número restrito de espécies leguminosas nativas (Carvalho, 2006; Dubeux *et al.*, 2017). Isso ocorre porque ainda há pouca informação científica sobre as exigências ecológicas, estratégias de regeneração natural, resiliência ao estresse hídrico, interação com microrganismos simbiontes e desempenho de outras espécies promissoras, principalmente as nativas do Brasil (Rodrigues *et al.*, 2009).

Outras limitações envolvem a coleta de sementes que ainda é feita de forma oportunista e muitas vezes em populações pequenas, o que compromete a variabilidade genética das mudas e pode afetar a resiliência das espécies em campo (Melo *et al.*, 2013). Também faltam bancos de sementes regionais estruturados, germoplasma domesticado, bem como protocolos de produção de mudas com rastreabilidade genética (Dubeux *et al.*, 2017).

Também são escassas as informações sobre manejo silvicultural de leguminosas arbóreas em sistemas de restauração, como espaçamento ideal, podas, consórcios recomendados, comportamento frente a distúrbios e papel em diferentes estágios sucessionais. Muitos projetos ainda aplicam modelos generalistas, sem considerar a funcionalidade específica das leguminosas. Muitas leguminosas arbóreas possuem alto potencial madeireiro, forrageiro, ornamental, apícola, medicinal, mas essas funções ainda são subexploradas (Dubeux *et al.*, 2017). A ausência de cadeias produtivas estruturadas limita o incentivo econômico à sua plantação em áreas privadas, restringindo seu uso quase exclusivamente a projetos financiados por políticas públicas ou compensações legais (Rodrigues *et al.*, 2009; Melo *et al.*, 2013).

A ausência de integração entre pesquisadores, viveiristas, produtores, restauradores e formuladores de políticas públicas dificulta a transferência de conhecimento, a adoção de tecnologias inovadoras (como inoculantes microbianos e sementes geneticamente rastreadas), bem como a construção de políticas efetivas de fomento à produção e uso de leguminosas nativas. Em termos de perspectivas futuras, destaca-se a necessidade de ampliar pesquisas sobre germoplasma adaptado localmente, práticas padronizadas de manejo e inoculação, além de fortalecer cadeias de produção de mudas com maior diversidade de espécies. Essas ações são fundamentais para consolidar e expandir o uso das leguminosas florestais em restauração

ecológica e silvicultura sustentável.

2.6. *Mimosa caesalpiniiifolia*

A espécie florestal *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. é popularmente conhecida como sabiá ou sansão-do-campo, e pertence ao filo Tracheophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae e gênero *Mimosa* (LPWG, 2017). É uma importante nativa pioneira da Caatinga do Nordeste, mas atualmente é considerada endêmica no país, ocorrendo desde o Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, até o Sul do Brasil, tanto em formações primárias quanto secundárias, e está presente nos biomas Amazônia, Caatinga, Mata Atlântica, Cerrado e Floresta Ombrófila (Coradin, Camillo e Pareyn, 2018).

É uma espécie pioneira que produz madeira para diferentes finalidades, com potencial ornamental e para reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas e à preservação permanente (Lorenzi, 1992; Lima, 1996). Caracterizada por sua rusticidade, é capaz de se adaptar a ambientes degradados, com baixa fertilidade e umidade do solo, alta tolerância a secas prolongadas e a altas temperaturas, rápido crescimento e boa capacidade de regeneração, porém não tolera baixas temperaturas (Carvalho, 2006; Fernandes *et al.*, 2023).

Essas características favorecem seu desenvolvimento em ambientes onde a vegetação é totalmente suprimida, apresentando, nesse caso, potencial invasor e, com grandes produções de sementes com dormência que permanecem viáveis, podendo abastecer o banco de sementes no solo por vários anos; por isso, é recomendada cautela no seu manejo e cultivo (Carvalho, 2006; Coradin, Camillo e Pareyn, 2018).

O sabiá ocorre, naturalmente, em terrenos profundos, principalmente em solos de textura arenosa e por sua baixa exigência em fertilidade e umidade dos solos, desenvolve-se bem, inclusive em áreas muito degradadas, onde tenha havido movimentação de terra e exposição do subsolo (Carvalho, 2006). É uma espécie multifuncional e de rápido crescimento, podendo alcançar 4 m de altura em 2 anos de idade, características que a tornam uma boa opção para ser usada em sistemas agroflorestais e silvipastoris, como adubo verde, forragem, restauração de áreas degradadas, formação de cercas vivas, moirões vivos e quebra-ventos (Oliveira, Lima e Costa, 1998; Matos, 2005; Rodrigues *et al.*, 2009).

Apresenta folhas compostas, alternas, bipinadas, geralmente com seis pinas opostas, cada uma provida de quatro a oito folíolos glabros (Lorenzi, 1992). O fuste é revestido de ritidoma que desprende-se por rimas longitudinais em lâminas estreitas delgadas. As flores são melíferas, alvas, em espigas pequenas, com odor característico (Lima, 1996). O fruto desta

espécie é um craspédio glabro e sublenhoso, de cor castanho, com o pericarpo segmentado formando artículos monospermicos deiscentes.

O craspédio se caracteriza pela presença do replum, margem persistente que se destaca das faces do fruto, como uma moldura (Lima, 1996); as sementes apresentam-se variando em forma, de obovóide a oblonga e orbicular, dura e lisa, com 5,1 a 5,9 mm de comprimento por 4,4 a 6,3 mm de largura, e 1,3 a 1,8 mm de espessura; o tegumento é castanho-claro a marrom, e a superfície é lisa lustrosa, com presença de pleurograma em forma de ferradura. O número de sementes por quilo, pode variar de 11.000 a 33.000 (Carvalho, 2006).

Sua madeira é explorada devido às propriedades físico-mecânicas, sendo utilizada para a produção de estacas, portas e moirões, lenha e carvão. Mesmo não recebendo nenhum tratamento, sua madeira com alto peso específico ($0,86\text{g/cm}^3$) apresenta vida útil acima de 20 anos. Os plantios aos 5 anos chegam a produzir cerca de 5000 estacas/ha (Coradin, Camillo e Pareyn, 2018). Os povoamentos de sabiá geralmente são explorados pelo sistema seletivo e de talhadia. Essas operações são executadas para promover o maior desenvolvimento das hastes. Possui hábito de crescimento cespitoso, com o número de ramificações desde a base variando de três à oito, e associado à sua boa capacidade de rebrota, gera alta produção de madeira. O tronco geralmente é dotado de acúleos em maior ou menor grau, mas podendo ser inerte (Carvalho, 2006).

A adoção da *Mimosa caesalpiniiifolia* como forrageira tem sido amplamente estudada, revelando seu potencial como recurso alimentar para bovinos, caprinos e ovinos, especialmente em sistemas silvipastoris e em pastagens do semiárido (Primo *et al.*, 2018). Segundo Lima (1996) as folhas do sabiá são de alto valor forrageiro, sendo recursos nutricionais valiosos em épocas críticas, como os períodos de estiagem. Estudos de Vieira *et al.* (2005) mostraram que a composição química da forragem de sabiá pode variar entre períodos de chuva e seca, apresentando teores médios de 27,6 % de proteína bruta (PB) na estação chuvosa, caindo para 19,3 % na seca.

As raízes do sabiá são do tipo axial, com raízes secundárias longas, finas, bem ramificadas, castanho-clara, com muitos nódulos bacterianos presentes em todo o conjunto. Os nódulos apresentam crescimento irregular e baixa atividade da nitrogenase (Faria *et al.*, 1984; Carvalho, 2006). Eles são formados devido à capacidade do sabiá em estabelecer relações simbióticas com bactérias do gênero *Rhizobium*. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), como *Rhizophagus clarus*, também podem estar presentes, características que contribuem para sua capacidade de se estabelecer em áreas degradadas, melhorando as condições do solo e reforçando sua competitividade em campo (Soares *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2023). Os

rizóbios fixam nitrogênio atmosférico e o fornecem à planta, enquanto os FMAs auxiliam na absorção de água e nutrientes minerais, em especial o fósforo (Faria *et al.*, 1984).

Leguminosas arbóreas são conhecidas por possuírem a capacidade de aumentar a disponibilidade de nitrogênio sob sua copa, elevando principalmente o teor deste nutriente nas espécies herbáceas que crescem nesta área. Segundo Carvalho (2006), esse efeito pode ser observado visualmente em algumas épocas do ano, como nos períodos de estiagem, quando as forrageiras que crescem sob árvores de sabiá apresentam-se bem mais verdes do que aquelas fora da influência da copa.

Em projetos de restauração ambiental, reflorestamento e implantação de sistemas agroflorestais (SAFs), recomenda-se o sabiá como consórcio com essências arbóreas de maior valor, pois essa espécie cria um microclima propício ao melhor desenvolvimento de outras espécies. Os autores Costa (1983) e Andrade-Lima (1989) a descrevem como ótima espécie coadjuvante, pois quando plantada em consorciação, favorece o crescimento das espécies mais valiosas. Como planta tolerante à luz e de rápido crescimento, é ideal para plantios heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas e de preservação permanente. Sua capacidade de rebrota e tolerância a podas drásticas a tornam uma excelente fornecedora de biomassa para compor serapilheira e cobertura, contribuindo para o ciclo de nutrientes no solo (Costa, Andrade e Faria, 1997).

A propagação é geralmente feita por sementes, que requerem escarificação para superar a dormência tegumentar (Carvalho, 2006). Segundo Soares *et al.* (2020), o uso de substratos enriquecidos e inoculação com rizóbios nativos pode aumentar significativamente o vigor e o desenvolvimento das mudas. A utilização de Bokashi e de outros compostos orgânicos como fonte de inóculo microbiano pode ser uma estratégia interessante para esse propósito, visando levar as mudas inoculadas ao campo para melhorar a microbiota associada e a sanidade das mudas.

Portanto, *M. caesalpinifolia* desempenha papel relevante na restauração ecológica, principalmente em áreas potencialmente degradadas. Sua capacidade de melhorar o solo, atrair polinizadores e atuar como espécie facilitadora para outras plantas torna-a estratégica em programas de recuperação ambiental e sistemas agroflorestais. Além disso, sua adaptação ao clima tropical seco aponta para sua relevância crescente em cenários de mudanças climáticas e desertificação (Rodrigues *et al.*, 2009).

REFERÊNCIAS

- Alonso, Jorge Makhoulouta (2013). **Análise dos viveiros e da legislação brasileira sobre sementes e mudas florestais nativas no estado do Rio de Janeiro**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/1321> Acesso em: 15 jul. 2025.
- Altieri, Miguel. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. 3.ed rev. ampl. - São Paulo, Rio de Janeiro : Expressão Popular, AS-PTA 2012. 400 p
- Altieri, Miguel A. e Nicholls, Clara I. (2020). **Agroecology: Challenges and opportunities for farming in the Anthropocene**. International Journal of Agriculture and Natural Resources. 47. 204-215. doi: 10.7764/ijanr.v47i3.2281.
- Andrade, F. C. A. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. Cuiabá: Ed. Triagem, 2011.
- Andrade-Lima, D. de. **Plantas das caatingas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciência, 1989. 243 p. Embrapa Semiárido
- Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, Subramanian S, Smith DL. **Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture**. Front Plant Sci. 2018 Oct 23;9:1473. doi: 10.3389/fpls.2018.01473. PMID: 30405652; PMCID: PMC6206271.
- Banerjee S, Walder F, Büchi L, Meyer M, Held AY, Gättinger A, Keller T, Charles R, van der Heijden MGA. **Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots**. ISME J. 2019 Jul;13(7):1722-1736. doi: 10.1038/s41396-019-0383-2. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30850707; PMCID: PMC6591126.
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). **Belowground biodiversity and ecosystem functioning**. Nature, 515, 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2010). **How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth—a critical assessment**. Advances in Agronomy, 108, 77-136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- Batista I, Machado DL, Correia MEF, Spinelli HM, Corá JE. **Soil macrofauna correlations with soil chemical and physical properties and crop sequences under no-tillage**. Rev Bras Cienc Solo. 2023;47:e0230006 <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20230006>
- Begon, M., Townsend, C. R., & Harper, J. L. (2007). **Ecology: From Individuals to Ecosystems**. Blackwell Publishing.
- Bender, S. F., Wagg, C., & van der Heijden, M. G. A. (2016). **An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability**. Trends in Ecology & Evolution, 31(6), 440–452. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.016>
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012). **The rhizosphere microbiome and plant health**. Trends in Plant Science, 17(8), 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Bernal, M. P., J.A. Albuquerque, J. A. e Moral, R. **Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment**. A review, Bioresource Technology, Volume 100, Issue 22, 2009, Pages 5444-5453, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>. Disponível em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408009917>) Acesso em: 22 mar.

2025.

Brancalion, Pedro & Broadbent, Eben & Miguel, Sergio de & Cardil, Adrián & Rosa, Marcos & Almeida, Catherine & Almeida, Danilo & Chakravarty, Shourish & Zhou 周沫, Mo & Gamarra, Javier & Liang, Jingjing & Crouzeilles, Renato & Hérault, Bruno & Aragão, Luiz & Silva, Carlos & Almeyda Zambrano, Angelica. (2020). **Emerging threats linking tropical deforestation and the COVID-19 pandemic**. Perspectives in Ecology and Conservation. 18. 10.1016/j.pecon.2020.09.006.

Brancalion, P. H. S., & Holl, K. D. (2020). **Guidance for successful tree planting initiatives**. Journal of Applied Ecology, 57 <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13725>

BRASIL. Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012. **Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa, e dá outras providências**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 28 de maio de 2012 Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2012/lei/112651.htm Acesso em: 13 mai. 2025

Brussaard, L., de Ruiter, P. C., & Brown, G. G. (2007). **Soil biodiversity for agricultural sustainability**. Agriculture, Ecosystems & Environment, 121(3), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.013>

Calegari, L. et al. **Produção de mudas de espécies arbóreas nativas em viveiro via resgate de plantas jovens**. Revista Brasileira de Ciências Ambientais, v. 55, p. 81–92, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622011000100005>.

Carvalho, J. O. M. de, Rodrigues, C. D. S. **Bokashi: composto fermentado para a melhoria da qualidade do solo**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2007. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/710116> Acesso em: 27 mar. 2025.

Carvalho, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, vol. 2 (2006). Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003-2014. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/305634> Acesso em: 14 mar. 2025.

Cassán, F., et al. (2020). **Azospirillum brasilense: Benefits for plant growth and yield**. In **Plant Microbiome: Stress Response** (pp. 167-180). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7754-4_9

Chamorro-Martínez YC, Torregroza-Espinosa AC, Moreno Pallares MI, Pinto Osorio D, Corrales Paternina A, Echeverría González A. **Soil macrofauna, mesofauna and microfauna and their relationship with soil quality in agricultural areas in northern Colombia: ecological implications**. Rev Bras Cienc Solo. 2022;46:e0210132. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20210132>

Chapin, F. S., Matson, P. A., & Vitousek, P. M. (2011). **Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology**. Springer.

Chater KF. **Streptomyces inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics**. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2006 May 29;361(1469):761-8. doi: 10.1098/rstb.2005.1758. PMID: 16627293; PMCID: PMC1609407.

Chesworth, Ward. (2006). **Encyclopedia of Soil Science**. AAS/Division for Extreme Solar Systems Abstracts. DOI:10.1007/978-1-4020-3995-9_323.

Ciricugno, A. et al. (2024). **Restoring soil biodiversity**. Current Biology, 34(9), R393–R398. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.02.035>

Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA 2005. **Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects**. Appl

Environ Microbiol 71:. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

Coradin, L.; Camillo, J.; Pareyn, F. G. C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. Brasília, DF: MMA, 2018. Cap. 5, p. 759-765. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1103458> Acesso em: 02 ago. 2025.

Costa, M. G. da. **O sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth)**. Areia: Universidade Federal da Paraíba, 1983. 16 p. (Boletim técnico, 4).

Costa, G. S.; Andrade, A. G.; Faria, S. M. **Aporte de nutrientes pela serrapilheira de *Mimosa caesalpiniaefolia* (sabiá) com seis anos de idade**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 3., 1997, Ouro Preto. Do substrato ao solo: trabalhos voluntários. Viçosa: Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Solos, 1997. p. 344-354.

Dacaëns, T. (2010). **Macroecological patterns in soil communities**. *Global Ecology and Biogeography*, 19(3), 287–302. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00517.x>

Derpsch, Rolf & Friedrich, Theodor. (2009). **Global Overview of Conservation Agriculture Adoption**. 4th World Congress on Conservation Agriculture Held on 4-7 February 2009 in New Delhi.

Dias, L. E., Franco, A. A., Campello, E., De Faria, S. M., & Da Silva, E. M. (1995). **Forest legumes: aspects related to nutrition and use in reclamation of degraded soils**. *BOSQUE*, 16(1), 121–127. Disponível em: <https://www.revistabosque.org/index.php/bosque/article/view/1257> DOI: 10.4206/bosque.1995.v16n1-15 Acesso em: 25 mai. 2025.

Dionísio, Luiz Fernandes Silva [et al.] 2025 **Produção de mudas de espécies florestais nativas** [recurso eletrônico] Ponta Grossa: Aya, 2025. doi: 10.47573/aya.5379.1.357

Döbereiner, J. **History and new perspectives of diazotrophs in association with nonleguminous plants**. *Symbiosis*, Rehovot, v. 13, p. 1-13, 1992

Dubeux JCB, Muir JP, Apolinário VX de O, Nair PKR, Lira M de A, Sollenberger LE. **Tree legumes: an underexploited resource in warm-climate silvopastures**. *R Bras Zootec* [Internet]. 2017 Aug;46(8):689–703. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000800010>. Acesso em: 09 jun. 2025.

Espindola, J. A. A., Guerra J. G. M., De-Polli, H., Almeida D. L., Abboud, A. C. S. **Adubação verde com leguminosas** / Embrapa Agrobiologia. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 49 p.:il.-ColeçãoSaber Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/117975> Acesso em: 23 jul. 2025.

Faria, S. M.; Franco, A. A.; Menandro, M. S.; Jesus, R. M.; Baitello, J. B.; Aguiar, O. T. de; Dobereiner, J. **Levantamento da nodulação de leguminosas florestais nativas na Região Sudeste do Brasil**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 19, p. 143-153, 1984.

Fernandes, M. M.; Silva, A. J.; Oliveira, C. M.; Oliveira, D. D. S.; Santos, C.; Araújo Filho, R. N.; Gomes Filho, R. R.; Fernandes, M. R. M. **Initial growth and ecophysiological aspects of forest legumes inoculated with mycorrhizal fungi in areas degraded by mining**. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 33, n. 3, e66202, p. 1-18, 2023. DOI 10.5902/1980509866202. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509866202>. Acesso em: 01 abr. 2025.

Fierer, N. (2017). **Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome**. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>

Fleet GH. **Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety**. Curr Opin Biotechnol. 2007 Apr;18(2):170-5. doi: 10.1016/j.copbio.2007.01.010. Epub 2007 Feb 1. PMID: 17275276.

Footer, Adam. **Bokashi Composting: Scraps to Soil in Weeks**. 1. ed. Londres: Author House, 2014. ISBN 978-0-86571-752-7

Fred, E. B., Baldwin, I. L., & McCoy, E. (1932). *Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants*. University of Wisconsin Press.

Freire JM, Romano IS, Souza MV dos SC de, Garofolo ACS, Silveira Filho TB. **Forest Seedlings Supply for Restoration of the Atlantic Forest in Rio de Janeiro, Brazil**. Floresta Ambient [Internet]. 2022;29(3):e20210058. Available from: <https://doi.org/10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0058> Acesso em: 17 jun. 2025.

Gei, M., Rozendaal, D.M.A., Poorter, L. et al. **Legume abundance along successional and rainfall gradients in Neotropical forests**. Nat Ecol Evol 2, 1104–1111 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0559-6>

Giller, Ken. (2019). Sanchez, P. A. **Properties and management of soils in the tropics**. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, 2019. xvii + 666 pp. £79.99, hardback. ISBN: 9781107176058. European Journal of Soil Science. 71. 967-969. 10.1111/ejss.12897.

Giller KE, Hijbeek R, Andersson JA, Sumberg J. **Regenerative Agriculture: An agronomic perspective**. Outlook Agric. 2021 Mar;50(1):13-25. doi: 10.1177/0030727021998063. Epub 2021 Mar 2. PMID: 33867585; PMCID: PMC8023280.

Glick, B. R. **Beneficial Plant–Bacterial Interactions**. Springer. Glick, Bernard. (2020). Beneficial Plant-Bacterial Interactions. DOI:10.1007/978-3-319-13921-0.

Glick, B. R. (2014). **Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world**. Microbiological Research, 169(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>

Gliessman, Stephen R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável** - Porto Alegre : Ed. Universidade/UFRGS, 2000 CDU 631.58/584.9:634.0.1

Gomes, E. A. et al. **Microrganismos promotores do crescimento de plantas— Sete Lagoas** : Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 51 p. (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 208). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1063799> Acesso em: 14 jun. 2025.

González-Rodríguez, Gabriela & Preciado-Rangel, Pablo & Christian, Lizárraga-Bernal & Palomeque, Bernardo. (2023). **Bibliometric analysis of scientific literature on the Bokashi organic fertilizer: alternative in sustainable agriculture**. BIOtecnica. 25. 181-193. 10.18633/biotecnica.v25i2.1848.

Goulart, J. M. (2020) **Estratégias de produção in situ de biomassa de leguminosas arbustivas e arbórea para a confecção de compostos fermentados empregados na fertilização de cenoura e alface consorciadas em cultivo orgânico**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Goulart J. M., Guerra, J. G. M., Almeida, L. H., Araújo E. S, Rumjanek N. G., Espindola J. A. A., Andrade, K. M., Aguiar, L. A. e Rosa, R. C. C. (2024) **Compostos fermentados do tipo Bokashi: formulações, fontes de inóculo, indicadores de qualidade e estimativa do custo de produção**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brasil. ISSN 1676-6709

Harman G. E. (2000). **Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzium* T-22**. Plant Disease - PLANT DIS. 84. 377-393. 10.1094/PDIS.2000.84.4.377.

Herridge, D. F., Peoples, M. B., & Boddey, R. M. (2008). **Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems**. Plant and Soil, 311(1), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9668-3>

Higa, T., & Parr, J. F. (1994). **Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment**. International Nature Farming Research Center, Atami, Japan.

Higa, T. (1996) **An Earth Saving Revolution: A means to resolve our world's problems through Effective Microorganisms (EM)**. Sunmark Publishing Inc. 1996. 336 p. ISBN-10: 4763191571 Second Edition

Hungria, M., & Mendes, I. C. (2015). **Nitrogen fixation with soybean: The perfect symbiosis?** In: Biological Nitrogen Fixation (pp. 1005–1019). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119053095.ch96>

Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2010). **Inoculation with *Azospirillum brasilense*: An alternative for reducing nitrogen fertilization in maize in Brazil**. Plant and Soil, 337(1-2), 85-100. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0506-2>

Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2016). **Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environmentally-friendly component of integrated crop-livestock systems**. Agriculture, Ecosystems & Environment, 232, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.004>

Insam, H. e de Bertoldi, M. **Microbiology of the composting process**. Waste Management Series, Elsevier, Volume 8, 2007, Pages 25-48, ISSN 1478-7482, ISBN 9780080439600, [https://doi.org/10.1016/S1478-7482\(07\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S1478-7482(07)80006-6). Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1478748207800066> Acesso em: 09 jul. 2025.

IPEA, 2015 **Diagnóstico da Produção de Mudas Florestais Nativas no Brasil. Relatório de pesquisa**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - IPEA Brasília, 2015 URL: <http://www.ipea.gov.br> Acesso em: 26 ago. 2025.

Joshi, Himangini & Bishnoi, Somdutt & Choudhary, Piyush & Mundra, S. (2019). **Role of Effective Microorganisms (EM) in Sustainable Agriculture**. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 8. 172-181. 10.20546/ijcmas.2019.803.024.

Kruker, G.; Guidi, E.S.; Santos, J.M.d.S.d.; Mafra, Á.L.; Almeida, J.A.d. **Quality of Bokashi-Type Biofertilizer Formulations and Its Application in the Production of Vegetables in an Ecological System**. *Horticulturae* 2023, 9, 1314. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121314> Acesso em: 21 abr. 2025

Lal, R. **Restoring Soil Quality to Mitigate Soil Degradation**. *Sustainability* 2015, 7, 5875-5895. <https://doi.org/10.3390/su7055875> Acesso em: 17 ago. 2025.

Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F. & Rossi, J. P. (2006). **Soil invertebrates and ecosystem services**. European Journal of Soil Biology, 42, S3–S15. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002> Acesso em: 15 abr. 2025

Lehmann, J., & Kleber, M. (2015). **The contentious nature of soil organic matter**. Nature, 528(7580), 60–68. <https://doi.org/10.1038/nature16069> Acesso em: 18 mai. 2025.

Lemes, Pedro Guilherme. **Novo Manual de Pragas Florestais Brasileiras** - Montes Claros: Instituto

de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, 2021. 996 p.:il. ISBN: 978-65-88389-05-8.

Lima, J. L. S. **Plantas forrageiras das caatingas, usos e potencialidades**. Petrolina: EMBRAPA, 1996. 38p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/132354> Acesso em: 27 mai. 2025.

Lorenzi, H. (1992) **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Plantarum, Nova Odessa.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). **Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria**. Annual Review of Microbiology, 63(1), 541–556. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

Macedo R. S., Moro, L., Lambais E. O., Lambais G. R., Bakker A. P. (2022) **EFEITOS DA DEGRADAÇÃO NOS ATRIBUTOS DE SOLOS SOB CAATINGA NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO** - Instituto Nacional do Semiárido, Campina Grande, PB - Brasil. Revista Árvore 2023;47:e4702 <http://dx.doi.org/10.1590/1806-908820230000002> Acesso em: 15 mai. 2025

Matos, Laudiceio Viana. **Plantio de leguminosas arbóreas para produção de moirões vivos e construção de cercas ecológicas**. Eduardo Francia Cameiro Campello, Alexander Silva de Resende. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 100 p. (Embrapa Agrobiologia. Sistemas de Produção, 3). ISSN 1676-6721

Melo, F. P. L., et al. (2013). **Priority setting for scaling-up tropical forest restoration projects: Early lessons from the Atlantic Forest Restoration Pact**. Environmental Science & Policy, 33, 395–404. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2013.07.013>. Acesso em: 15 jul. 2025

Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). **The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms**. FEMS Microbiology Reviews, 37(5), 634-663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028> Acesso em: 15 mai. 2025

Mendes, R., et al. (2011). **Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria**. Science, 332(6033), 1097-1100. <https://doi.org/10.1126/science.1203980> Acesso em: 20 mai. 2025

Moreira, Fatima & Huising, Jeroen & Bignell, David & Senwo, Zachary. (2012). **A Handbook of Tropical Soil Biology: Sampling & Characterization of Below-ground Biodiversity**. Soil Science Society of America Journal. 76. 309. 10.2136/sssaj2011.0003br.

Moreira, F. M. S., & Siqueira, J. O. (2006). **Microbiologia e Bioquímica do Solo** (2ª ed.) Lavras: Ed.UFLA.

Newton, P., Civita, N., Frankel-Goldwater, L., Bartel, K., & Johns, C. (2020). **What is regenerative agriculture? A review of scholar and practitioner definitions based on processes and outcomes**. Frontiers in Sustainable Food Systems. Volume 4 - <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.577723> Acesso em: 3 abr. 2025

Odum, E. P., & Barrett, G. W. (2007). **Fundamentals of Ecology**. Cengage Learning.

Oliveira, Eva Adriana Gonçalves de, (2015) - **Formulações tipo “bokashi” como fertilizantes orgânicos no cultivo de hortaliças**. Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de PósGraduação em Fitotecnia.

Oliveira, F. N. S., Lima A. A. C., Costa, J. B.A. **Adubação verde: alternativa para os solos arenosos do Nordeste**. Fortaleza: Embrapa - CNPAT, 1998 Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/422584> Acesso em: 18 abr. 2025.

Olle, Margit. (2020). Review: **Bokashi technology as a promising technology for crop production in Europe**. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 96. 1-8. 10.1080/14620316.2020.1810140.

Ongena, M., & Jacques, P. (2008). **Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol**. Trends in Microbiology, 16(3), 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009> Acesso em: 3 mai. 2025

Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W. H. (2013). **Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere**. Nature Reviews Microbiology, 11(11), 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109> Acesso em: 08 mar. 2025.

Pian, Livia Bischof (2019) **Fertilização de origem vegetal em atributos do solo e no desempenho agroecônômico de hortaliças em sistemas orgânicos**. Tese (Doutorado). - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Agronomia Ciência do Solo, 20

Primavesi, A. (2006) **Manejo ecológico do solo**. 18 ed. São Paulo: Nobel

Primo, A. A.; Melo, M. D.; Pereira, G. de A. C.; Silva, L. A.; Fernandes F. E. P.; Souza H. A. De; **Potencial fertilizante da serapilheira de espécies lenhosas da Caatinga na recuperação de um solo degradado**. Rev Ceres [Internet]. 2018Jan;65(1):74–84. Available from: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201865010010> Acesso em: 22 abr. 2025.

Quevedo, H. D., Nishisaka, C. S., Mendes, R. **O microbioma do solo e sua relação com a matéria orgânica**. Cap. 4 p 125-144 In: Entendendo a matéria orgânica do solo em ambientes tropical e subtropical. Brasília, DF: Embrapa, 2023. ISBN: 978-65-89957-66-9 Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1161306> Acesso em: 23 mai. 2025.

Quiroz, Madelaine & Céspedes-León, Cecilia. (2019). **Bokashi as an Amendment and Source of Nitrogen in Sustainable Agricultural Systems: a Review**. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 19. 237-248. 10.1007/s42729-019-0009-9.

Ramos AP, Lima SS, Ferreira CS, Pinto LARS, Ferreira R, Dias A, Matos PS, Pereira MG. **Macrofauna and soil properties in agroforestry system and secondary forest**. Rev Bras Cienc Solo. 2025;49:e0240091. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20240091> Acesso em: 21 jun. 2025.

Reid DE, Ferguson BJ, Gresshoff PM. **Inoculation- and nitrate-induced CLE peptides of soybean control NARK-dependent nodule formation**. Mol Plant Microbe Interact. 2011 May;24(5):606-18. doi: 10.1094/MPMI-09-10-0207. PMID: 21198362.

Reis A, Bechara FC, Tres DR. **Nucleation in tropical ecological restoration**. Sci agric (Piracicaba, Braz) [Internet]. 2010 Mar ;67(2):244–50. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000200018> Acesso em: 22 abr. 2025

Rhodes, C.J. (2017) **The Imperative for Regenerative Agriculture**. Science Progress, 100, 80-129. <https://doi.org/10.3184/003685017x14876775256165> Acesso em: 11 jul. 2025.

Rodrigues, R. R., Lima, R. A. F., Gandolfi, S., & Nave, A. G. (2009). **On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in the Brazilian Atlantic Forest**. Biological Conservation, 142(6), 1242–1251. doi:10.1016/j.biocon.2008.12.008

Rodrigues, G. D. S.; Souza, A. G.; De Oliveira, F. **IMPLANTAÇÃO DE VIVEIRO E PRODUÇÃO DE MUDAS NATIVAS DO CERRADO COMO ESTRATÉGIA DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL**. Revista ComCiência - Multidisciplinar, [S. l.], v. 9, n. 13, p. e9132402, 2024. DOI: 10.36112/issn2595-1890.v9.i13.e9132402. Disponível em: <https://revistas.uneb.br/comciencia/article/view/20135>. Acesso em: 26 ago. 2025.

Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). **Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion**. *Biotechnology Advances*, 17(4-5), 319-339. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2) Acesso em: 22 abr. 2025

Sambuichi, Regina Helena Rosa; Policarpo, Mariana Aquilante; Alves, Fábio. **A Produção de bioinsumos no Brasil: desafios e potencialidades**. *Boletim Regional, Urbano e Ambiental*, Brasília, n. 32, p. 57-65, jun./dez. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.38116/brua32art5>. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/16003> Acesso em: 12 jun. 2025

Schroth, Götz & Fonseca, Gustavo & Harvey, Celia & Gascon, Claude & Vasconcelos, Heraldo & Izac, Anne-Marie. (2004). **Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes**.

SEAS, 2024 **Diagnóstico da cadeia de produção de mudas florestais para restauração no estado do Rio de Janeiro** : período 2010-2020 / Secretaria do Ambiente e Sustentabilidade – Rio de Janeiro: Embrapa: UFRRJ, 2024.

Silva, A. B.; LIRA JUNIOR, M. A.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; FIGUEIREDO, M. V. B.; VICENTIN, R. P. **Estoque de serapilheira e fertilidade do solo em pastagem degradada de *Brachiaria decumbens* após implantação de leguminosas arbustivas e arbóreas forrageiras**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 502-511, 2013.

Singh, R. P., et al. (2011). **Rhizosphere microorganisms: potential microflora for sustainable agriculture**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 971–983. DOI: 10.1007/s00253-010-2922-0 Acesso em: 27 jun. 2025.

Siqueira, A.P.P. e Siqueira, M.F.B. **Bokashi: adubo orgânico fermentado**. Niterói: Programa Rio Rural, 2013. 16p. (Programa Rio Rural Manual Técnico, 40). Programa de Desenvolvimento Rural Sustentável em Microbacias Hidrográficas do Estado do Rio de Janeiro. Secretaria de Agricultura e Pecuária. ISSN 1983-5671

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., & Denef, K. (2004). **A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics**. *Soil & Tillage Research*, 79(1), 7-31. <https://doi.org/10.1016/j.still.2004.03.008> Acesso em: 23 abr. 2025

Smith, J. et al. (2024). **Global changes and their environmental stressors have a significant impact on soil biodiversity—A meta-analysis**. *iScience*, 27(9), 110540. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110540> Acesso em: 12 abr. 2025

Smith, S.E. and Read, D. (2008) **Mycorrhizal Symbiosis**. 3rd Edition, Academic Press, Cambridge, MA, 1-787. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6> Acesso em: 14 jun. 2025.

Soares, M. T. S. et al. (2020). **Substratos orgânicos e inoculação com rizóbio em mudas de *Mimosa caesalpinifolia***. *Ciência Florestal*, 30(1), 1–10.

Souza, R., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2020). **Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils**. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401-419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053> Acesso em: 04 jul. 2025.

Souza, F. C., et al. (2020). **Viveiros de mudas florestais no Brasil: diagnóstico e caminhos para o fortalecimento**. IPEA Texto para Discussão, 2573. Brasília: 2020

Stevenson, F.J. (1994) **Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions**. 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York.

The Legume Phylogeny Working Group (LPWG) (2017) **A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny**. *Taxon* 66(1) p. 44-77 ISSN:

0040-0262

Tiedje, J. M., et al. (1999). **Soil biology: The hidden frontier**. *Science*, 284(5411), 1021–1022. <https://doi.org/10.1126/science.284.5411.1021> Acesso em: 3 mai. 2025.

Tomazelli D, Klauberg-Filho O, Mendes LW, Goss-Souza D. **The impact of land-use changes and management intensification on bacterial communities in the last decade: a review**. *Appl Environ Microbiol*. 2024 Jul 24;90(7):e0030924. doi: 10.1128/aem.00309-24. Epub 2024 Jun 14. PMID: 38874336; PMCID: PMC11267915. Acesso em: 17 mai. 2025.

Van der Heijden et al. (2008). **The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity**. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x> Acesso em: 06 mar. 2025.

Vasconcelos WLF, Rodrigues DM, Silva ROC, Alfaia SS. **Diversity and abundance of soil macrofauna in three land use systems in eastern Amazonia**. *Rev Bras Cienc Solo*. 2020;44:e0190136. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20190136> Acesso em: 16 ago. 2025.

Vessey, J. K. **Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers**. *Plant and Soil*, v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>. Acesso em: 05 jun. 2025.

Viaene, T., et al. (2016). **Streptomyces as a plant's best friend?** *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), fiw119. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw119> Acesso em: 09 ago. 2025.

Viani, R. A. G.; RODRIGUES, R. R. **Sobrevivência em viveiro de mudas retiradas da regeneração natural**. *Revista Árvore*, v. 46, n. 1, e460105, 2007 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000800002> Acesso em: 08 abr. 2025.

Vieira, E. L et al. **Composição química de forrageiras e seletividade de bovinos em bosque-de-sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) nos períodos chuvoso e seco** DOI: 10.1590/S1516-35982005000500010, 2005

Villamizar, Sonia Cancelado. **Avaliação da qualidade microbiológica de um composto produzido a partir de resíduos animais e vegetais – Jaboticabal, 2014**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

Wall, D. H., Bardgett, R. D., Behan-Pelletier, V., Herrick, J. E., Jones, T. H., Ritz, K., Six, J., Strong, D. R., & Van der Putten, W. H. (Eds.) (2012). **Soil Ecology and Ecosystem Services**. Oxford University Press.

Weil, Raymond & Brady, Nyle. (2017). **The Nature and Properties of Soils**. 15th edition.

Weller, D. M. (2007). **Pseudomonas biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years**. *Phytopathology*, 97(2), 250-256. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-2-0250> Acesso em: 21 mai. 2025.

Wendling, Ivar & Trueman, Stephen & Xavier, Aloisio. (2014). **Maturation and related aspects in clonal forestry-part II: Reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance**. *New Forests*. 45. 10.1007/s11056-014-9415-y.

Xu, H. L. (2001). **Effects of a Microbial Inoculant and Organic Fertilizers on the Growth, Photosynthesis and Yield of Sweet Corn**. *Journal of Crop Production*, 3(1), 183–214. https://doi.org/10.1300/J144v03n01_16 Acesso em: 19 abr. 2025.

Yamada, Kengo & Xu, Hui-lian. (2000). **Properties and Applications of an Organic Fertilizer Inoculated with Effective Microorganisms**. *Journal of Crop Production*. 3. 255-268.

10.1300/J144v03n01_21.

CAPÍTULO 2 – Caracterização Microbiana Durante o Processo de Fermentação de Bokashi Inoculado com Microrganismos Nativos

RESUMO

O Bokashi é um bioinsumo obtido pela fermentação de resíduos vegetais e agroindustriais ricos em matéria orgânica, conduzida por microrganismos nativos sob condições anaeróbicas. Esse processo gera metabólitos benéficos, como ácidos orgânicos, enzimas, hormônios vegetais e compostos antimicrobianos, conferindo ao produto propriedades bioestimulantes. No entanto, ainda existem lacunas quanto à composição e à dinâmica funcional das comunidades microbianas envolvidas. Este trabalho teve como objetivo acompanhar a dinâmica temporal das comunidades bacterianas e fúngicas durante o processo de produção do Bokashi. Uma mistura de farelo de trigo e torta de mamona foi inoculada com microrganismos nativos do solo, ativados por uma semana, em garrafas contendo água destilada e açúcar mascavo. Amostras foram coletadas a cada três dias ao longo de vinte e um dias. A composição da comunidade microbiana foi determinada por meio do sequenciamento de nova geração (NGS) das regiões ITS para fungos e do gene V4 do RNAr 16S para bactérias. Os resultados mostraram que a comunidade microbiana do Bokashi é altamente dinâmica, passando de um predomínio inicial de leveduras fermentativas e bactérias ácido-láticas, responsáveis pela rápida acidificação e estabilização do composto, para comunidades mais complexas em fases posteriores, com a presença de gêneros bacterianos como *Bacillus* e *Streptomyces*, e fúngicos como *Aspergillus* e *Xeromyces*, descritos como sendo de importância agrônômica, seja associados à degradação de substratos recalcitrantes, promovendo a ciclagem de nutrientes, seja à promoção do crescimento de plantas como agentes de biocontrole e no equilíbrio funcional do processo. Além disso, a análise de índices de diversidade (Chao1 e Shannon) revelou maior riqueza e diversidade nas fases intermediárias, sugerindo um pico de coexistência microbiana antes da estabilização final. Esses achados reforçam que a fermentação do Bokashi, além de promover a transformação de nutrientes em formas assimiláveis, constitui um processo de sucessão ecológica microbiana comparável a sistemas naturais de decomposição, porém acelerado em ambiente controlado, e atua como veículo de inóculos benéficos ao solo e à saúde vegetal.

Palavras-chave: Bokashi; Ecologia microbiana; Agroecologia; Fermentação

ABSTRACT

Bokashi is a bioinput obtained by fermenting plant and agro-industrial residues rich in organic matter, using native microorganisms under anaerobic conditions. This process generates beneficial metabolites, including organic acids, enzymes, plant hormones, and antimicrobial compounds, that confer biostimulant properties to the product. Nevertheless, knowledge gaps remain regarding the composition and functional dynamics of the microbial communities involved. This study aimed to monitor the temporal dynamics of bacterial and fungal communities during the Bokashi production process. A mixture of wheat bran and castor bean cake was inoculated with a consortium of native soil microorganisms previously activated for one week in bottles containing distilled water and brown sugar. Samples were collected every three days over a total period of twenty-one days. Microbial community composition was assessed through next-generation sequencing (NGS) of the ITS region for fungi and the V4 region of the 16S rRNA gene for bacteria. The results revealed that the Bokashi's microbial community is highly dynamic, shifting from an initial predominance of fermentative yeasts and lactic acid bacteria—responsible for rapid acidification and stabilization of the compost—to more complex communities at later stages, including bacterial genera such as *Bacillus* and *Streptomyces* and fungal species such as *Aspergillus* and *Xeromyces*. These microorganisms are recognized for their agronomic importance, whether in the degradation of recalcitrant substrates, nutrient cycling, plant growth promotion, biocontrol activity, or maintaining the functional balance of the process. Furthermore, diversity index analyses (Chao1 and Shannon) indicated greater richness and diversity at intermediate stages, suggesting a peak of microbial coexistence prior to final stabilization. These findings highlight that Bokashi fermentation, in addition to converting nutrients into more assimilable forms, represents a process of microbial ecological succession comparable to natural decomposition systems, but accelerated under controlled conditions. Moreover, it serves as a vehicle for beneficial inoculants that enhance both soil and plant health.

Keywords: Bokashi; Microbial ecology; Agroecology; Fermentation

1. INTRODUÇÃO

A elaboração de insumos biológicos diretamente nas unidades produtivas rurais tem ganhado destaque como ferramenta de fortalecimento da agricultura sustentável, especialmente em contextos de agricultura familiar, no sentido de promover uma redução da dependência dos insumos químicos adotados intensivamente no modelo de produção tradicional, para sistemas mais equilibrados, reduzindo custos e melhorando a qualidade de vida do agricultor e do solo (Sambuichi, Policarpo e Alves, 2024). Dessa forma, práticas como a coleta e multiplicação de microrganismos nativos para a confecção de biofertilizantes e compostos fermentados, associados ao uso de insumos adquiridos localmente, entre outras técnicas agroecológicas podem promover maior autonomia produtiva e mais sustentabilidade ambiental nos agroecossistemas (Altieri, 2012; Goulart, 2020).

A Política Nacional de Bioinsumos (Decreto nº 10.375/2020) reconhece e incentiva a produção e uso de bioinsumos como parte da estratégia nacional de sustentabilidade agrícola, pois representa uma oportunidade de promover a agricultura sustentável, resiliente e de base ecológica, contribuindo para a restauração da fertilidade do solo, redução da pegada ambiental da produção agrícola e fortalecimento das comunidades rurais (BRASIL, 2020). Esse foi um marco relevante em relação às políticas públicas voltadas para a consolidação de um projeto de mudança nos padrões de produção agrícola, dando visibilidade e força para o mercado de produtos biológicos (Vidal e Dias, 2023).

Nesse contexto, o composto fermentado farelado do tipo Bokashi destaca-se como ferramenta de transição agroecológica, fornecendo macro e micronutrientes de forma equilibrada e funcionando como inóculo de microrganismos benéficos que revitalizam o solo. A reposição de comunidades microbianas benéficas associadas à matéria orgânica contribui para a nutrição mineral, estímulo fisiológico ao crescimento vegetal e proteção contra patógenos (Higa e Parr, 1994; Siqueira e Siqueira, 2013; Kruker et al., 2023). Em ambientes tropicais, onde a decomposição da matéria orgânica é acelerada, essa atividade microbiana torna-se ainda mais relevante (Primavesi, 2006).

O Bokashi é produzido pela mistura balanceada de fontes de carbono e nitrogênio, associadas a materiais energéticos como melaço ou açúcar, que favorecem intensa atividade microbiana e fermentação controlada (Footer, 2014; Goulart, 2020). Os microrganismos podem ser obtidos tanto de produtos comerciais quanto de fontes artesanais, incluindo solo florestal, serapilheira ou compostos estabilizados (Siqueira e Siqueira, 2013; Oliveira, 2015).

O conceito de Microrganismos Eficientes (EM) foi desenvolvido por Teruo Higa nos anos

1980, no Japão, ao descobrir consórcios que atuam sinergicamente na decomposição da matéria orgânica, promoção do crescimento vegetal e supressão de patógenos (Higa e Parr, 1994). Esses consórcios envolvem grupos como bactérias ácido-láticas, leveduras e bactérias fotossintéticas, além de actinobactérias e fungos filamentosos, dependendo da formulação (Oliveira, 2015; Pian, 2019).

A fermentação do Bokashi pode ocorrer em condições aeróbicas, anaeróbicas ou microaerófilas, resultando em ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas e nutrientes biodisponíveis. Durante o processo, fatores como temperatura, oxigênio, umidade e disponibilidade de nutrientes atuam como filtros ambientais, selecionando grupos mais adaptados ao longo do processo (Andrade, 2011; Oliveira, 2015; Footer, 2014; Goulart, 2020). Essa sucessão microbiana envolve inicialmente bactérias aeróbicas e fungos saprófitos, seguida por bactérias ácido-láticas e, por fim, microrganismos tolerantes à acidez, como leveduras e actinobactérias, que contribuem com metabólitos e enzimas (Lindgren e Dobrogosz, 1990; Insam e de Bertoldi, 2007; Guo *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024).

Apesar do uso difundido do Bokashi, os estudos ainda se concentram majoritariamente em seus efeitos agrônômicos, enquanto a dinâmica sucessional das comunidades microbianas permanecem pouco caracterizadas, principalmente quando se usa como fonte de inóculo microrganismos nativos do solo capturados localmente. Essa lacuna limita o avanço no aperfeiçoamento racional do processo e na padronização de sua aplicação em diferentes contextos agrícolas.

Diante disso, o presente estudo buscou caracterizar a dinâmica populacional microbiana durante a fermentação de um composto farelado artesanal inoculado com microrganismos nativos obtidos localmente, contribuindo para a compreensão dos processos microbiológicos que sustentam a eficiência do Bokashi.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparo do composto farelado

O composto farelado foi produzido a partir da mistura de farelo de trigo e de mamona, nas proporções de 60% e 40%, respectivamente (Goulart *et al.*, 2024), ambos obtidos no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (Fazendinha Agroecológica Km 47), localizado na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, município do Rio de Janeiro, Brasil. Como a mamona (*Ricinus communis* L.) apresenta potencial toxicidade devido à presença de ricina, foram utilizados os devidos equipamentos de segurança individual, como luvas e máscaras.

Amostras da mistura de farelos foram submetidas à análise elementar de carbono e nitrogênio, pelo método CHN, no laboratório de Ciclagem de Nutrientes da Embrapa Agrobiologia. Foi constatado um teor médio de 3,9% de nitrogênio e 41,8% de carbono. A relação C/N de aproximadamente 10,8 indica um composto com bom equilíbrio entre carbono e nitrogênio, considerado adequado para aplicação no solo como biofertilizante ou condicionador (Azis *et al.*, 2023).

2.2. Captura dos Microrganismos Nativos

A captura dos microrganismos eficientes foi realizada conforme o protocolo proposto por Andrade (2011), em sua publicação intitulada “Caderno dos Microrganismos Eficientes - Instruções práticas sobre o uso ecológico e social do EM” (Andrade, 2011). Para a confecção da isca, o arroz cozido é amplamente usado como substrato para captura de microrganismos nativos porque reúne várias características que criam um ambiente ideal para o crescimento inicial de comunidades microbianas benéficas (Higa, 1998; Siqueira e Siqueira, 2013).

Para isso, 3 kg de arroz foram obtidos em um mercado local, cozidos, sem adição de sal ou óleo, e distribuídos em três calhas de bambu, obtidas na Fazendinha Agroecológica Km 47, em três repetições. As calhas de bambu foram então cobertas com uma tela fina e fixadas com uma amarração de barbante para evitar a entrada de artrópodes e insetos indesejáveis.

As armadilhas foram dispostas no solo, voltadas para cima, em contato com a camada de serapilheira, próximo à Fazendinha Agroecológica Km 47, na unidade da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, Rio de Janeiro, em uma área de ocorrência predominantemente de *Mimosa caesalpiniiifolia*, espécie arbórea leguminosa conhecida por estabelecer relação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio. Vale ressaltar que esta área apresenta uma densa camada de serapilheira sobre o solo, o que cria um ambiente rico em microrganismos. Após sete dias, as iscas colonizadas por microrganismos foram retiradas do campo e levadas para o laboratório de leguminosas florestais, na Embrapa Agrobiologia, para a confecção do composto.

Figura 1 - Fotografia representativa do fragmento de mata próximo à Fazendinha Agroecológica Km 47, na Embrapa Agrobiologia em Seropédica, RJ, com predominância de *M. caesalpinifolia*.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 2 - Iscas elaboradas com calhas de bambu preenchidas com arroz cozido.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 3 - Iscas colonizadas por microrganismos após 7 dias em campo.



Fonte: Do Autor (2025)

2.3. Ativação dos Microrganismos Nativos

As partes do arroz com colorações claras de azul, rosa, laranja, vermelho, verde e branco são sinais de que houve colonização por microrganismos de interesse (Andrade, 2011). As porções com colorações escuras (marrom e preto) indicam colonização por microrganismos decompositores indesejados, as quais foram retiradas e descartadas. As porções com coloração de interesse foram divididas e colocadas em garrafas pet de 2 L com tampa rosqueável, e foram acrescidas, em cada uma, 200 g de açúcar mascavo, como fonte energética e estímulo à fermentação. Água destilada foi adicionada até atingir o volume máximo do recipiente e agitada até a completa dissolução do açúcar. Antes do fechamento das garrafas, foi retirado todo o ar de dentro, apertando suas laterais, criando um ambiente microaerofílico. Essa etapa é genericamente chamada de ativação dos microrganismos (Oliveira *et al.*, 2014).

Durante esse processo, as comunidades microbianas com metabolismo ativo produzem ácidos orgânicos, hormônios vegetais (giberelinas, auxinas e citocininas), além de vitaminas, antibióticos e polissacarídeos, enriquecendo a solução. Esse processo é evidenciado pela produção de gases, que são retirados a cada dois dias por meio da abertura parcial da tampa, a fim de evitar o rompimento das garrafas. Após 7 dias na sombra, a ativação está completa e o líquido está pronto para ser usado como fonte de inóculo para o composto farelado. Ao todo, foram produzidas quatro garrafas, cada uma correspondente às calhas (iscas) dispostas em campo, sendo a quarta uma mistura das outras três, formando um mix.

2.4. Inoculação do composto farelado

A solução inoculante ativada proveniente de cada garrafa foi adicionada à respectiva mistura de farelos, em recipientes separados correspondentes a cada repetição experimental (calha). O material foi acondicionado em frascos de vidro de 200 mL com tampa rosqueável, até atingir teor de umidade entre 35 e 40%, determinado por compressão manual: a mistura deve formar um torrão estável, sem esfarelar ou liberar líquido (Goulart *et al.*, 2024).

Em seguida, o material foi compactado e os frascos fechados hermeticamente, permanecendo por 21 dias em câmara incubadora tipo B.O.D., a 30 °C, no Laboratório de Gramíneas da Embrapa Agrobiologia.

No total, foram preparados 32 frascos, permitindo a coleta independente de amostras em cada tempo de fermentação, com quatro repetições por tratamento. Essa estratégia evitou contaminações externas e aeração indesejada, já que a abertura de um frasco inviabiliza sua reutilização.

As coletas foram realizadas a cada três dias, permitindo o acompanhamento das variações de pH, da condutividade elétrica e da composição microbiana ao longo do processo fermentativo. Considerando os 21 dias de incubação, definiram-se oito tempos de amostragem: T1 (dia 0), T2 (dia 3), T3 (dia 6), T4 (dia 9), T5 (dia 12), T6 (dia 15), T7 (dia 18) e T8 (dia 21).

Figura 4 - Câmara B.O.D. com os frascos contendo o composto farelado inoculado.



Fonte: Do Autor (2025)

2.5. Medição do pH e condutividade elétrica

A cada três dias a partir da inoculação dos farelos, amostras foram coletadas para a medição do valor do pH em água, da condutividade elétrica e da caracterização microbiana no composto. Alíquotas dos tratamentos foram retiradas para a determinação do valor de pH e de CE, obedecendo à relação de 1:5, ou seja, 8 gramas dos respectivos compostos fermentados para 32 mL de água destilada (Moubareck, Alawlaqi e Alhajeri, 2023). As soluções resultantes foram agitadas em vortex por 30 minutos para a completa dissolução do composto e posteriormente o valor de pH foi determinado utilizando pHmetro da marca Biovera, enquanto os valores de CE foram medidos usando o condutímetro modelo W120 da marca BEL.

2.6. Avaliação da composição das comunidades de fungos e bactérias do composto fermentado

Para a determinação da comunidade microbiana, amostras de 250 mg de composto foram coletadas das camadas superficiais (1 a 2 cm de profundidade) de cada frasco, utilizando material esterilizado. As amostras foram armazenadas em microtubos de 2 mL e mantidas no

freezer (-30°C). A extração de DNA foi realizada com o kit DNAeasy Powersoil, da QIAGEN, especialmente indicado nesses casos, pois foi desenvolvido para superar as principais dificuldades dessas matrizes, que contêm grande quantidade de inibidores da PCR e matéria orgânica complexa. Conceitualmente, esse kit combina três módulos: ruptura celular (lise) para liberar DNA de células bacterianas e fúngicas; remoção de inibidores (humato, polifenóis, polissacarídeos), essencial para solos tropicais ricos em compostos que inibem a PCR; e purificação/adsorção do DNA em uma matriz (sílica em coluna spin), seguida de lavagens e eluição do DNA puro. Os kits fornecem reagentes prontos e protocolos otimizados para reduzir a variabilidade entre as amostras. Após a extração, foram realizadas a quantificação e a avaliação da pureza de ácidos nucleicos e proteínas no Nanodrop, com posterior verificação da integridade do material genético por eletroforese em gel de agarose.

Os tempos escolhidos para as coletas foram T1 (dia zero), T2 (3º dia), T4 (10º dia), T7 (19º dia) e T8 (21º dia). Cada tempo contou com 4 frascos representando 4 repetições, sendo 20 amostras sequenciadas ao total. Para o sequenciamento de DNA foram utilizados amplicons gerados pela sequência de primers GTGCCAGCMGCCGCGGTAA, GGACTACHVGGGTWTCTAAT, direcionados à região V4 do gene rRNA 16S, para bactérias. Para fungos, foi utilizada a sequência de primers CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA, GCTGCGTTCTTCATCGATGC, direcionados à região ITS1-1F (“Internal Transcribed Spacer”), conforme recomendado por White *et al.* (1990), Caporaso *et al.* (2011) e Schoch *et al.* (2012). O sequenciamento foi feito pela empresa Novogene. As sequências foram processadas com o pacote dada2 no software R, que utiliza um algoritmo de identificação de sequências potenciais erros e quimeras e as classificam em ASV (“Amplicon Sequence Variant”), as quais representam sequências únicas de nucleotídeos identificadas no conjunto de dados (Callahan *et al.*, 2016).

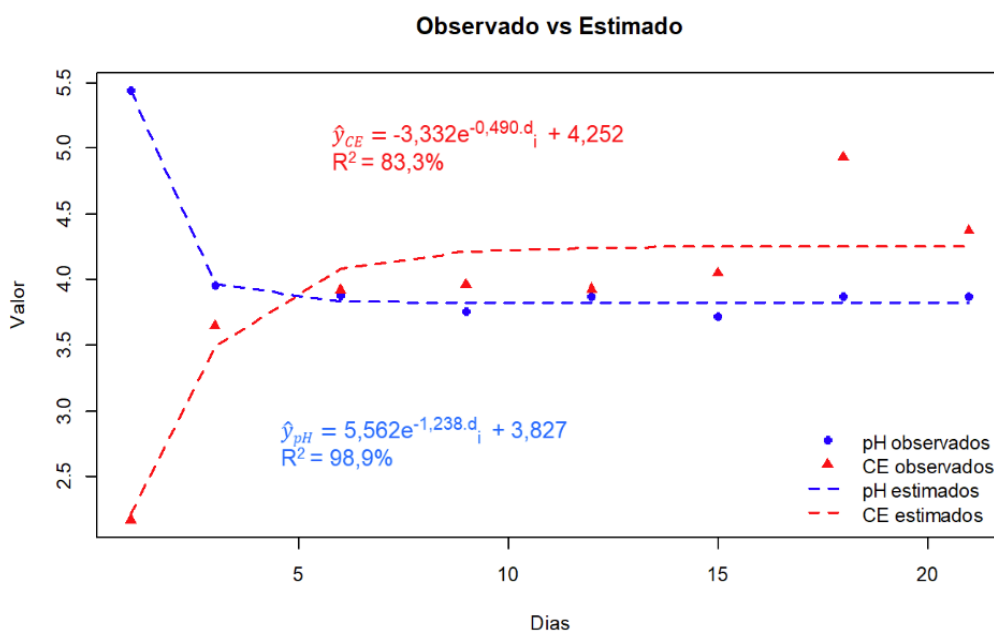
A taxonomia das sequências foi determinada por comparação com as bases de referência SILVA (Quast *et al.*, 2013), para bactérias, e UNITE (Nilsson *et al.*, 2019), para fungos. As análises estatísticas foram realizadas no software R usando os pacotes *phyloseq*, *Biostrings*, *ggplot2*, *factoextra*, *microbiome*, *vegan*, *dplyr*, *magrittr*, *metagMisc* e *tidyverse*. As comunidades foram ordenadas por uma análise de componentes principais na matriz de covariância com dados transformados com distância de Hellinger. Para todas as análises, utilizou-se a versão 4.5.1 do programa R (R Core Team, 2025).

3. RESULTADOS

3.1. Variações de pH e Condutividade Elétrica

Observa-se que ocorreu uma brusca acidificação do substrato nos primeiros dias após sua inoculação, seguida da estabilização do pH em 3,86 e 3,96 (Figura 5). Já em relação à condutividade elétrica, observou-se um aumento considerável dessa variável em relação aos valores iniciais do processo de fermentação, variando entre 2,16 e 4,36 mS/cm. É possível notar que há uma tendência dessas variáveis de se estabilizarem a partir do décimo dia.

Figura 5 - Gráfico representando os valores médios de pH e Condutividade Elétrica (mS/cm) no eixo Y ao longo do tempo (dias) de fermentação do composto farelado Bokashi no eixo X.

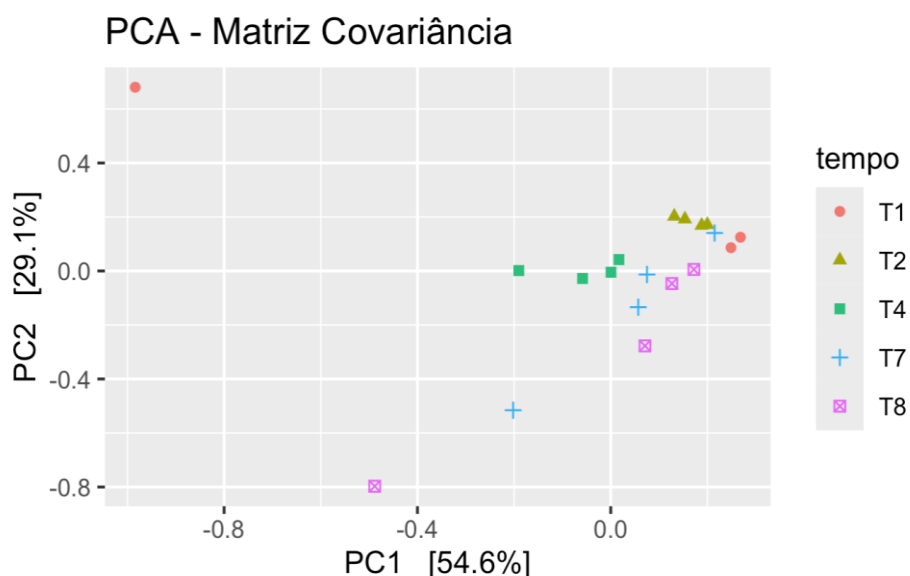


Fonte: Do Autor (2025)

3.2. Caracterização da Comunidade Bacteriana

As análises microbiológicas permitiram uma caracterização abrangente da comunidade microbiana associada aos diferentes tempos (dias) de fermentação. A ordenação multivariada por análise de componentes principais (PCA) (Figura 6) não evidenciou padrões claros de agrupamento das comunidades bacterianas. Uma das comunidades do tempo 1 (T1) se destacou por um ponto discrepante.

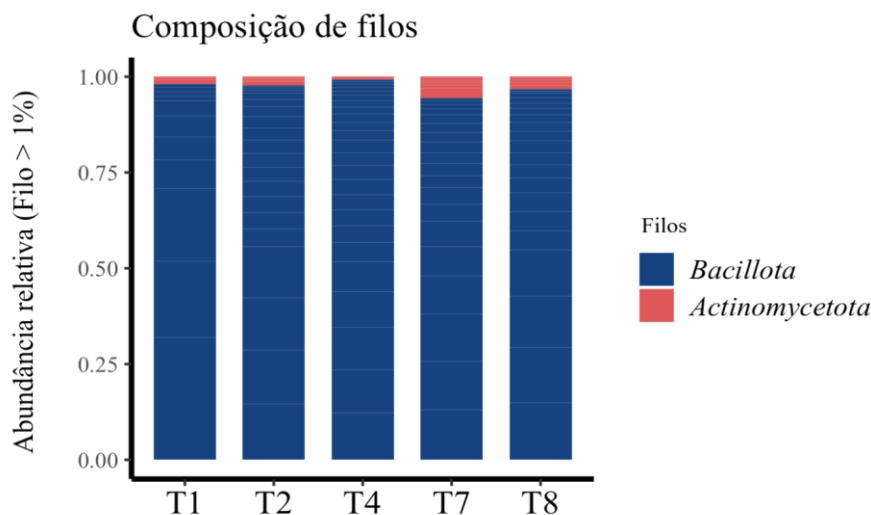
Figura 6 – Análise de componentes principais (PCA) na matriz de covariância, baseada na composição das comunidades de bactérias determinada a partir do sequenciamento do gene RNAr 16S. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

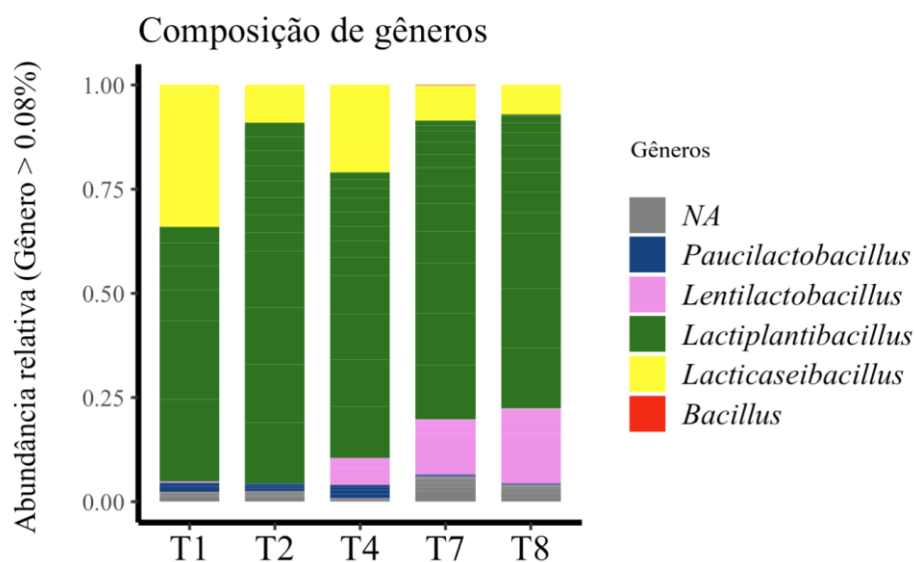
No que se refere à abundância relativa dos filos bacterianos (Figura 7), observou-se uma predominância superior a 90% de sequências do filo *Bacillota*, seguida, em menor proporção, por sequências de *Actinomycetota* em todos os tempos de fermentação avaliados. O gênero *Lactiplantibacillus* foi consistentemente o mais abundante ao longo de todo o processo (Figura 8). Já o gênero *Lentilactobacillus* apresentou abundância extremamente baixa em T1 e T2, mas aumentou progressivamente a partir de T4, atingindo seu pico aos 21 dias. O gênero *Lacticaseibacillus* apresentou comportamento mais variável, com redução das abundâncias relativas em T7 e T8. Por sua vez, *Paucilactobacillus* apresentou maior abundância nas fases iniciais da fermentação. Finalmente, os grupos não identificados, definidos como aqueles com abundância inferior a 0,08%, foram mais representativos em T7 e T8.

Figura 7 - Gráfico de barras que representa a variação na composição dos filos bacterianos predominantes ao longo do tempo de fermentação. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 8 - Gráfico de barras que representa a variação na composição dos gêneros bacterianos predominantes ao longo do tempo de fermentação. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona. NA se refere a gêneros com abundância inferior a 0,08% e, por isso, não identificados no gráfico.



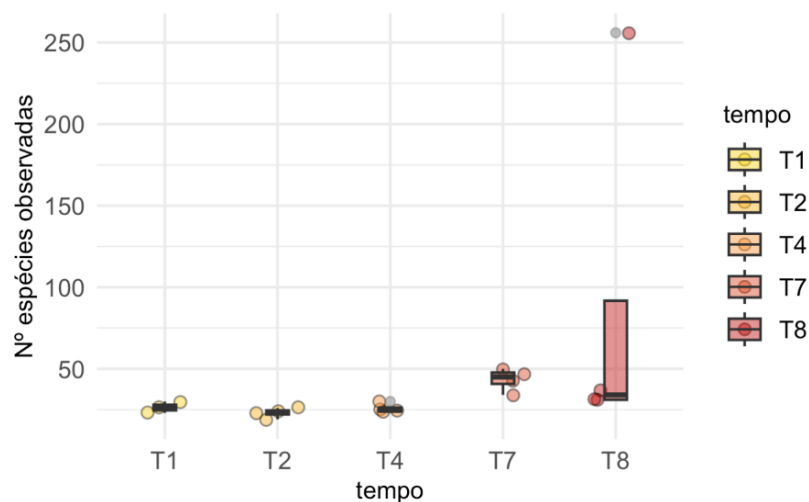
Fonte: Do Autor (2025)

Usando o pacote *Microbiome*, foi possível a obtenção de um gráfico de barras representando o índice de diversidade de Shannon, uma métrica da diversidade alfa que leva

em conta a riqueza e abundância relativa das espécies, o número de espécies observadas e o estimador de riqueza de espécies Chao1, que estima a riqueza considerando espécies raras, e estão representados a seguir.

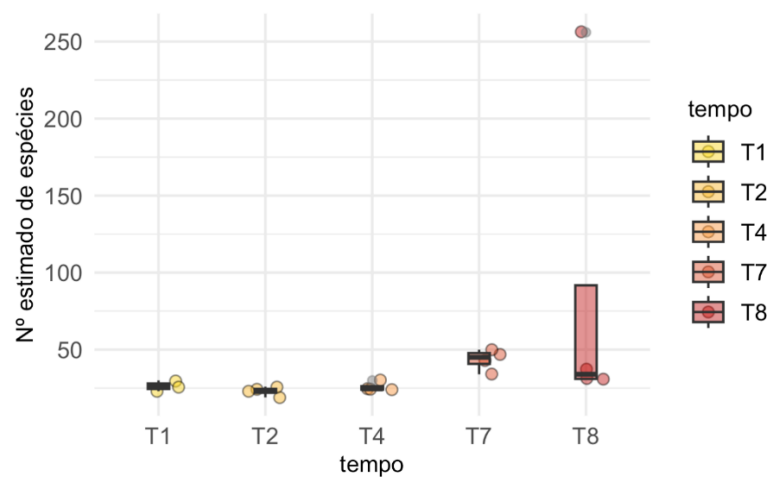
Nota-se que a diversidade bacteriana aumentou com o tempo de fermentação, conforme indicado pela maior riqueza de espécies observada (Figura 9) e estimada (Figura 10) e pela maior diversidade de Shannon (Figura 11) em tempos maiores. Contudo, a variação nos valores de riqueza e diversidade também foi maior entre as comunidades após maior tempo de fermentação.

Figura 9 - Número estimado de espécies bacterianas (riqueza observada) em função do tempo de fermentação. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



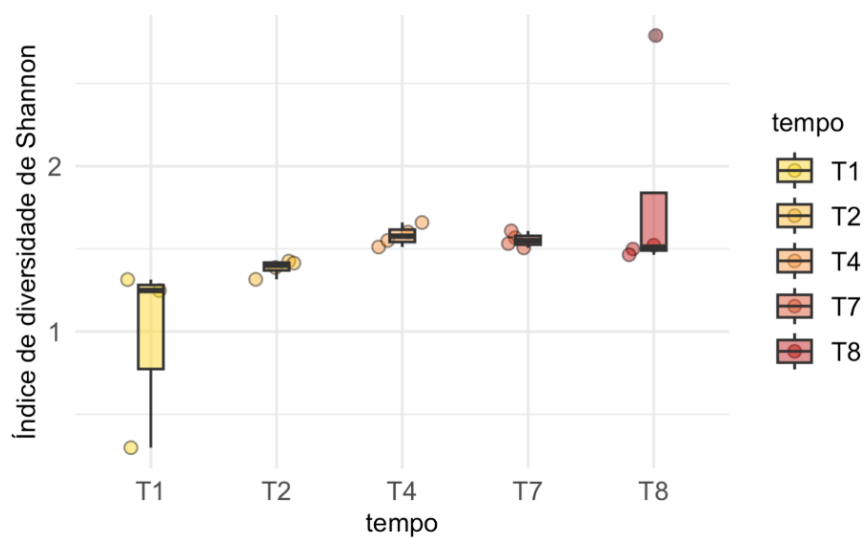
Fonte: Do Autor (2025)

Figura 10 - Estimador de riqueza de espécies bacterianas (Chao1) ao longo do tempo (dias) de fermentação. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 11 - Índice de diversidade de Shannon das comunidades bacterianas em função do tempo (dias) decorrido no processo de fermentação. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.

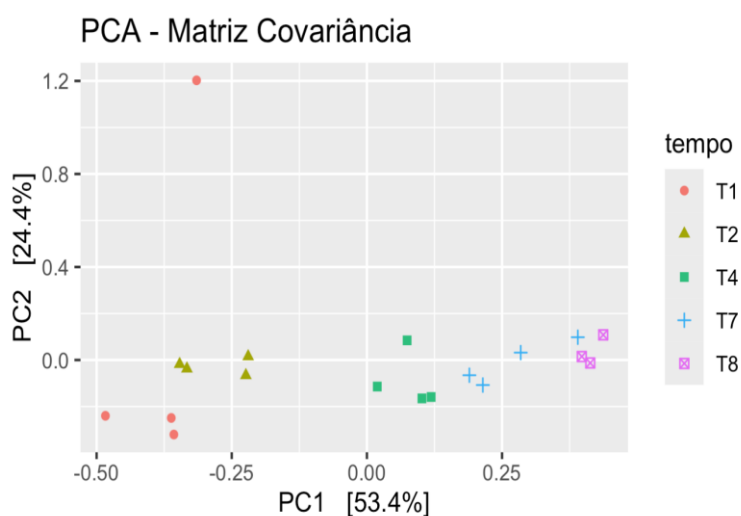


Fonte: Do Autor (2025)

3.3. Caracterização Fúngica

Ao contrário do observado para bactérias, a ordenação multivariada por análise de componentes principais (PCA) evidenciou um claro gradiente de substituição de espécies ao longo do processo de fermentação, com a composição das comunidades fúngicas se distanciando cada vez mais daquela da comunidade inicial à medida que o tempo de fermentação aumentava (Figura 12). Conforme observado para as bactérias, uma das comunidades do tempo 1 (T1) também se destacou com um ponto discrepante.

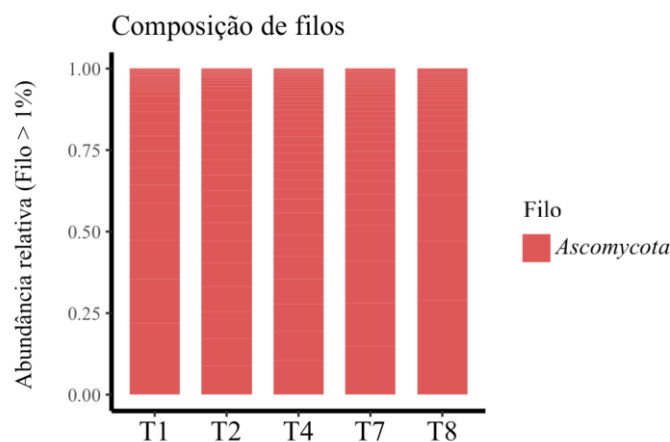
Figura 12 - Análise de componentes principais (PCA) na matriz de covariância, baseada na composição das comunidades de fungos determinada a partir do sequenciamento do região ITS. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

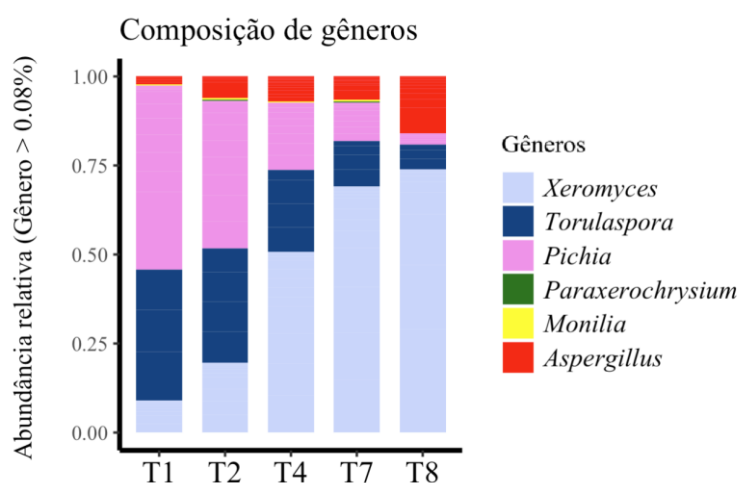
Todos os fungos presentes no composto pertencem ao filo *Ascomycota* (Figura 13). Predominaram as leveduras *Pichia* e *Torulospora* no início do processo, com baixa abundância relativa de *Aspergillus* e *Xeromyces*, fungos filamentosos. A abundância das leveduras diminuiu e a dos fungos filamentosos aumentou gradativamente ao longo do tempo, e, após 21 dias, a comunidade foi dominada por *Aspergillus* e, principalmente, *Xeromyces* (Figura 14).

Figura 13 - Gráfico de barras que representa a abundância relativa dos filos de fungos ao longo do tempo de fermentação do composto farelado Bokashi. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 14 - Composição de gêneros de fungos ao longo do tempo de fermentação do composto farelado Bokashi. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.

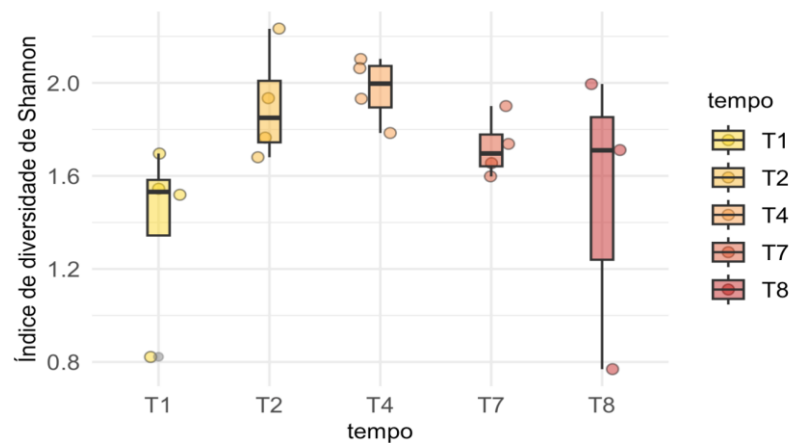


Fonte: Do Autor (2025)

A diversidade fúngica foi maior em tempos intermediários, provavelmente pela alta dominância de leveduras, no primeiro tempo, e de fungos filamentosos, no último (Figura 15). Já o número de espécies estimadas no composto aumentou ao longo do tempo (Figura 16). A

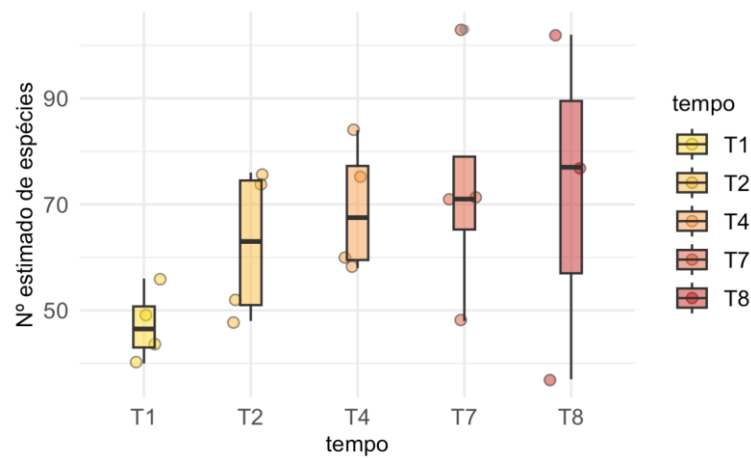
variação nos valores de riqueza e diversidade foi maior entre as comunidades após um maior tempo de fermentação.

Figura 15 - Índice de diversidade de Shannon para fungos ao longo do tempo de fermentação do composto farelado Bokashi. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 16 - Estimador de riqueza Chao1 ao longo do tempo de fermentação do composto farelado Bokashi. T1, T2, T4, T7 e T8 correspondem, respectivamente, aos tempos de 0, 3, 9, 18 e 21 dias após a inoculação da mistura de farelo de trigo e torta de mamona.



Fonte: Do Autor (2025)

4. DISCUSSÃO

4.1. Variáveis físico-químicas do composto

Os resultados mostram uma redução drástica do pH nos primeiros dias do processo de fermentação, associada a um aumento também drástico na condutividade elétrica do composto. Com base no modelo estatístico ajustado (Figura 5), o pH estimado diminuiu exponencialmente, a uma taxa de 1,2 unidades, até se estabilizar em 3,8. Já a condutividade elétrica aumentou a uma taxa de 0,5 unidades, estabilizando-se em 4,37 mS/cm. A queda brusca do pH observada nos primeiros dias de fermentação do Bokashi é um fenômeno que pode estar associado à atividade de microrganismos específicos como bactérias ácido-láticas (BAL) e leveduras, de modo semelhante ao observado no processo de ensilagem (Guo *et al.*, 2022). Este resultado é corroborado pela elevada abundância relativa de BAL e de leveduras dos gêneros *Pichia* e *Torulaspora* nos primeiros dias de fermentação do composto. Diversos autores associam esses grupos microbianos aos principais responsáveis pela fermentação inicial de açúcares simples e compostos solúveis presentes na mistura de farelos, umedecida, compactada e hermeticamente fechada, ou seja, em um ambiente microaerofílico (McDonald *et al.*, 1991; Muck *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2022; Lui *et al.*, 2024).

Por sua vez, o aumento da condutividade elétrica (CE) pode ser interpretado como um reflexo da liberação de íons solúveis no meio em decorrência da intensa atividade microbiana, isso porque a biodegradação de substâncias orgânicas complexas libera cátions (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+) e ânions (NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}), os quais elevam a concentração eletrolítica do composto (Insam e de Bertoldi, 2007). Paralelamente, a fermentação, ao promover a produção de ácidos orgânicos, como ácido láctico, ácido acético e ácido butírico, além de acidificar o meio, intensifica a solubilização de nutrientes e a liberação de íons H^+ , contribuindo para o aumento da CE (Pian, 2019).

Segundo Bernal, Albuquerque e Moral (2009), um ambiente com baixa concentração de oxigênio (1 a 10%), abundância de carboidratos solúveis e pH ligeiramente ácido cria condições que favorecem o desenvolvimento de microrganismos dos gêneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*, bem como de algumas leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*. Esses microrganismos metabolizam os açúcares do substrato por meio de vias fermentativas como a glicólise seguida pela fermentação láctica (homoláctica ou heteroláctica) e alcoólica, gerando produtos metabólicos como ácido láctico, ácido acético, etanol, CO_2 e, em alguns casos ácido butírico, além de outros ácidos orgânicos, dependendo da microbiota presente (Higa e Parr, 1994; Siqueira e Siqueira, 2013). Diversos autores citam que a acumulação desses ácidos orgânicos provoca a acidificação do meio, criando um ambiente desfavorável para

microrganismos indesejáveis e patógenos, como coliformes, clostrídios ou bactérias putrefativas, o que melhora a qualidade microbiológica de silagens e compostos fermentados (Tomich, 2003; Axelsson, 2004; Oliveira, 2015).

Portanto, é possível concluir que decréscimos no pH estão associados à eficiência do processo de fermentação láctica. Tomich (2003), citando Moisis e Heikoven (1994), aponta que apesar de todos os ácidos formados na fermentação contribuírem para a redução do pH do substrato, o ácido láctico possui fundamental papel nesse processo, por apresentar maior constante de dissociação que os demais, fato corroborado por Goulart *et al.* 2020, que sugere que dentre os ácidos sintetizados, o láctico é o que contribuiu em maior magnitude para a redução do pH do meio, e cuja síntese é favorecida em formulações balanceadas conjugadas a teores de umidade ideais em condições microaerófilas.

Desse modo o meio ácido é fundamental na manutenção da qualidade do composto fermentado e garante a preservação de nutrientes e a qualidade biológica do bioinsumo, pois inibe a ação de enzimas e microrganismos capazes de promover a deterioração do material orgânico, como *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., bolores (*Aspergillus*, *Penicillium*) e leveduras não ácido-tolerantes, que requerem pH mais neutro para crescimento e metabolismo (Axelsson, 2004). O pH ácido do substrato também interfere na homeostase intracelular desses microrganismos, inibindo enzimas fundamentais para processos como a glicólise, síntese proteica e replicação do DNA (McDonald *et al.*, 1991; Bernal, Albuquerque e Moral, 2009; Muck, 2010).

Adicionalmente, a conversão de compostos nitrogenados orgânicos em formas inorgânicas, sobretudo o amônio (NH_4^+), ocorre de forma favorecida em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio e pH reduzido, ampliando a presença de formas nitrogenadas solúveis (Abo-Sido *et al.*, 2021). Diferentemente da compostagem aeróbica, a fermentação microaerófila apresenta menores perdas gasosas, resultando na retenção de nutrientes em formas iônicas e, conseqüentemente, em maior acúmulo de eletrólitos no substrato (Insam e de Bertoldi, 2007; Bernal, Albuquerque e Moral, 2009). Dessa forma, o aumento gradual da CE indica a mineralização parcial dos nutrientes, tornando-os mais disponíveis às plantas após a aplicação do bioinsumo.

4.2. Ecologia das comunidades bacterianas e fúngicas associadas ao composto

Quanto aos resultados da análise microbiológica referente às bactérias, a PCA mostra os dados agrupados sem distinção entre os tratamentos (Figura 6), o que sugere que a microbiota é semelhante entre os diferentes tempos, sem mudanças detectáveis na abundância relativa, uma vez que a abundância relativa de filos e gêneros demonstra um domínio de certos grupos ou táxons, sendo a comunidade composta majoritariamente por microrganismos generalistas presentes em todos os tratamentos. Nesse caso, a PCA mostra pontos unidos no gráfico de ordenação (Legendre e Gallagher, 2001).

De acordo com a Figura 7, que mostra a variação da composição de filos bacterianos predominantes de acordo com o tempo de fermentação, é possível notar que há um predomínio quase total do filo *Bacillota* em relação ao *Actinomycetota* (os antigos *Firmicutes* e *Actinobacteria*, respectivamente) durante a fermentação do composto farelado, o que pode ser explicado principalmente pelas condições ambientais e nutricionais criadas no processo. A pré-ativação dos microrganismos em solução de água com açúcar mascavo pode ter atuado selecionando grupos adaptados a um ambiente rico em carboidratos simples, favorecendo microrganismos de rápido crescimento e metabolismo fermentativo, como diversas espécies de bactérias ácido-láticas (BAL).

As BAL são um grupo de microrganismos Gram-positivos que geralmente crescem em condições microaerólicas ou estritamente anaeróbicas (Bruno, 2011). Segundo Wang, Han e Lin (2023), esses organismos apresentam resistência a variações de pH e são muito eficientes em metabolizar açúcares solúveis, o que lhes confere vantagem competitiva nos estágios iniciais e intermediários da fermentação.

Quanto à abundância relativa no nível de gênero (Figura 8), nota-se que *Lactiplantibacillus* é o que aparece em maior número de T1 a T8. Este é um gênero de bactérias BAL homofermentativas que produzem ácido lático como principal produto da fermentação da glucose, o que tende a acidificar o meio, reduzindo o pH do mesmo (Bruno, 2011). Além disso, produzem bacteriocinas, peptídeos antimicrobianos que apresentam atividade inibitória contra outros microrganismos, como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, protistas, fungos e vírus, modulando, assim, a comunidade microbiana, direta e indiretamente (Guo *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024; Akhtar *et al.*, 2025; Azevedo e Gierus, 2025). Por esses motivos sua presença é considerada benéfica em processos de biopreservação de silagens e de alimentos (Cotter *et al.*, 2005).

Lactiplantibacillus plantarum (anteriormente conhecido como *Lactobacillus plantarum*) é uma espécie deste gênero que pode ser encontrada em uma ampla gama de nichos

ecológicos, desde o trato gastrointestinal humano até diferentes alimentos fermentados. Comercialmente, é usado como cultura inicial para uma variedade de fermentações de alimentos e como cultura probiótica (Zheng *et al.*, 2020). De acordo com Yilmaz *et al.* (2022), *L. plantarum* apresenta muitas propriedades funcionais na indústria alimentícia, atuando na melhoria da qualidade nutricional, das atividades antioxidantes e antimicrobianas, e na vida útil dos alimentos.

Seu uso também tem sido estudado no biocontrole de doenças de plantas. Daranas *et al.*, (2019) avaliaram cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* quanto à capacidade de controlar fitopatógenos importantes, tais como *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (kiwi), *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (ameixeira) e *Xanthomonas fragariae* (morango). Duas cepas se destacaram por sua atividade antagonista, tanto em testes *in vitro* quanto em condições de casa de vegetação, prevenindo os três patógenos de infectar suas respectivas plantas hospedeiras e apresentando eficácia comparável à de produtos comerciais de controle (como *Bacillus amyloliquefaciens*, cobre e fungicidas sintéticos). O mecanismo envolvia a redução do pH, por meio da produção de ácido láctico, e a efetiva colonização da superfície foliar, criando uma barreira contra os patógenos.

O gênero *Lacticaseibacillus* pertence à família *Lactobacillaceae* e é um grupo de bactérias ácido-láticas (BAL), metabolicamente próximas de *Lactiplantibacillus*. Durante a fermentação de um composto como o Bokashi, rico em açúcares simples e proteínas (farelo de trigo, farelo de mamona), cria-se um ambiente com baixa disponibilidade de oxigênio e com acúmulo progressivo de ácidos orgânicos. Nessas condições, *Lacticaseibacillus* encontra um nicho competitivo favorável, mas é citado como menos competitivo do que *Lactiplantibacillus*, pois este último tende a se estabelecer mais rapidamente devido à sua maior eficiência glicolítica (Zheng *et al.*, 2020). Assim, *Lacticaseibacillus* aparece como o segundo gênero mais abundante, possivelmente aproveitando substratos residuais e coexistindo em sinergia parcial, até ser gradualmente suprimido quando ocorre competição por nutrientes com outros gêneros ou quando sofre ação de substâncias antagonistas produzidas por gêneros mais abundantes e competitivos.

Este é um gênero utilizado na indústria alimentícia como cultura *starter* em processos fermentativos de alimentos e bebidas, devido à sua capacidade de produzir ácido láctico e compostos antimicrobianos, como bacteriocinas, que prolongam a vida útil e garantem a segurança microbiológica dos produtos (Marco *et al.*, 2017; Zheng *et al.*, 2020). Espécies como *Lacticaseibacillus casei* e *L. rhamnosus* são conhecidas por sua ação probiótica em humanos e animais, contribuindo para a modulação da microbiota intestinal, o reforço da imunidade e a

promoção da saúde digestiva (Hill *et al.*, 2014). Quanto à sua aplicabilidade em bioinsumos, esse gênero apresenta potencial, pois pode contribuir para o combate a fitopatógenos, acidificando o meio pela produção de ácido láctico e podendo ter ação contra taxas bacterianas e fúngicas no solo e na rizosfera por meio da produção de bacteriocinas. Um fato é que, ao participarem da decomposição da matéria orgânica, contribuem para acelerar a mineralização de nutrientes.

O aumento tardio de *Lentilactobacillus* (antes incluído em *Lactobacillus*) após o décimo dia pode estar associado ao seu metabolismo heterofermentativo, favorecido em ambientes com ácido láctico acumulado como substrato, convertendo-o em ácido acético e 1,2-propanodiol (Gänzle, 2015). O ácido acético tem forte atividade antifúngica, inibindo leveduras e bolores contaminantes que podem utilizar o lactato como fonte de energia, o que causa a deterioração e a perda de nutrientes no composto (Oude Elferink, 2001; Del Valle *et al.*, 2025).

Quanto aos índices de diversidade, estes indicam que, durante a fermentação do composto, há aumento do número de espécies nos últimos dias, refletindo um padrão de sucessão ecológica típico de comunidades microbianas em ambientes fermentativos (De Gannes, Eudoxie e Hickey, 2013; Keshri *et al.*, 2019; Sauer *et al.*, 2022). O índice de Shannon (Figura 11), que considera simultaneamente a riqueza de espécies e sua equabilidade, foi inicialmente reduzido devido à predominância de poucos grupos, como os lactobacilos, que rapidamente exploram açúcares simples como fonte de energia (Zheng *et al.*, 2020). Com o avanço do processo, a diminuição desses substratos primários e a formação de metabólitos secundários favoreceram o estabelecimento de microrganismos acidotolerantes e de decompositores de compostos mais complexos, promovendo uma comunidade mais equitativa e funcional (Lauber *et al.*, 2009; Shade *et al.*, 2012).

De forma complementar, o índice Chao1 (Figura 10), que estima a riqueza incluindo espécies raras, apresentou valores mais elevados nos estágios finais da fermentação, sugerindo a emergência de táxons de baixa abundância que ocuparam nichos metabólicos secundários formados pela transformação progressiva da matriz orgânica (Lozupone e Knight, 2008; Callahan *et al.*, 2016). Esse comportamento indica uma transição de uma comunidade dominada por poucos grupos iniciais para um consórcio microbiano mais diverso e resiliente, fenômeno recorrente em processos fermentativos e compostagem (Partanen *et al.*, 2010; Antunes *et al.*, 2016).

Sobre a comunidade fúngica, sua composição variou ao longo do tempo de fermentação do composto farelado Bokashi com os pontos representando as repetições separadas em um gradiente temporal bem definido, com os tratamentos seguindo uma ordenação crescente de T1

a T8, indicando que, conforme o tempo avança, mais distintas as comunidades se tornam (Figura 12). Esse comportamento indica que houve seleção de espécies de fungos conforme as condições do meio variavam. Os índices de Shannon (Figura 15) e de Chao1 (Figura 16) elucidam esse comportamento, apesar da alta variação entre as amostras.

O filo *Ascomycota* dominou as comunidades em todos os tempos estudados (Figura 13). Esse predomínio pode ser explicado pela elevada plasticidade metabólica do grupo, que inclui tanto leveduras fermentativas quanto fungos filamentosos sapróbios, capazes de utilizar desde açúcares solúveis disponíveis nos estágios iniciais até polímeros mais complexos nas fases finais da fermentação. Além disso, muitas espécies de *Ascomycota* apresentam tolerância a condições de pH ácido, microaerofilia e até anoxia, fatores que conferem vantagem competitiva em relação a outros filos, como *Basidiomycota* e *Mucoromycota*, geralmente menos tolerantes a essas condições e mais dependentes da presença de oxigênio. A capacidade de formar estruturas reprodutivas resistentes, como ascósporos e conídios, também favorece sua persistência em ambientes de alta flutuação físico-química, garantindo a manutenção da dominância ao longo do processo (Lozupone e Knight, 2008; Kurtzman, Fell e Boekhout, 2011; Shade *et al.*, 2012; Deacon, 2013).

Quanto à diversidade no nível de gênero (Figura 14), é possível traçar uma sucessão ecológica guiada pela disponibilidade de substratos, pelas condições físico-químicas e pela competição interespecífica. Inicialmente, nota-se um predomínio do gênero *Pichia*, microrganismos pertencentes ao grupo de leveduras anaeróbicas facultativas, que metabolizam açúcares tanto pela via respiratória quanto pela via fermentativa, e estão no subgrupo das leveduras respiratórias, as quais catabolizam mais de 70 % dos açúcares pela respiração (Venturini Filho, 2017). Kurtzman, Fell e Boekhout (2011) citam espécies desse gênero associadas à fermentação de condimentos a base de azeitonas, pepinos, *Kimchi* (prato tradicional coreano de vegetais salgados e fermentados, rico em probióticos), cacau e também presente em silagens, isso porque segundo os autores, espécies de *Pichia* são comuns em ambientes ricos em açúcares, como frutas, fermentações e compostos orgânicos em decomposição.

Outro gênero dominante no início do processo fermentativo é o *Torulaspora*, que abrange espécies como *T. delbrueckii*, que segundo Benito (2018) é a espécie de levedura não-*Saccharomyces* mais utilizada e comercializada pela indústria alimentícia, como uma alternativa à utilização de *Saccharomyces* spp. nos estágios iniciais de fermentações espontâneas e naturais na produção de bebidas alcoólicas, devido à sua boa capacidade de converter açúcares fermentáveis em etanol.

O declínio na abundância desses gêneros ao longo do tempo pode estar relacionado à tolerância fisiológica às condições do meio. Segundo Kurtzman, Fell e Boekhout (2011), a alta disponibilidade de açúcares solúveis, provenientes da ativação com açúcar mascavo, associada a um bom nível de umidade (em torno de 50%), favorecem o crescimento de leveduras fermentativas como as do gênero *Pichia*, conhecidas por crescer em ambientes ricos em açúcares e apresentarem baixa tolerância a altos níveis de etanol no meio (Cho e Jeffries, 1998). Isso explica sua dominância no início do processo fermentativo, mas conforme os açúcares são consumidos e compostos inibidores se acumulam, sua abundância tende a diminuir. O gênero *Torulaspora* também engloba leveduras adaptadas a metabolizar açúcares facilmente assimiláveis e a condições osmóticas elevadas, apesar de possuírem certa resistência ao estresse osmótico, têm baixa competitividade em substratos complexos (como celulose, lignina e hemiceluloses), que são abundantes em etapas mais avançadas no processo de fermentação (García *et al.*, 2016).

Por outro lado, é possível notar um aumento gradual dos gêneros *Xeromyces* e *Aspergillus* à medida que o tempo avança. O gênero *Xeromyces* pertence à família *Trichocomaceae* (mesma de *Aspergillus* e *Penicillium*) e foi descrito principalmente pela espécie *X. bisporus*, um fungo xerofílico (adaptado a ambientes com baixa atividade de água). Segundo Pitt e Hocking (2009) e Leong *et al.* (2015), esse gênero se destaca como um dos mais extremos em termos de tolerância à baixa disponibilidade hídrica, crescendo em substratos ricos em açúcares ou em sais. Apesar da preferência por ambientes secos, estudos mostram que o gênero *Xeromyces* tolera pH ácido (3,0 – 5,0), o que favorece seu crescimento em meios fermentativos, especialmente quando outros fungos, menos resistentes à baixa disponibilidade hídrica e à acidificação, começam a declinar. Ainda segundo os autores supracitados, é considerado um fungo de crescimento lento, porém competitivo em nichos extremos onde outros microrganismos não conseguem prosperar.

Durante a fermentação, a disponibilidade de açúcares solúveis diminui e a atividade de água também pode ser reduzida, tanto pelo consumo microbiano quanto pela produção de metabólitos que alteram a osmolaridade. Nessas condições, *Xeromyces* encontra vantagem competitiva e sua abundância crescente pode indicar uma sucessão ecológica fúngica típica, onde microrganismos mais generalistas, como leveduras cedem espaço a organismos especializados em ambientes extremos (Leong *et al.*, 2015).

Aspergillus é descrito como um dos gêneros de fungos filamentosos mais amplamente distribuídos em ambientes naturais, associado tanto a solos quanto a substratos orgânicos em decomposição. Na compostagem aeróbica, *Aspergillus* figura entre os principais fungos ativos

nas fases iniciais e intermediárias, degradando substratos solúveis e participando da transição para a degradação de compostos lignocelulósicos (Ryckeboer *et al.*, 2003). Possui elevada capacidade enzimática, incluindo amilases, celulasas, hemicelulasas e lipases, o que lhe confere um papel fundamental na degradação de polímeros complexos da matéria orgânica (Machida e Katsuya, 2010; Andersen *et al.*, 2011). Embora *Aspergillus* seja tipicamente aeróbico, estudos demonstram que espécies desse gênero podem se estabelecer em ambientes com baixa concentração de oxigênio (Hall e Denning, 1994), inclusive ocorrendo em silagens de milho (Alonso *et al.*, 2017), principalmente em fases tardias da fermentação, quando o consumo de açúcares simples pelas leveduras já reduziu a competição direta.

O gênero também apresenta resistência a condições ácidas, o que favorece sua colonização em meio acidificado pela fermentação láctica, com formação de micélios resistentes e esporos conidiais que toleram condições ambientais adversas (Wheeler, Hurdman e Pitt, 1991 e Park, *et al.*, 1996). Isso explica por que *Aspergillus* não é dominante nos primeiros dias (quando há excesso de açúcares e predominância de leveduras fermentativas), mas aumenta gradualmente em abundância ao longo do processo, ocupando nichos de degradação de resíduos mais recalcitrantes.

Um estudo de Baron *et al.*, (2017) comprovou pela primeira vez que duas espécies deste gênero, *A. sydowii* e *A. brasiliensis*, foram eficientes em solubilizar fósforo inorgânico, promovendo um melhor desenvolvimento na cultura do milho. Khuna *et al.*, (2023) também descreveram três espécies do gênero como eficientes na solubilização de fosfato, destacando sua importância como bioestimulantes do crescimento vegetal em testes feitos com mandioca e cana-de-açúcar. Por fim, um estudo recente de Chauhan *et al.*, (2024), descreve um isolado desse gênero, *Aspergillus terreus* CR7 como um importante fungo endofítico capaz de produzir IAA (hormônio vegetal), solubilizar P, e melhorar biomassa e conteúdo de clorofila em plantas de *Vigna radiata* L. (feijão mungo) sob estresse salino, demonstrando a plasticidade do gênero.

Os índices de diversidade microbiana Shannon e Chao1 (Gráficos 9 e 10, respectivamente) apresentaram valores mais elevados na fase intermediária do processo de fermentação, indicando maior riqueza e equabilidade das comunidades nesse período. Esse padrão pode estar associado à sucessão microbiana característica de ambientes fermentativos, em que a disponibilidade de nichos é mais heterogênea no estágio intermediário (Partanen *et al.*, 2010; Bernal, Albuquerque e Moral, 2009; De Gannes, Eudoxie e Hickey, 2013; Keshri *et al.*, 2019). Nesse ponto, ainda há açúcares solúveis para leveduras fermentativas, enquanto ácidos orgânicos e metabólitos já acumulados favorecem bactérias ácido-láticas e iniciam o desenvolvimento de fungos filamentosos, como *Aspergillus*.

Essa sobreposição de grupos funcionais distintos promove o aumento da diversidade observada, diferentemente dos estágios iniciais, dominados por poucos microrganismos especializados em açúcares simples, e dos estágios finais, em que apenas populações adaptadas a condições mais restritivas (pH ácido, baixa disponibilidade de substratos simples e de oxigênio) predominam. Padrões semelhantes são relatados em estudos de compostagem e silagem, nos quais a diversidade tende a atingir um pico intermediário antes de declinar nos estágios finais do processo (McDonald *et al.*, 1991; Ryckeboer *et al.*, 2003; Lozupone e Knight, 2008; Shade *et al.*, 2012).

5. CONCLUSÕES

O processo fermentativo do Bokashi apresentou uma sucessão microbiana com variações graduais na composição de bactérias e fungos, diretamente relacionadas às transformações físico-químicas do substrato.

A captura de microrganismos nativos com arroz cozido mostrou-se um método simples e econômico para obter inóculos eficazes para promover a fermentação do Bokashi.

REFERÊNCIAS

- Abo-Sido N., Goss, J. W., Griffith, A. B., Klepacceraaj, V. **Microbial transformation of traditional fermented fertilizer bokashi alters chemical composition and improves plant growth**. BioRxiv, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.08.01.454634>. Acesso em: 10.dez.2023.
- Azis, F.A.; Choo, M.; Suhaimi, H.; Abas, P.E. **The Effect of Initial Carbon to Nitrogen Ratio on Kitchen Waste Composting Maturity**. *Sustainability* **2023**, *15*, 6191. <https://doi.org/10.3390/su15076191> Acesso em: 16 jul. 2025
- Alonso V, Cavaglieri L, Ramos AJ, Torres A, Marin S. **Modelling the effect of pH and water activity in the growth of *Aspergillus fumigatus* isolated from corn silage**. *J Appl Microbiol*. 2017 Apr;122(4):1048-1056. doi: 10.1111/jam.13395. Epub 2017 Feb 15. PMID: 28052586. Acesso em: 14 mar. 2025.
- Akhhtar MF, Wenqiong C, Umar M and Changfa W (2025) **Biochemical properties of lactic acid bacteria for efficient silage production: an update**. *Front. Microbiol*. 16:1581430. doi: 10.3389/fmicb.2025.1581430
- Andersen MR, Salazar MP, Schaap PJ, et al [...] **Comparative genomics of citric-acid-producing *Aspergillus niger* ATCC 1015 versus enzyme-producing CBS 513.88**. *Genome Res*. 2011 Jun;21(6):885-97. doi: 10.1101/gr.112169.110. Epub 2011 May 4. PMID: 21543515; PMCID: PMC3106321.
- Andrade, F. C. A. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. Cuiabá: Ed. Triagem, 2011.
- Antunes LP, Martins LF, Pereira RV, Thomas AM, Barbosa D, Lemos LN, Silva GM, Moura LM, Epamino GW, Digiampietri LA, Lombardi KC, Ramos PL, Quaggio RB, de Oliveira JC, Pascon RC, Cruz JB, da Silva AM, Setubal JC. **Microbial community structure and dynamics in thermophilic composting viewed through metagenomics and metatranscriptomics**. *Sci Rep*. 2016 Dec 12;6:38915. doi: 10.1038/srep38915. PMID: 27941956; PMCID: PMC5150989.
- Axelsson, L. (2004) **Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology**. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, 1-67. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1> Acesso em: 14 jun. 2025
- Azevedo, P.O.d.S.d. and Gierus, M. (2025), **Lactic Acid Bacteria and Bacteriocins in Feed Preservation: Mechanisms and Antifungal Properties**. *Grass Forage Sci*, 80: e12711. <https://doi.org/10.1111/gfs.12711> Acesso em: 13 jun. 2025
- Baron, N.C., Costa, N.T.A., Mochi, D.A. *et al*. **First report of *Aspergillus sydowii* and *Aspergillus brasiliensis* as phosphorus solubilizers in maize**. *Ann Microbiol* 68, 863–870 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1392-5> Acesso em: 03 jun. 2025.
- Benito S. **The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking**. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018 Apr;102(7):3081-3094. doi: 10.1007/s00253-018-8849-0. Epub 2018 Feb 28. PMID: 29492641. Acesso em: 09 mai. 2025.
- Bernal, M. P., J.A. Albuquerque, J. A. e Moral, R. **Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment**. A review, *Bioresource Technology*, Volume 100, Issue 22, 2009, Pages 5444-5453, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>. Disponível

em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408009917>) Acesso em: 12 jul. 2025.

BRASIL. **Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020.** Institui o Programa Nacional de Bioinsumos. *Diário Oficial da União: seção I*, Brasília, DF, 27 maio 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2020/decreto/d10375.htm. Acesso em: 16 ago. 2025.

Bruno, Laura Maria. **Manual de curadores de germoplasma - Micro-organismos: Bactérias Ácido-Láticas.** / Laura Maria Bruno. - Brasília, Df: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 15 p. - (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 336; Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, 151).

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R. **Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample.** *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 15;108 Suppl 1(Suppl 1):4516-22. doi: 10.1073/pnas.1000080107. Epub 2010 Jun 3. PMID: 20534432; PMCID: PMC3063599.

Chauhan P, Singh M, Sharma A, Singh M, Chadha P, Kaur A. **Halotolerant and plant growth-promoting endophytic fungus *Aspergillus terreus* CR7 alleviates salt stress and exhibits genoprotective effect in *Vigna radiata*.** *Front Microbiol*. 2024 Feb 9;15:1336533. doi: 10.3389/fmicb.2024.1336533. PMID: 38404598; PMCID: PMC10884769.

Cho J, Jeffries TW. 1998. ***Pichia stipitis* Genes for Alcohol Dehydrogenase with Fermentative and Respiratory Functions.** *Appl Environ Microbiol* 64:. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.4.1350-1358.1998> Acesso em: 23 jun. 2025

Cotter PD, Hill C, Ross RP. **Bacteriocins: developing innate immunity for food.** *Nat Rev Microbiol*. 2005 Oct;3(10):777-88. doi: 10.1038/nrmicro1273. PMID: 16205711. Acesso em: 21 ago. 2025.

Daranas N, Roselló G, Cabrefiga J, Donati I, Francés J, Badosa E, Spinelli F, Montesinos E, Bonaterra A. **Biological control of bacterial plant diseases with *Lactobacillus plantarum* strains selected for their broad-spectrum activity.** *Ann Appl Biol*. 2019 Jan;174(1):92-105. doi: 10.1111/aab.12476. Epub 2018 Nov 26. PMID: 30686827; PMCID: PMC6334523. Acesso em: 06 jul. 2025.

Deacon, Jim. (2013). **Fungal Biology**, 4th Edition. DOI:10.1002/9781118685068.ch8.

de Gannes V, Eudoxie G, Hickey WJ. **Prokaryotic successions and diversity in composts as revealed by 454-pyrosequencing.** *Bioresour Technol*. 2013 Apr;133:573-80. doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.138. Epub 2013 Feb 5. PMID: 23475177.

Del Valle, T. A. Campana, A. Oliveira, E. R. Capucho, E. [et al...] **Effectiveness of combining *Lentilactobacillus buchneri*, *Lentilactobacillus hilgardii*, and lemongrass essential oil in rehydrated corn silage preservation,** *Animal Feed Science and Technology*, Volume 327, 2025, 116441, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2025.116441>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840125002366>) Acesso em: 22 jun. 2025.

Footer, Adam. **Bokashi Composting: Scraps to Soil in Weeks.** 1. ed. Londres: Author House, 2014. ISBN 978-0-86571-752-7

Gänzle, M. G. (2015). **Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage.** *Current Opinion in Food Science*. 2. 10.1016/j.cofs.2015.03.001.

García M, Greetham D, Wimalasena TT, Phister TG, Cabellos JM, Arroyo T. **The phenotypic characterization of yeast strains to stresses inherent to wine fermentation in warm climates.** *J Appl Microbiol*. 2016 Jul;121(1):215-33. doi: 10.1111/jam.13139. Epub 2016 May 21. PMID: 26999790.

Goulart, J. M. (2020) **Estratégias de produção in situ de biomassa de leguminosas arbustivas e arbórea para a confecção de compostos fermentados empregados na fertilização de cenoura e alface consorciadas em cultivo orgânico**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Goulart J. M., Guerra, J. G. M., Almeida, L. H., Araújo E. S, Rumjanek N. G., Espindola J. A. A., Andrade, K. M., Aguiar, L. A. e Rosa, R. C. C. (2024) **Compostos fermentados do tipo Bokashi: formulações, fontes de inóculo, indicadores de qualidade e estimativa do custo de produção**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brasil. ISSN 1676-6709

Guo, X., Xu, D., Li, F., Bai, J. & Su, R. (2023) **Current approaches on the roles of lactic acid bacteria in crop silage**. *Microbial Biotechnology*, 16, 67–87. Available from: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14184> Acesso em: 23 jun. 2025

Hall LA, Denning DW. **Oxygen requirements of *Aspergillus* species**. *J Med Microbiol*. 1994 Nov;41(5):311-5. doi: 10.1099/00222615-41-5-311. PMID: 7966201.

Higa, T., & Parr, J. F. (1994). **Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment**. International Nature Farming Research Center, Atami, Japan.

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. **The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic**. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug;11(8):506-14. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66. Epub 2014 Jun 10. PMID: 24912386. Acesso em: 26 mai. 2025.

Insam, H. e de Bertoldi, M. **Microbiology of the composting process**. Waste Management Series, Elsevier, Volume 8, 2007, Pages 25-48, ISSN 1478-7482, ISBN 9780080439600, [https://doi.org/10.1016/S1478-7482\(07\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S1478-7482(07)80006-6). Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1478748207800066> Acesso em: 26 jun. 2025.

Keshri J, Chen Y, Pinto R, Kroupitski Y, Weinberg ZG, Sela Saldinger S. **Bacterial Dynamics of Wheat Silage**. *Front Microbiol*. 2019 Jul 9;10:1532. doi: 10.3389/fmicb.2019.01532. PMID: 31354651; PMCID: PMC6632545.

Khuna, S.; Kumla, J.; Srinuanpan, S.; Lumyong, S.; Suwannarach, N. **Multifarious Characterization and Efficacy of Three Phosphate-Solubilizing *Aspergillus* Species as Biostimulants in Improving Root Induction of Cassava and Sugarcane Stem Cuttings**. *Plants* **2023**, *12*, 3630. <https://doi.org/10.3390/plants12203630> Acesso em: 01 abr. 2025.

Kruker, G.; Guidi, E.S.; Santos, J.M.d.S.d.; Mafra, Á.L.; Almeida, J.A.d. **Quality of Bokashi-Type Biofertilizer Formulations and Its Application in the Production of Vegetables in an Ecological System**. *Horticulturae* **2023**, *9*, 1314. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121314> Acesso em: 09 jul. 2025.

Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T. and Robert, V. (2011) **Methods for isolation phenotypic characterization and maintenance of yeasts**. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W. and Boekhout, T., Eds., *The Yeasts a Taxonomic Study*, 5th Edition, Elsevier, Amsterdam, Netherlands. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0> Acesso em: 05 ago. 2025.

Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N. **Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale**. *Appl Environ Microbiol*. 2009 Aug;75(15):5111-20. doi: 10.1128/AEM.00335-09. Epub 2009 Jun 5. PMID: 19502440; PMCID: PMC2725504. Acesso em: 01 mai. 2025.

- Legendre, P., Gallagher, E.D. **Ecologically meaningful transformations for ordination of species data.** *Oecologia* 129, 271–280 (2001). <https://doi.org/10.1007/s004420100716> Acesso em: 14 jun. 2025.
- Leong, S.-I.L., Lantz, H., Pettersson, O.V., Frisvad, J.C., Thrane, U., Heipieper, H.J., Dijksterhuis, J., Grabherr, M., Pettersson, M., Tellgren-Roth, C. and Schnürer, J. (2015), ***Xeromyces bisporus* genome, transcriptome and physiology.** *Environ Microbiol*, 17: 496-513. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12596> Acesso em: 13 jul. 2025
- Li, Z., Usman, S., Zhang, J. *et al.* **Effects of bacteriocin-producing *Lactiplantibacillus plantarum* on bacterial community and fermentation profile of whole-plant corn silage and its in vitro ruminal fermentation, microbiota, and CH₄ emissions.** *J Animal Sci Biotechnol* 15, 107 (2024). <https://doi.org/10.1186/s40104-024-01065-w> Acesso em: 12 abr. 2025.
- Lindgren SE, Dobrogosz WJ. **Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations.** *FEMS Microbiol Rev.* 1990 Sep;7(1-2):149-63. doi: 10.1111/j.1574-6968.1990.tb04885.x. PMID: 2125429.
- Liu, J., Zhao, M., Hao, J. *et al.* **Effects of temperature and lactic acid Bacteria additives on the quality and microbial community of wilted alfalfa silage.** *BMC Plant Biol* 24, 844 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05501-x> Acesso em: 13 jul. 2025
- Lozupone CA, Knight R. **Species divergence and the measurement of microbial diversity.** *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Jul;32(4):557-78. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x. Epub 2008 Apr 22. PMID: 18435746; PMCID: PMC2443784. Acesso em: 21 jun. 2025.
- Machida Masayuki and Katsuya Gomi. *Aspergillus: Molecular Biology and Genomics* Caister Academic Press 2010, 238 pp. ISBN: 978-1-904455-53-0 DOI: 10.1002/biot.201000025
- Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, Gänzle M, Kort R, Pasin G, Pihlanto A, Smid EJ, Hutkins R. **Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond.** *Curr Opin Biotechnol.* 2017 Apr;44:94-102. doi: 10.1016/j.copbio.2016.11.010. Epub 2016 Dec 18. PMID: 27998788.
- McDonald, A. R. Henderson S. J. E. Heron and Webster J. **The Biochemistry of Silage** (Second Edition). By P. Marlow, Bucks, UK: Chalcombe Publications, (1991), pp. 340, £49.50, ISBN 0-948617-225. *Experimental Agriculture.* 1992;28(1):125-125. doi:10.1017/S0014479700023115 Acesso em: 20 abr. 2025.
- Moisio, T., Heikonen, M. **Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid.** *Animal Feed Science and Technology*, v.47, n.1, p.107-124, 1994.
- Moubareck CA, Alawlaqi B, Alhajer S. **Characterization of physicochemical parameters and bacterial diversity of composted organic food wastes in Dubai.** *Heliyon.* 2023 May 23;9(6):e16426. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16426. PMID: 37274727; PMCID: PMC10238688.
- Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung Jr, L. (2018). **Silage review: Recent advances and future uses of silage additives.** *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3980–4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839> Acesso em: 14 jul. 2025
- Nilsson RH, Larsson KH, Taylor AFS, Bengtsson-Palme J, Jeppesen TS, Schigel D, Kennedy P, Picard K, Glöckner FO, Tedersoo L, Saar I, Kõljalg U, Abarenkov K. **The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications.** *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D259-D264. doi: 10.1093/nar/gky1022. PMID: 30371820; PMCID: PMC6324048.

Oliveira, Eva Adriana Gonçalves de, (2015) - **Formulações tipo “bokashi” como fertilizantes orgânicos no cultivo de hortaliças**. Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de PósGraduação em Fitotecnia.

Oude Elferink SJWHKrooneman J, Gottschal JC, Spoelstra SF, Faber F, Driehuis F. 2001. **Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri***. Appl Environ Microbiol 67:. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001> Acesso em: 15 mai. 2025.

Partanen, Pasi & Hultman, Jenni & Paulin, Lars & Auvinen, Petri & Romantschuk, Martin. (2010). **Bacterial diversity at different stages of the composting process**. BMC microbiology. 10. 94. 10.1186/1471-2180-10-94.

Park, J. C., Matsuoka, H., Takatori, K., & Kurata, H. (1996). **Adaptation of *Aspergillus niger* to acidic conditions and its relationship to salt stress and miconazole**. *Mycological Research*, 100(7), 869-874. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80037-2](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80037-2)

Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (2009) **Fungi and Food Spoilage**. 3rd Edition, Springer Dordrecht Heidelberg London New York Cambridge, 519 p. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2> Acesso em: 11 mar. 2025.

Pian, Livia Bischof (2019) **Fertilização de origem vegetal em atributos do solo e no desempenho agroeconômico de hortaliças em sistemas orgânicos**. Tese (Doutorado). - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Agronomia Ciência do Solo, 20

Primavesi, A. (2006) **Manejo ecológico do solo**. 18 ed. São Paulo: Nobel

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. **The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools**. Nucleic Acids Res. 2013 Jan;41(Database issue):D590-6. doi: 10.1093/nar/gks1219. Epub 2012 Nov 28. PMID: 23193283; PMCID: PMC3531112.

R Core Team (2025). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Ribeiro, N. de Q., Souza, T. P., Costa, L. M. A. S., Castro, C. P. de ., & Dias, E. S.. (2017). **Microbial additives in the composting process**. *Ciência E Agrotecnologia*, 41(2), 159–168. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017412038216> Acesso em: 02 mai. 2025.

Ryckeboer, Jaak & Mergaert, J & Vaes, K & Klammer, S & De Clercq, Deborah & Coosemans, J & Insam, Heribert & Swings, Jean. (2003). **A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes**. Annals of Microbiology. 53. 349-410.

Santos, M. S.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. **Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture**. AMB Express, v. 9, n. 205, 2019. DOI: 10.1186/s13568-019-0932-0.

Sauer, S.; Dlugosch, L.; Milke, F.; Brinkhoff, T.; Kammerer, D.R.; Stintzing, F.C.; Simon, M. **Succession of Bacterial and Fungal Communities during Fermentation of Medicinal Plants**. *Fermentation* 2022, 8, 383. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080383>

Schoch, Conrad & Seifert, Keith & Huhndorf, S.M. & Robert, Vincent & Spouge, John & Levesque, C & Chen, Wen & Janzen, Daniel & Consortium, Agathe. (2012). **Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi**. Proc Natl Acad Sci USA. Proceedings of the National Academy of Sciences. 24.

Shade A, Peter H, Allison SD, Baho DL, Berga M, Bürgmann H, Huber DH, Langenheder S, Lennon

JT, Martiny JB, Matulich KL, Schmidt TM, Handelsman J. **Fundamentals of microbial community resistance and resilience**. Front Microbiol. 2012 Dec 19;3:417. doi: 10.3389/fmicb.2012.00417. PMID: 23267351; PMCID: PMC3525951. Acesso em: 22 mai. 2025.

Siqueira, A.P.P. e Siqueira, M.F.B. **Bokashi: adubo orgânico fermentado**. Niterói: Programa Rio Rural, 2013. 16p. (Programa Rio Rural Manual Técnico, 40). Programa de Desenvolvimento Rural Sustentável em Microbacias Hidrográficas do Estado do Rio de Janeiro. Secretaria de Agricultura e Pecuária. ISSN 1983-5671

Tomich, Thierry Ribeiro. **Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003.

Venturini Filho, W. G., Figueira, R., Sartori, M. M. P., Auer S., Andrade, T. L. L. **QUANTIFICAÇÃO DO METABOLISMO AERÓBIO E ANAERÓBIO DE LEVEDURA ALCOÓLICA SOB DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS**. B.CEPPA, Curitiba, v. 35, n. 2, jul./dez. 2017

Vidal, Mariane & Dias, Rogerio. (2023). **BIOINSUMOS A PARTIR DAS CONTRIBUIÇÕES DA AGROECOLOGIA**. Revista Brasileira de Agroecologia. 18. 171-192. 10.33240/rba.v18i1.23735.

Wang, Peiyuan & Han, Siqi & Lin, Yanbing. (2023). **Role of microbes and microbial dynamics during composting**. DOI:10.1016/B978-0-323-91874-9.00011-5.

Wheeler KA, Hurdman BF, Pitt JI. **Influence of pH on the growth of some toxigenic species of Aspergillus, Penicillium and Fusarium**. Int J Food Microbiol. 1991 Feb;12(2-3):141-9. doi: 10.1016/0168-1605(91)90063-u. PMID: 2049282.

White, T.J. & Bruns, Tom & Lee, Steven & Taylor, John. (1989). **Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal Rna Genes for Phylogenetics**. 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.

Yilmaz B., Echegaray N., Sharma H., Kumar M., Pateiro M., Ozogul F., Lorenzo J. M. **A novel approach to Lactiplantibacillus plantarum: From probiotic properties to the omics insights**, Microbiological Research, Volume 268, 2023, 127289, ISSN 0944-5013, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127289>. Acesso em: 13 jun. 2025.

Zheng, Jinshui, et al. **"A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae."** *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 70.4 (2020): 2782-2858.

CAPÍTULO 3 – Avaliação de Bokashi como Fonte de Microrganismos Benéficos no Desenvolvimento Inicial de Mudas de *Mimosa caesalpiniiifolia*

RESUMO

A busca por estratégias sustentáveis e eficientes para a produção de mudas de espécies florestais nativas tem ganhado relevância diante dos desafios impostos pela necessidade de restauração ecológica, sendo a fase inicial do desenvolvimento uma etapa crítica para o estabelecimento de plantas vigorosas no campo. Nesse contexto, o uso de bioinsumos como o Bokashi, tem emergido como uma tecnologia baseada em princípios agroecológicos e com alto potencial para promover a saúde do solo e melhorar o desempenho vegetal. Tradicionalmente utilizado como composto orgânico enriquecido, o Bokashi é um produto da fermentação de resíduos vegetais conduzida por comunidades microbianas benéficas. Muitos estudos abordam os efeitos do Bokashi na nutrição e crescimento de plantas cultivadas, principalmente na olericultura orgânica. Contudo, ainda são incipientes as investigações que enfocam seu papel como veículo de microrganismos benéficos e sua influência no estabelecimento de plântulas de espécies arbóreas. Diante disso, este estudo visa explorar a contribuição do Bokashi como fonte ativa de microbiota funcional em mudas de *Mimosa caesalpiniiifolia*, analisando aspectos microbiológicos, fisiológicos e agrônômicos. Para isso, um composto farelado fermentado foi produzido com microrganismos nativos provenientes de uma área de ocorrência de *Mimosa caesalpiniiifolia*. Para avaliar a efetividade dos microrganismos no desenvolvimento das mudas dessa mesma espécie florestal, promoveu-se uma redução gradual da comunidade microbiana, por meio de diluições e tratamentos térmicos, no composto inoculado. O plantio foi realizado em tubetes de 280 mL, com substrato *Carolina Soil*. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial com tratamentos adicionais e seis repetições por tratamento: 2 diluições (composto diluído e sem diluição) x 3 temperaturas (sem aquecimento, aquecido a 50 e 80 °C) + três controles (absoluto, mistura de farelos in natura e isca ativada). Uma dose do composto fermentado inoculado foi aplicada em cada tubete no momento do plantio. O desenvolvimento das mudas foi acompanhado durante 90 dias em casa de vegetação, onde, ao final desse período, dados fitotécnicos das plantas, como altura da parte aérea, diâmetro do colo, peso da parte aérea e da raiz e o índice de qualidade de Dickson, foram analisados estatisticamente. Amostras do solo rizosférico de T1 (composto não diluído e não aquecido) e de T4 (composto diluído e não aquecido) foram submetidas à extração de DNA e ao sequenciamento das regiões V4 do gene RNAr 16S e ITS. Os resultados demonstraram que o

composto não diluído apresentou médias relativamente maiores do que os demais tratamentos, e as análises microbiológicas da rizosfera indicaram que a forma concentrada do composto favoreceu maior diversidade bacteriana, enquanto a diluída sustentou maior diversidade fúngica, indicando que diferentes regimes de inoculação modulam a composição da rizosfera. Ambos os tratamentos demonstraram gêneros importantes agronomicamente, com destaque para *Streptomyces*, *Pseudonocardia*, *Nocardioides*, *Devosia* e *Chujaibacter*, entre as bactérias, e *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Phialemonium*, entre os fungos, microrganismos que, por diversos serviços ecossistêmicos, podem contribuir, direta e indiretamente, para a promoção da saúde do solo e das plantas.

Palavras-chave: Bokashi; *Mimosa caesalpinifolia*; rizosfera; inoculação

ABSTRACT

The search for sustainable, efficient strategies to produce seedlings of native forest species has become increasingly important, given the challenges of ecological restoration, with the early development phase critical for establishing vigorous plants in the field. In this context, the use of bioinputs such as Bokashi has emerged as a technology rooted in agroecological principles, with strong potential to promote soil health and enhance plant performance. Traditionally applied as an enriched organic compost, Bokashi results from the fermentation of plant residues driven by beneficial microbial communities. Numerous studies have examined its effects on the nutrition and growth of cultivated plants, particularly in organic vegetable farming. However, research addressing its role as a carrier of beneficial microorganisms and its influence on tree seedling establishment remains incipient. This study, therefore, aimed to investigate the contribution of Bokashi as an active source of functional microbiota in *Mimosa caesalpiniiifolia* seedlings, analyzing microbiological, physiological, and agronomic aspects. For this purpose, fermented bran compost was produced using microorganisms native to the area where *M. caesalpiniiifolia* naturally occurs. To assess the effectiveness of these microorganisms on seedling development, the microbial community was gradually reduced by diluting and heat-treating the inoculated compost. Seedlings were planted in 280 mL tubes filled with Carolina Soil substrate. The experimental design was a randomized complete block in a factorial scheme with additional treatments and six replicates per treatment: two dilutions (diluted and undiluted compost) $\times$ three temperatures (unheated, heated to 50 °C, and heated to 80 °C) plus three controls (absolute control, raw bran mixture, and activated bait). A dose of inoculated fermented compost was applied to each tube at planting. Seedling development was monitored for 90 days in a greenhouse, after which phytotechnical traits—including shoot height, stem diameter, shoot and root biomass, and the Dickson quality index—were statistically analyzed. Rhizosphere soil samples from T1 (undiluted, unheated compost) and T4 (diluted, unheated compost) underwent DNA extraction and sequencing of the V4 region of the 16S rRNA gene and the ITS region. Results showed that the undiluted compost yielded higher average values than the other treatments. Microbiological analyses of the rhizosphere indicated that the concentrated compost favored greater bacterial diversity, while the diluted compost supported greater fungal diversity, suggesting that distinct inoculation regimes modulate rhizosphere composition. Both treatments contained agronomically relevant genera, notably *Streptomyces*, *Pseudonocardia*, *Nocardioides*, *Devosia*, and *Chujaibacter* among bacteria, and *Penicillium*, *Paecilomyces*, and

Phialemonium among fungi, microorganisms that, through various ecosystem services, can directly and indirectly promote soil and plant health.

Keywords: Bokashi; *Mimosa caesalpinifolia*; rhizosphere; inoculation

1. INTRODUÇÃO

A adubação é um dos pilares para o sucesso na produção de mudas florestais de alta qualidade. Tradicionalmente, esse manejo é realizado com o uso de fertilizantes minerais, que fornecem macronutrientes essenciais ao crescimento inicial das plantas, principalmente nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) (Gonçalves *et al.*, 2000). No entanto, o manejo químico intensivo da fertilidade nos viveiros pode comprometer a atividade e a diversidade de microrganismos mutualistas e simbiossiontes nos substratos, uma vez que o constante aporte de nutrientes prontamente disponíveis, especialmente nitrogênio, pode reduzir a taxa de associações benéficas na rizosfera (Treseder, 2004; Fierer e Jackson, 2006).

No contexto da produção de mudas de espécies florestais nodulantes, como *Mimosa caesalpiniiifolia*, a falta de interação planta-microrganismos na rizosfera durante a fase de viveiro pode representar uma desvantagem para o seu posterior estabelecimento e desenvolvimento em campo. A supressão da fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode ocorrer por múltiplos mecanismos interligados, envolvendo tanto o metabolismo vegetal, a sinalização molecular entre planta e rizóbio e fatores externos como pH, oxigênio e umidade (Fierer e Jackson, 2006; Arrese-Igor *et al.*, 2011; Costa, 2023)

Segundo Streeter e Wong (1988) em condições de baixo N, exsudatos radiculares (principalmente flavonoides) liberados pelas raízes induzem a expressão dos genes *nod* nas bactérias do grupo dos rizóbios, desencadeando a síntese de fatores Nod (lipo-quitoligossacarídeos), que iniciam a infecção e a formação de nódulos. No entanto, em ambientes ricos em N mineral, a produção desses flavonoides é fortemente reduzida, uma vez que a formação de nódulos é um processo bioenergeticamente custoso para as plantas (Costa, 2023), então o metabolismo é direcionado para o crescimento vegetativo, prejudicando o diálogo planta-rizóbio e, conseqüentemente, a nodulação (Streeter e Wong, 1988; Oldroyd *et al.*, 2011; Ferguson *et al.*, 2019).

Além do sinal químico externo, a própria planta ativa mecanismos de controle endógeno conhecidos como autorregulação da nodulação (AON). Esse processo envolve sinais peptídicos enviados da raiz ao caule, que reduzem a formação de novos nódulos quando a planta já possui reservas de N suficientes. Portanto, a abundante presença de N mineral acelera e intensifica a AON, bloqueando a indução de novos nódulos (Reid, Ferguson e Gresshoff, 2011).

De forma semelhante, bactérias diazotróficas não nodulantes, como *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*, também são negativamente afetadas, uma vez que a elevada disponibilidade de N mineral reprime a expressão dos genes *nif*, responsáveis pela síntese da

nitrogenase, reduzindo assim sua capacidade de fixação de Nitrogênio atmosférico (Okon e Labandera-Gonzalez, 1994). Dessa forma, a adubação nitrogenada excessiva não apenas diminui a eficiência da simbiose rizóbio-leguminosa, mas também compromete o funcionamento de microrganismos promotores de crescimento de vida livre, restringindo a contribuição da microbiota do solo para a ciclagem biológica do nitrogênio.

Além disso, a acidificação decorrente da aplicação prolongada de fertilizantes nitrogenados solúveis provoca alterações significativas na microbiota, uma vez que a redução do pH do solo influencia diretamente a disponibilidade de nutrientes e os processos bioquímicos associados. Esse ambiente acidificado tende a favorecer microrganismos oportunistas, menos eficientes em promover funções ecossistêmicas, em detrimento de comunidades benéficas mais sensíveis, como rizóbios, fungos micorrízicos e diazotróficos de vida livre (Dai *et al.*, 2018). A consequência é a perda de diversidade funcional e a simplificação da comunidade microbiana, o que pode comprometer a estabilidade e a resiliência do sistema edáfico (Lian *et al.*, 2018; Yan *et al.*, 2019). De fato, Fierer e Jackson (2006) demonstraram que o pH é um dos principais determinantes da estrutura da microbiota do solo, com implicações diretas para a funcionalidade dos ecossistemas, incluindo processos fundamentais, como a ciclagem de carbono e nitrogênio.

Portanto, o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados, além de elevar os custos de produção, compromete a eficiência biológica dos sistemas simbióticos e pode levar à degradação da fertilidade biológica do substrato a longo prazo (Dai *et al.*, 2018). Nesse sentido, estratégias de manejo mais sustentáveis, que integrem doses moderadas de N mineral ao uso de bioinsumos contendo rizóbios ou diazotróficos de vida livre, mostram-se fundamentais para preservar e estimular a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Herridge *et al.*, 2008; Hungria, Nogueira e Araujo, 2016)

Nesse cenário, alternativas ecologicamente equilibradas têm ganhado destaque, entre elas os biofertilizantes orgânicos fermentados, como o Bokashi, que se destacam por fornecerem nutrientes de forma equilibrada e atuar como fontes de inóculo de microrganismos benéficos, promovendo a saúde do substrato e fortalecendo interações simbióticas fundamentais (Siqueira e Siqueira, 2013).

O Bokashi, quando corretamente fermentado e formulado com matérias-primas ricas em nitrogênio orgânico, contém formas assimiláveis de nitrogênio, como o amônio (NH_4^+), fornecendo esse elemento de forma mais equilibrada nas fases iniciais de crescimento das plantas (Silva *et al.*, 2021). Diferentemente da ureia ou do nitrato de amônio, que se dissolvem rapidamente na água do solo e são sujeitos à lixiviação (NO_3^-) ou à volatilização (NH_3), o Bokashi mantém os nutrientes retidos na matriz orgânica, sendo liberados à medida que a decomposição

avança.

A presença de ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação do Bokashi desempenha papel fundamental na dinâmica do nitrogênio. Esses compostos orgânicos contribuem para a estabilização do íon amônio (NH_4^+), formando complexos que reduzem sua volatilização e lixiviação, além de minimizar perdas por processos físico-químicos, como a amonificação rápida, seguida da volatilização de NH_3 , em condições alcalinas (Bernal, Albuquerque e Moral, 2009). Essa estabilização aumenta a eficiência do uso do nitrogênio pelas plantas, promovendo uma liberação mais gradual e sincronizada com a demanda nutricional das mudas. Além disso, ao favorecer a predominância de formas amoniacais em detrimento das nítricas, o Bokashi pode estimular relações simbióticas benéficas, como a fixação biológica de nitrogênio, uma vez que as concentrações elevadas de NO_3^- são sabidamente inibidoras da nodulação em leguminosas (Gühl *et al.*, 2023).

Portanto o Bokashi representa uma alternativa promissora à adubação química tradicional, especialmente em viveiros florestais que buscam práticas mais sustentáveis. Por ser resultado de um processo fermentativo, esse insumo fornece nutrientes de forma gradual e em formas menos suscetíveis a perdas, além de veicular microrganismos benéficos capazes de colonizar a rizosfera e melhorar a eficiência da absorção mineral. Seu uso adequado pode não apenas ajudar a suprir as demandas nutricionais das mudas, mas também contribuir para a resiliência ecológica do sistema, por meio do estímulo à microbiota associada às raízes e da redução de impactos ambientais associados à fertilização convencional (Xu *et al.*, 2000; Tejada *et al.*, 2008; Olle, 2020).

Nesse contexto, o Bokashi deixa de ser apenas uma fonte de nutrientes e passa a ser um bioinsumo com ação multifuncional, reunindo funções nutricionais, microbiológicas e bioestimulantes. Seu uso, especialmente em projetos de viveiros florestais com espécies leguminosas, representa uma alternativa estratégica à inoculação comercial de rizóbios, que muitas vezes depende de cepas exógenas e pouco adaptadas às condições locais.

Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de um Bokashi feito artesanalmente de servir como fonte de inóculo de microrganismos benéficos no desenvolvimento inicial de *Mimosa caesalpinifolia*, além de avaliar seu efeito sobre parâmetros fitotécnicos como altura da planta, diâmetro do colo, peso de parte aérea, raiz e índice de qualidade de Dickson. O ensaio teve duração de 90 dias, em condições de viveiro.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Coleta de microrganismos eficientes (EMs), ativação e produção do Bokashi

O composto foi produzido a partir da mistura de farelo de trigo e de mamona, nas proporções de 60% e 40%, respectivamente (Goulart *et al.*, 2024), ambos obtidos no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (Fazendinha Agroecológica Km 47), localizado na Embrapa Agrobiologia em Seropédica, município do Rio de Janeiro, Brasil. Devido ao potencial tóxico e alérgico da mamona devido à ricina, os devidos equipamentos de segurança, como luvas e máscaras foram utilizados nessa etapa do processo.

A captura dos microrganismos nativos foi feita através da confecção de três iscas com arroz cozido, distribuído em calhas de bambu e coberto com uma tela fina para evitar a entrada de insetos. As armadilhas ficaram posicionadas durante sete dias sob a serapilheira em uma área de ocorrência de *Mimosa caesalpiniiifolia*, o sabiá, como é conhecido popularmente, próximo à Agroecológica Km 47, coordenadas 22°45'33.2"S 43°40'16.8"W. Os grumos de arroz colonizados por microrganismos foram coletados e dispostos em garrafas pet de 2 L, acrescidos de 200 g de açúcar mascavo e água destilada até completar o volume total. Nessa etapa de ativação dos microrganismos, a mistura foi deixada à sombra por sete dias, e, a cada dois dias, a tampa era parcialmente aberta para que os gases oriundos da fermentação fossem liberados e não ocorresse o rompimento das garrafas.

Ao final desse período, foi feito o preparo da solução inoculante, em que 50 gramas de grumos de arroz cultivados em solução com açúcar mascavo foram adicionados em 100 mililitros da solução líquida obtida da própria etapa de ativação. A mistura foi triturada no liquidificador por aproximadamente 2 minutos, até obter uma solução homogênea, com os grumos totalmente fragmentados. Esta solução foi então diluída em 1 litro de água destilada, e posteriormente usada para umedecer gradualmente 2 kg de mistura de farelos de trigo e mamona previamente homogeneizados, obtendo um material com cerca de 30 a 40% de umidade, constatado pela obtenção de torrões que não se desmancham facilmente e nem escorriam líquido ao ser manuseado (Goulart *et al.*, 2024). A mistura resultante foi então compactada e acondicionada em balde plástico com capacidade de 4 kg até o limite superior.

O balde foi vedado com filme plástico e coberto com uma tampa, ficando a mistura hermeticamente fechada por 21 dias em processo de fermentação. Ao final desse processo, com a abertura do balde, constatou-se o cheiro característico da fermentação de pães, indicando atividade metabólica de leveduras.

Figura 1 - Fragmento de mata próximo à Fazendinha Agroecológica Km 47 (Embrapa Agrobiologia) com predominância de *Mimosa caesalpinifolia* e densa camada de serapilheira.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 2 - Isca de arroz cozido depositada no solo.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 3 - Isca de arroz colonizada por microrganismos após sete dias em contato com o solo.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 4 - Grumos de arroz selecionados conforme a coloração das colônias.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 5 - Recipientes contendo a mistura de farelos de trigo e mamona e a solução inoculante usada para umedecer a mistura.



Fonte: Do Autor (2025)

2.2. Preparo das sementes, escolha do substrato e recipientes

As sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* receberam tratamento de superação da dormência por imersão em ácido sulfúrico concentrado por 7 minutos (Bruno *et al.*, 2001). Após a escarificação ácida, as sementes foram lavadas com água corrente para remover os resíduos de ácido. O substrato comercial utilizado foi o *Carolina Soil*® Classe CXI, indicado para produção de mudas de espécies florestais nativas e exóticas. Segundo o fabricante, em sua composição constam: Turfa de Sphagnum, casca de Pinus compostada, calcário dolomítico, gesso agrícola (CaSO_4), fosfato natural reativo, agentes umectantes e vermiculita. O substrato possui boas características nutricionais, de estabilidade estrutural e drenagem, o que evita compactação em tubetes e bandejas.

Os recipientes escolhidos foram tubetes de 280 cm^3 (Melo *et al.*, 2018), os quais ficaram dispostos em bandejas com capacidade para 54 tubetes, sem contato direto com as bancadas e distantes duas células cada tratamento, para minimizar as chances de contaminação entre diferentes tratamentos dentro do mesmo bloco por eventuais respingos causados pela água proveniente da irrigação.

Figura 6 - Sementes de *M. Caesalpiniiifolia*.



Fonte: Do Autor (2025)

2.3. Preparo dos tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi instalado em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, no estado do Rio de Janeiro, Brasil, e realizado de fevereiro a abril, totalizando 90 dias corridos. Ao final desse período, foram avaliadas as variáveis altura (H), diâmetro do coleto (DC), matéria seca da parte aérea (MSA), matéria seca das raízes (MSR) e Índice de qualidade de Dickson (IQD). Ao todo foram estabelecidos nove tratamentos, com 6 repetições cada, distribuídos em 6 blocos, totalizando 324 tubetes.

No sentido de evidenciar a influência dos microrganismos contidos no Bokashi sobre o desenvolvimento das plantas, os tratamentos foram escolhidos para promover uma redução gradual da comunidade microbiana ativa no composto, método relatado em estudos com solos supressivos, por meio de diluições e tratamentos térmicos. Desse modo, o esquema fatorial foi feito em delineamento em blocos casualizados, com seis repetições e em esquema fatorial: 2 diluições (Sem e com diluição 1:100) x 3 temperaturas: composto fermentado sem aquecimento, composto fermentado aquecido a 50 °C e composto fermentado aquecido a 80 °C. Adicionalmente, três controles compuseram os tratamentos, sendo eles: controle absoluto (sem composto fermentado), farelos *in natura* sem fermentação e inoculação com isca diluída.

Dessa forma, os tratamentos foram denominados: T1 (Bokashi sem diluição e sem aquecimento); T2 (Bokashi sem diluição e aquecido a 50 °C); T3 (Bokashi sem diluição e aquecido a 80 °C); T4 (Bokashi com diluição e sem aquecimento); T5 (Bokashi com diluição e aquecido a 50 °C); T6 (Bokashi com diluição e aquecido a 80 °C); T7 (controle absoluto, sem aplicação de Bokashi); T8 (mistura de farelos *in-natura*) e T9 (Isca proveniente da garrafa de ativação diluída na proporção de 1:1000). O teste de médias foi realizado pelo método de Scott-Knott e o teste F da análise de variância, a 10% de significância, respectivamente.

Para os tratamentos que sofreram diluição (T4, T5 e T6), 10 gramas de composto foram diluídos em 990 mL de água destilada (diluição 1:100). O tratamento térmico do composto consistiu em submersão em Banho-Maria por 1 hora, a 50 °C para os tratamentos T2 e T5, e a 80 °C para os tratamentos T3 e T6. Uma dose de 2 gramas de composto inoculante por tubete de 280 cm³ foi definida como suficiente para suprir a demanda de nitrogênio das plantas no crescimento inicial e evitar fitotoxidez, levando em consideração a recomendação de 117 mg N dm⁻³, dosagem recomendada para obtenção de mudas de qualidade para a espécie *Dimorphandra wilsonii* Fabaceae, o Faveiro-de-Wilson (Chaves, 2022), o teor de 0,6% de N já presente no substrato e os 3,9% de N presente na mistura de farelos, determinados em laboratório pela análise elementar, considerando uma taxa de mineralização de 15%.

A aplicação do composto foi incorporada ao substrato no momento do plantio das sementes. Para os tratamentos que receberam a diluição, aplicou-se uma dose de 2 mL em cada tubete. Três tratamentos controles foram definidos, sendo eles T7 (controle absoluto), T8 (mistura de farelos *in-natura*, sem fermentação) e T9 (denominado isca, no qual aplicou-se 2 mL da solução ativada diluída na proporção de 1:100 diretamente nos tubetes). A irrigação foi feita manualmente e diariamente, garantindo um bom nível de umidade para o desenvolvimento das mudas e dos microrganismos.

Figura 7 - Tratamento térmico do composto farelado fermentado, por submersão em Banho-Maria aquecido a 50 °C e 80 °C.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 8 - Composto farelado fermentado diluído (1:100).



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 9 - Incorporação do composto concentrado ao substrato no momento do plantio.



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 10 - Aplicação do composto diluído (1:100).



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 11 - Fotografia do arranjo final do delineamento experimental DBC fatorial disposto em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia em Seropédica, Rio de Janeiro, após 90 dias a partir da semeadura das sementes de *Mimosa casealpiniifolia*).



Fonte: Do Autor (2025)

2.4. Extração de DNA

Amostras do solo rizosférico foram obtidas dos tratamentos T1 (Sem diluição e sem aquecimento) e T4 (Com diluição e sem aquecimento). Três amostras compostas foram elaboradas misturando alíquotas de 200 gramas de substrato a nível rizosférico dos tratamentos T1 e T4 em cada bloco e submetidas à extração de DNA usando kits PowerSoil Pro da marca QIAGEN e posteriormente submetidas ao sequenciamento genético, a fim de analisar a composição microbiana de bactérias e fungos nos substratos. Para a determinação da comunidade microbiana, amostras de 250 mg de substrato foram coletadas das camadas rizosféricas, com material esterilizado. As amostras foram armazenadas em microtubos de 2 mL e mantidas no freezer (-30°C). A extração de DNA foi realizada com o kit DNAeasy Powersoil, da QIAGEN, especialmente indicado nesses casos, pois foi desenvolvido para superar as principais dificuldades dessas matrizes, que contêm grande quantidade de inibidores da PCR e matéria orgânica complexa. Conceitualmente, esse kit combina três módulos: ruptura celular (lise) para liberar DNA de células bacterianas e fúngicas; remoção de inibidores (humato, polifenóis,

polissacarídeos), essencial para solos tropicais ricos em compostos que inibem a PCR; e purificação/adsorção do DNA em uma matriz (sílica em coluna spin), seguida de lavagens e eluição do DNA puro. Os kits fornecem reagentes prontos e protocolos otimizados para reduzir variabilidade entre amostras. Após a extração, foi realizada a quantificação e avaliação de pureza de ácidos nucleicos e proteínas em Nanodrop com posterior verificação da integridade do material genético por eletroforese em gel de agarose.

Para o sequenciamento de DNA, foram utilizados amplicons gerados pela sequência de primers GTGCCAGCMGCCGCGGTAA e GGACTACHVGGGTWTCTAAT, direcionados à região V4 do gene RNAr 16S, para bactérias. Para fungos, utilizou-se a sequência de primers CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA e GCTGCGTTCTTCATCGATGC, direcionados à região ITS1-1F (Internal Transcribed Spacer), conforme recomendado por White *et al.* (1990), Caporaso *et al.* (2011) e Schoch *et al.* (2012). O sequenciamento foi realizado pela empresa Novogene. As sequências foram processadas com o pacote dada2 no software R, que utiliza um algoritmo de identificação de sequências potenciais erros e quimeras e as classificam em ASV (Amplicon Sequence Variant), as quais representam sequências únicas de nucleotídeos identificadas no conjunto de dados (Callahan *et al.*, 2016).

A taxonomia das sequências foi determinada por comparação com as bases de referência, SILVA (Quast *et al.*, 2013), para bactérias, e UNITE (Nilsson *et al.*, 2019), para fungos. As comunidades foram ordenadas por uma análise de componentes principais na matriz de covariância com dados transformados com distância de Hellinger. Para todas as análises, utilizou-se a versão 4.5.1 do programa R (R Core Team, 2025).

2.5. Análises em software R

Os dados obtidos por meio do sequenciamento genético foram processados e analisados no software R, utilizando a versão 4.5.1 do programa (R Core Team, 2025), empregando os pacotes *phyloseq*, *dada2*, *vegan*, *Biostrings*, *ggplot2*, *factoextra*, *metagMisc*, *tidyverse* e *microbiome* (McMurdie e Holmes, 2013; Callahan *et al.*, 2016; Oksanen *et al.*, 2022). As análises contemplaram conceitos fundamentais da ecologia microbiana, incluindo a utilização de OTUs (Operational Taxonomic Units) e ASVs (Amplicon Sequence Variants) como unidades de diversidade (Schloss *et al.*, 2009; Hugerth e Andersson, 2017), bem como a aplicação de métodos de ordenação, como a PCA (Análise de Componentes Principais) e dendrogramas de similaridade. Além disso, foram empregados índices de diversidade alfa, como Chao1 (riqueza estimada) e Shannon (diversidade e equitabilidade) (Shannon, 1948; Chao, 1984), aliados à caracterização da abundância relativa de filos e gêneros tanto para bactérias quanto para fungos.

3. RESULTADOS

3.1. Análises Fitotécnicas

Os resultados obtidos estão apresentados nas tabelas a seguir. O teste de médias foi realizado pelo método de Scott-Knott e o teste F da análise de variância, a 10% de significância, respectivamente.

A altura média das mudas tratadas com o Bokashi não diluído foi significativamente superior àquela das mudas que receberam o composto diluído (Tabela 1). Por outro lado, a altura não variou entre as diferentes temperaturas de aquecimento, exceto a 50 °C, quando o tratamento não diluído apresentou média superior ao diluído. Resultados semelhantes foram obtidos para o diâmetro do colo (Tabela 2) e para a massa seca radicular (Tabela 4).

Tabela 1 - Altura (cm) de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50°C e 80°C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos				Aquecimento(°C)										
Diluição	Normal				50				80				Média Geral	
Sem	17,30	1,3	a	A	18,45	1,3	a	A	17,19	1,3	a	A	17,65	A
Com	14,77	2	a	A	14,60	2	a	B	14,80	2	a	A	14,72	B
Média Geral	16,04	a			16,53	a			15,99	a				
Controle Absoluto	13,66	1												
Controle Não Fermentado	17,83	2												
Isca	14,23	3												
CV (%)	16,02													

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles.

Fonte: Do Autor (2025)

Tabela 2 - Diâmetro do colo (cm) de mudas de *Mimosa caesalpiniiifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50°C e 80°C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos		Aquecimento(°C)							
Diluição	Normal			50			80		Média Geral
Sem	4,13	a	A	4,22	a	A	4,06	a	A
Com	3,75	a	A	3,45	a	B	3,49	a	A
Média Geral	3,94	a		3,83	a		3,78	a	
Controle Absoluto	3,87		1						
Controle Não Fermentado	3,97		2						
Isca	3,62		3						
CV (%)	15,57								

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles. Obs: Nenhum dos três controles se diferenciou significativamente dos demais tratamentos.

Fonte: Do Autor (2025)

Para a massa seca da parte aérea (Tabela 3) e a massa seca total (Tabela 5), também houve diferenças significativas entre os tratamentos, com valores mais altos no composto não diluído. O efeito da diluição foi significativo tanto no composto não aquecido quanto no aquecido a 50 °C. Entretanto, de modo geral, não se observou efeito significativo do aquecimento nas variáveis avaliadas.

Tabela 3 - Peso da parte aérea (g) de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50°C e 80°C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos				Aquecimento(°C)										
Diluição	Normal				50				80				Média Geral	
Sem	1,68	1,3	a	A	1,73	1,3	a	A	1,58	1,3	a	A	1,66	A
Com	1,17	2	a	B	1,07	2	a	B	1,14	2	a	A	1,13	B
Média Geral	1,42	a			1,40	a			1,36	a				
Controle Absoluto	1,23	1												
Controle Não Fermentado	1,52	2												
Isca	1,07	3												
CV (%)	30,85													

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles.

Fonte: Do Autor (2025)

Tabela 4 - Peso da raiz (g) de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50°C e 80°C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos		Aquecimento(°C)												
Diluição	Normal				50				80				Média Geral	
Sem	1,05	1,3	a	A	1,09	1,3	a	A	1,08	1,3	a	A	1,07	A
Com	0,89	2	a	A	0,80	2	a	B	0,82	2	a	A	0,84	B
Média Geral	0,97	a			0,95	a			0,95	a				
Controle Absoluto	0,91	1												
Controle Não Fermentado	1,04	2												
Isca	0,84	3												
CV (%)	25,21													

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles.

Fonte: Do Autor (2025)

Tabela 5 - Peso total (g) de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50°C e 80°C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in-natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos				Aquecimento(°C)										
Diluição	Normal				50				80				Média Geral	
Sem	2,73	1,3	a	A	2,82	1,3	a	A	2,65	1,3	a	A	2,74	A
Com	2,05	2	a	B	1,88	2	a	B	1,96	2	a	A	1,96	B
Média Geral	2,39	a			2,35	a			2,31	a				
Controle Absoluto	2,14	1												
Controle Não Fermentado	2,56	2												
Isca	1,91	3												
CV (%)	27,64													

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles.

Fonte: Do Autor (2025)

No caso do índice de Dickson (Tabela 6), que leva em consideração a relação entre o peso da massa seca total sobre parâmetros como altura, diâmetro do colo, massa seca da parte aérea e raízes, e que maiores os valores refletem melhor qualidade de mudas, os tratamentos apresentaram maior qualidade quando receberam o composto não diluído. Assim, os resultados indicam que a diluição do Bokashi exerceu efeito negativo sobre o crescimento das plantas, enquanto não se verificaram evidências de efeito microbiano associado ao aquecimento do composto.

Tabela 6 – Índice de qualidade de Dickson de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e submetidos ou não ao aquecimento a 50 °C e 80 °C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos		Aquecimento(°C)							
Diluição	Normal			50			80		Média Geral
Sem	0,47	a	A	0,47	a	A	0,46	a	0,47
Com	0,39	a	A	0,39	a	A	0,35	a	0,37
Média Geral	0,43	a		0,43	a		0,41	a	A
Controle Absoluto	0,44								
Controle Não Fermentado	0,43								
Isca	0,37								
CV (%)	29,98								

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles. Obs: Nenhum dos três controles se diferenciou significativamente dos demais tratamentos.

Fonte: Do Autor (2025)

Tabela 7 – Relação entre peso de parte aérea e peso de raiz (g) de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* que receberam Bokashi concentrado ou diluído cem vezes e foram submetidos ou não ao aquecimento a 50 °C e 80 °C. As plantas foram coletadas 90 dias após a semeadura. Os controles absoluto, não fermentado e isca referem-se aos tratamentos sem aplicação de Bokashi, farelos *in natura* e o líquido proveniente da ativação em garrafas, respectivamente.

Tratamentos				Aquecimento(°C)										
Diluição	Normal				50				80				Média Geral	
Sem	1,61	1,3	a	A	1,60	1,3	a	A	1,43	1,3	a	A	1,55	A
Com	1,30	2	a	B	1,30	2	a	B	1,34	2	a	A	1,31	B
Média Geral	1,46		a		0,43		a		0,41		a			
Controle Absoluto	1,32	1												
Controle Não Fermentado	1,46	2												
Isca	1,27	3												
CV (%)	15,77													

CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott e pelo teste F da análise de variância, a 10% de probabilidade de significância, respectivamente. 1, 2 e 3 representam as médias dos controles absoluto, não fermentado e da isca, respectivamente. Os demais tratamentos que possuem 1, 2 e 3 apresentam médias significativamente distintas dos respectivos controles, a 10% de probabilidade de significância. O segundo e o terceiro número (índice) que aparecem após cada controle, indicam diferenças significativas entre os dois controles.

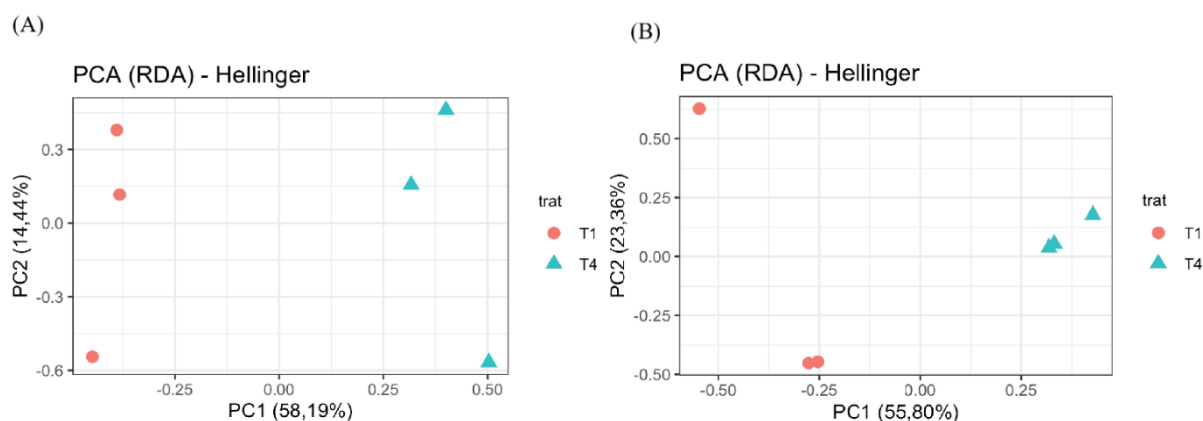
Fonte: Do Autor (2025)

3.2. Caracterização das Comunidades Microbianas

Os tratamentos escolhidos para as análises microbianas foram T1 (Bokashi sem diluição e sem aquecimento) e T4 (Bokashi com diluição e sem aquecimento), em função da não resposta dos tratamentos submetidos ao aquecimento, mas sim ao fator de diluição.

Nas ordenações, há uma separação entre as comunidades microbianas dos dois tratamentos, T1, não aquecido e não diluído, e T4, não aquecido e diluído (Figura 12). A primeira componente (PC1) explica quase 60% da variação dos dados tanto nas comunidades de bactérias como nas de fungos, as quais estão separadas ao longo desta componente.

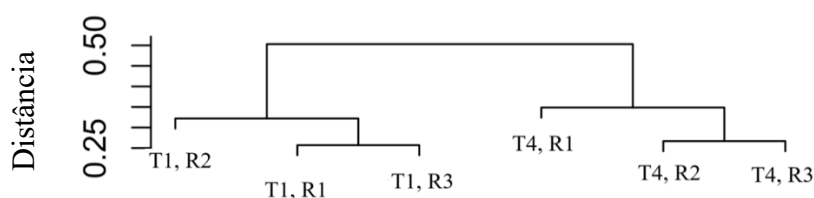
Figura 12 - Análise dos componentes principais (PCA) das comunidades de (A) bactérias (gene RNAr 16S) e (B) fungos (ITS) da rizosfera de plantas de sabiá (*Mimosa caesapiniifolia*) que receberam Bokashi nas doses concentrada e diluída (T1 e T4, respectivamente).



Fonte: Do Autor (2025)

No dendrograma ou análise de clusterização, houve um resultado semelhante, ou seja, a separação de 2 grupos em função do tratamento de diluição para ambos os tipos de microrganismos (Figura 13).

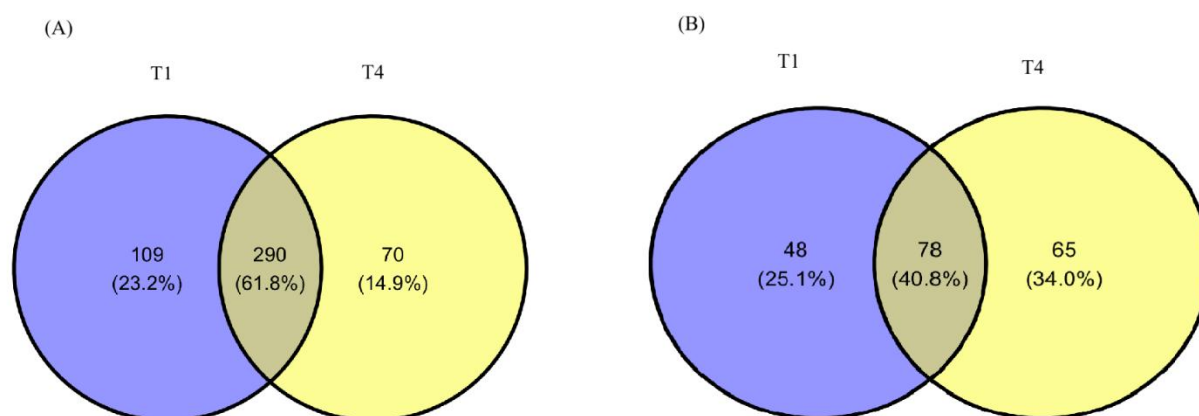
Figura 13 – Análise de agrupamento das comunidades de (A) bactérias (gene RNAr 16S) e (B) fungos (ITS) da rizosfera de plantas de sabiá (*Mimosa caesapiniifolia*) que receberam Bokashi nas doses X e Y (T1 e T4, respectivamente).



Fonte: Do Autor (2025)

Para analisarmos o quanto de espécies são compartilhadas entre os dois tratamentos, foi feito um Diagrama de Venn (Figura 14). Como podemos observar, 61,8% das ASVs de bactérias são compartilhadas entre T1 e T4, o que era esperado, já que T4 deriva de T1 (Figura 3A). Uma menor proporção é compartilhada no caso dos fungos, com 40,8% das ASVs comuns a ambos os tratamentos (Figura 3B).

Figura 14 – Compartilhamento de ASVs entre as comunidades de (A) bactérias (gene RNAr 16S) e (B) fungos (ITS) da rizosfera de plantas de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) que receberam Bokashi nas doses concentrada e diluída (T1 e T4, respectivamente).



Fonte: Do Autor (2025)

Os índices de diversidade Chao1 e Shannon foram utilizados para avaliar a riqueza e a diversidade das comunidades a partir de dados de sequenciamento. O objetivo do estimador de riqueza Chao1 é corrigir a subestimativa da riqueza decorrente de espécies raras não detectadas (Chao, 1984). Já o índice de Shannon de diversidade combina a riqueza (número de espécies) e a equabilidade (uniformidade das abundâncias) para calcular a diversidade de uma comunidade (Shannon, 1948).

A diversidade de bactérias foi numericamente menor no tratamento T4, em que a amostra foi diluída, tanto no que diz respeito à riqueza estimada quanto à diversidade calculada pelo índice de Shannon (Tabela 8). Porém, não houve diferença significativa na riqueza ($p < 0,1$). Já a diversidade de Shannon apresentou diferença significativa ao nível de 10% de probabilidade. No caso dos fungos, não houve diferença significativa na riqueza e na diversidade de espécies de fungos com a diluição, demonstrando que a diluição não afetou a diversidade desses microrganismos.

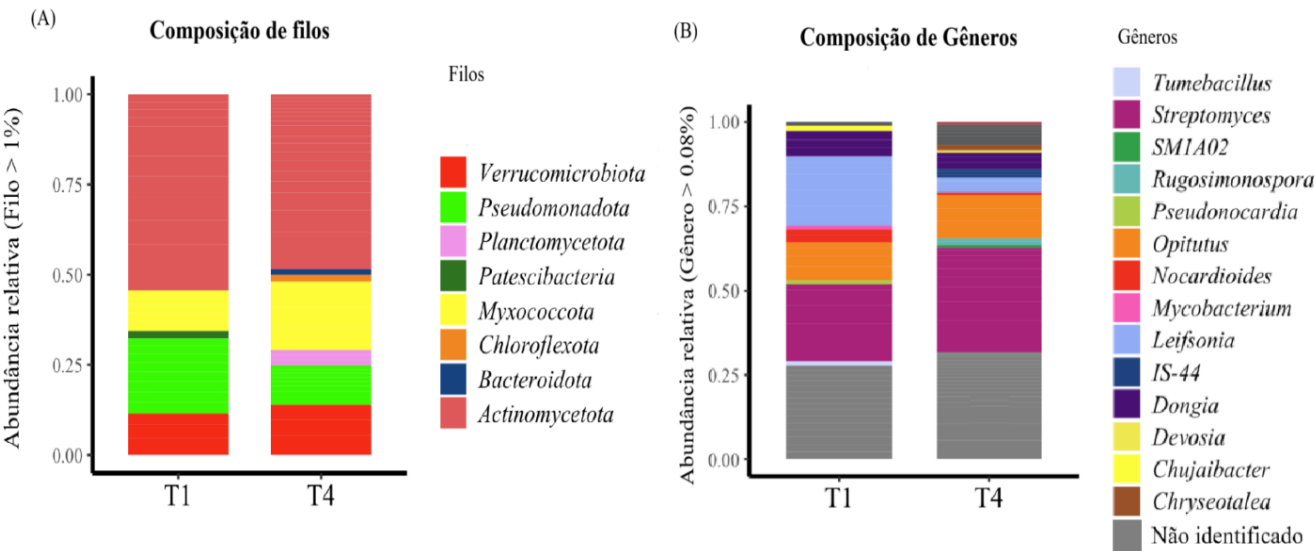
Tabela 8 - Riqueza observada, riqueza estimada (Chao1) e diversidade de Shannon de bactérias (RNAr 16S) e fungos (ITS) na rizosfera de plantas de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*) que receberam Bokashi nas doses concentrada e diluída. Os valores correspondem às médias $\pm$ o erro padrão.

Índice	RNAr 16S		ITS	
	T1	T4	T1	T4
Riqueza obs.	1894 $\pm$ 126	1700 $\pm$ 103	225 $\pm$ 19	254 $\pm$ 12
Chao1	1894 $\pm$ 126	1700 $\pm$ 103	225 $\pm$ 19	254 $\pm$ 12
Shannon	6.23 $\pm$ 0.08	5.50 $\pm$ 0.18	1.59 $\pm$ 0.05	1.50 $\pm$ 0.15

Fonte: Do Autor (2025)

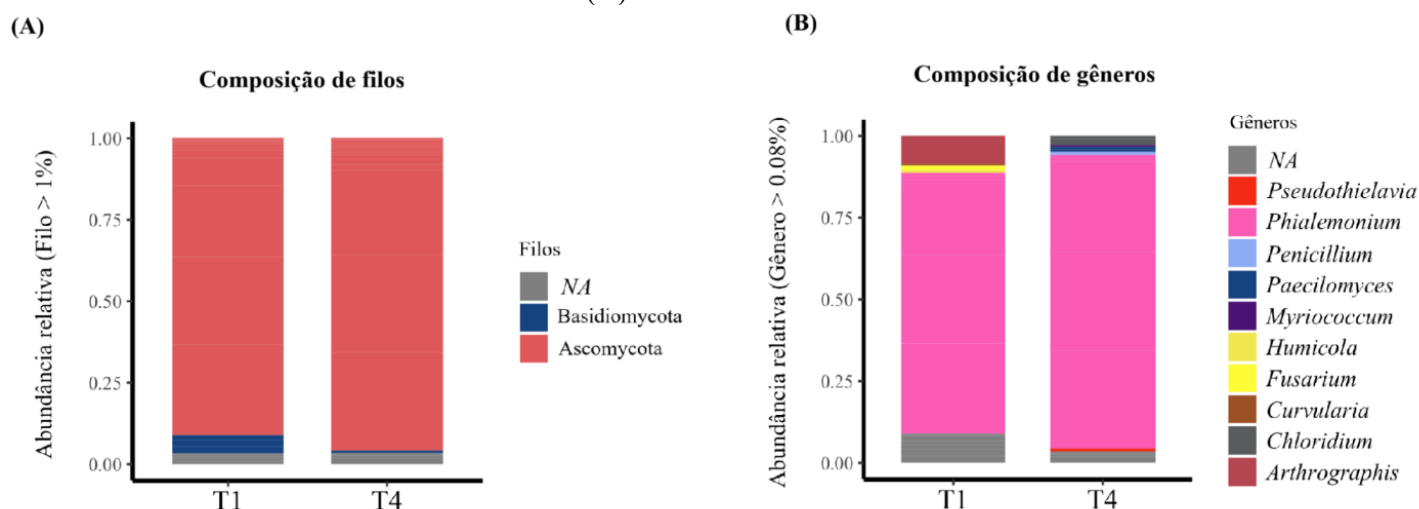
Com respeito à composição das comunidades no nível de filo, nota-se que houve uma redução na abundância relativa de *Pseudomonadota* em T4 se comparado a T1 e um aumento de *Myxococcota* (Figura 15A). A abundância de *Verrucomicrobiota* apresentou um leve aumento em T4. Os filis *Plactomycetota* e *Bacteroidota* não foram detectados em abundância superior a 1% em T1, mas sim em T4. Já no nível de gênero, *Leifsonia*, *Nocardiodides* e *Dongia* apresentaram um decréscimo acentuado na abundância relativa à medida que a diluição aumentava (Figura 15B). As abundâncias de *Streptomyces*, *Optutus* e gêneros de baixa abundância (< 0,08%) foi menor no composto não diluído.

Figura 15 - Gráficos representando Abundância relativa de filis bacterianos nos tratamentos T1 e T4 (A) e Abundância relativa de gêneros bacterianos na região rizosférica nos tratamentos T1 e T4 (B).



Fonte: Do Autor (2025)

Figura 16 - Gráficos representando Abundância relativa de filos fúngicos nos tratamentos T1 e T4 (A) e Abundância relativa de gêneros fúngicos na região rizosférica nos tratamentos T1 e T4 (B).



Fonte: Do Autor (2025)

Entre os fungos, o filo mais abundante foi o Ascomycota, seguido por Basidiomycota e outros filos (Figura 16A). O gênero mais abundante foi *Phialemonium*, cuja abundância foi ligeiramente maior em T4. *Arthrographis* foi abundante em T1 e desapareceu em T4, provavelmente incluído entre aqueles com abundância menor que 0,08% (Figura 16B).

4. DISCUSSÃO

4.1.1 Avaliação do desempenho das mudas

O Bokashi é amplamente utilizado como fonte de nutrientes, especialmente de nitrogênio, na agricultura orgânica, mas também contém uma comunidade microbiana ativa que poderia contribuir para seus efeitos. Para investigar essa possibilidade, o composto foi submetido a diferentes temperaturas (50 °C e 80 °C), sob a premissa de que, caso o efeito microbiano fosse predominante, o aquecimento reduziria o crescimento das plantas por inativação da microbiota, estratégia já aplicada em estudos com solos supressivos (Janvier *et al.*, 2007; Mendes *et al.*, 2011; Mendes, Garbeva e Raaijmakers, 2013).

De modo geral, as temperaturas de 50 °C e 80 °C não alteraram significativamente os valores médios das variáveis avaliadas, independentemente da diluição. Assim, o desempenho semelhante entre os tratamentos aquecidos e não aquecidos indica que as diferenças observadas no crescimento das mudas decorreram principalmente do aporte nutricional do Bokashi, e não de sua atividade microbiana.

Entretanto, observou-se que os tratamentos que receberam o composto não diluído apresentaram médias estatisticamente superiores às dos tratamentos com diluição, independentemente da temperatura. Isso provavelmente se deve em razão do composto diluído ter perdido grande parte da sua matriz sólida e do seu potencial nutricional, tendo sua função como fertilizante reduzida em 100x quando comparado ao composto não diluído. Este resultado foi observado para todas as variáveis mensuradas, isto é, altura, diâmetro do colo, massas secas da parte aérea, da raiz e do total e o índice de qualidade de mudas, e será detalhado a seguir.

Para as variáveis altura e diâmetro do colo (Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente), observou-se que a condição sem diluição apresentou médias significativamente superiores à condição com diluição apenas na temperatura de aquecimento de 50 °C. Nas demais temperaturas avaliadas (normal e 80 °C), não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Esse resultado sugere que a diluição pode ter reduzido a concentração de nutrientes imediatamente disponíveis ou atenuado o aporte microbiano ativo, interferindo de forma pontual no desempenho das mudas. Entretanto, a ausência de diferenças significativas nas demais temperaturas indica que o efeito observado foi majoritariamente de natureza nutricional, e não exclusivamente microbiológica, visto que a elevação da temperatura reduziu parcialmente a viabilidade dos microrganismos presentes no composto.

Figura 17 - Fotografia comparativa das alturas finais dos tratamentos, de T1 a T9, em ordem crescente.



Fonte: Do Autor (2025)

No caso do peso da raiz (Tabela 4), o tratamento sem diluição apresentou médias

significativamente superiores nas temperaturas de aquecimento de 50 °C e 80 °C, sugerindo que a maior concentração do composto, mesmo após o aquecimento, favoreceu o desenvolvimento radicular. É importante ressaltar que as plantas apresentaram de maneira geral, nodulação nas raízes, principalmente no terço inferior, indicando que não houve inibição da formação de nódulos pela aplicação do composto (Figura 18).

Figura 18 – Nódulos bacterianos nas raízes de *Mimosa caesalpinifolia*.



Fonte: Do Autor (2025)

Já para o peso total (Tabela 5), em média geral, independentemente da temperatura de aquecimento, o tratamento sem diluição apresentou médias significativamente maiores do que o tratamento com diluição, indicando que a maior disponibilidade de nutrientes contribuiu para o acúmulo global de biomassa.

No caso do índice de Dickson (Tabela 6), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as temperaturas de aquecimento, entre os tratamentos com e sem diluição, nem entre os controles e os demais tratamentos. Isso sugere que, apesar das

diferenças em variáveis isoladas, a qualidade morfológica global das mudas foi equivalente entre os manejos avaliados.

A relação entre a parte aérea e o sistema radicular (Tabela 7) demonstrou que as plantas tenderam a investir proporcionalmente mais na parte aérea do que nas raízes. Esse padrão é característico de condições em que a disponibilidade de nutrientes no substrato é suficiente para suprir a demanda radicular, fazendo com que a planta direcione recursos para o crescimento da parte aérea, o que é vantajoso em viveiros, já que maiores alturas e diâmetros estão diretamente associados ao vigor e à competitividade das mudas após o plantio (Hunt, 1984).

Assim, todos os resultados apontam para um efeito majoritariamente nutricional, descartando a hipótese de que os microrganismos tenham um efeito significativo sobre o crescimento das plantas, pelo menos nas condições de condução do experimento. Uma explicação alternativa para a ausência de efeito do aquecimento é que, embora o aquecimento reduza a abundância de microrganismos sensíveis, grupos resistentes, como bactérias formadoras de esporos e actinobactérias, podem persistir e manter alguma atividade no material (Ryckeboer *et al.*, 2003; Insam e de Bertoldi, 2007). Além disso, a mineralização da matéria orgânica durante o processo de fermentação garante a disponibilidade de nutrientes, o que pode explicar a manutenção do efeito positivo sobre o crescimento vegetal (Bernal *et al.*, 2009).

4.1.6 Diversidade Bacteriana

A Análise de Componentes Principais (PCA) é uma técnica estatística multivariada que busca reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados. Quando usamos a matriz de covariância, a PCA busca combinações lineares das variáveis originais que maximizem a variância explicada. Isso é adequado quando as variáveis estão na mesma escala ou foram transformadas.

Em dados ecológicos (por exemplo, abundância de espécies, OTUs, ASVs ou gêneros microbianos), usar diretamente a matriz de covariância pode gerar problemas, pois esses dados são composicionais, esparsos e não seguem distribuição normal. A transformação de Hellinger é aplicada a matrizes de abundância de espécies (ou ASVs/OTUs) antes de análises multivariadas. O objetivo é reduzir a influência de espécies muito abundantes e permitir que espécies raras contribuam para a análise, sem exagerar seu peso, como ocorre em transformações logarítmicas. Ao aplicar a PCA à matriz de covariância dos dados transformados por Hellinger, podemos normalizar os dados de abundância (para lidar com o caráter composicional), gerar eixos principais que representam gradientes na comunidade biológica ou ambiental e obter uma ordenação das amostras que respeita melhor as propriedades ecológicas dos dados (Legendre e

Gallagher, 2001).

Para bactérias, não há evidências de uma diferença entre as comunidades dos dois tratamentos a 5% de probabilidade. Se a significância for relaxada para 10%, essa diferença pode ser considerada significativa. As análises de ordenação e agrupamento demonstram a existência clara de dois grupos, e há diferenças médias nas abundâncias de alguns grupos de microrganismos. A ausência de diferença a 5% de probabilidade pode ser explicada pelo alto compartilhamento de ASVs entre os tratamentos, quase 62%.

No tratamento com o composto concentrado, a maior diversidade bacteriana pode ser atribuída ao fato de que a elevada densidade microbiana promove transformações físico-químicas rápidas no substrato, como variações de pH, disponibilidade de nutrientes e acúmulo de metabólitos, o que gera diferentes micronichos ecológicos favoráveis ao estabelecimento simultâneo de múltiplos grupos bacterianos (Fierer, Bradford e Jackson, 2007). Além disso, muitas bactérias mantêm interações metabólicas cruzadas, nas quais os subprodutos de uma espécie servem de recurso para outra, favorecendo a coexistência funcional na comunidade (Pacheco, Moel e Segrè, 2019).

Esse ambiente rico em nutrientes também favorece microrganismos com estratégias de crescimento rápido (r-estrategistas), cuja diversidade tende a ser maior em condições de abundância de recursos (Andrews e Harris, 1986). Diferentemente dos fungos, diversas bactérias apresentam ainda mecanismos de tolerância e até de aproveitamento de metabólitos potencialmente tóxicos, como ácidos orgânicos e fenóis, permitindo que sua diversidade seja ampliada mesmo em ambientes altamente competitivos e seletivos (Raaijmakers e Mazzola, 2016).

Diversos filos bacterianos encontrados na região rizosférica deste experimento apresentam potenciais funções agronômicas, seja como promotores de crescimento vegetal (PGPB) ou como competidores de fitopatógenos, embora o grau de conhecimento e evidência varie entre os grupos. Entre eles, destaca-se o filo *Pseudomonadota* (anteriormente *Proteobacteria*), que reúne gêneros clássicos como *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*, amplamente reconhecidos por sua capacidade de fixar nitrogênio, produzir sideróforos que limitam a disponibilidade de ferro a patógenos, sintetizar antibióticos e hormônios vegetais, além de modular o estresse abiótico por meio da enzima ACC deaminase (Lugtenberg e Kamilova, 2009). Outro grupo de grande relevância é o dos *Actinomycetota* (antigo *Actinobacteria*), especialmente o gênero *Streptomyces*, conhecido pela produção de antibióticos naturais, solubilização de fósforo e síntese de fitormônios, atuando tanto no crescimento vegetal quanto no controle biológico de fitopatógenos (Bhatti *et al.*, 2017).

Além destes, outros filos apresentam papéis agrônômicos indiretos ou potenciais. Os *Myxococota* (antigos *Myxobacteria*) são notáveis por sua atividade predatória sobre outros microrganismos e pela produção de uma ampla gama de metabólitos secundários com propriedades antimicrobianas, o que os coloca como potenciais agentes de biocontrole (Reichenbach, 2001). De forma semelhante, os *Bacteroidota* (antigos *Bacteroidetes*) contribuem para a degradação de compostos orgânicos complexos na rizosfera e podem competir com microrganismos patogênicos, modulando a disponibilidade de nutrientes e a dinâmica microbiana associada às plantas (Carrión *et al.*, 2019).

Já os *Verrucomicrobiota*, embora ainda pouco cultivados e estudados, parecem atuar na decomposição de polissacarídeos e na ciclagem de carbono no solo, com efeitos indiretos sobre a fertilidade (Xiong *et al.*, 2021). Os *Planctomycetota*, conhecidos por metabolismos singulares como o processo de anammox, também apresentam contribuição indireta, principalmente na ciclagem de nitrogênio e matéria orgânica (Fuerst e Sagulenko, 2011). Os *Chloroflexota* (antigos *Chloroflexi*), por sua vez, são degradadores de matéria orgânica e possuem representantes fotoautotróficos, podendo contribuir para a reciclagem de nutrientes e a estabilidade da microbiota do solo (Hug *et al.*, 2016). Por fim, os *Patescibacteria* apresentam genomas reduzidos e metabolismo dependente de hospedeiros, sendo ainda pouco compreendidos, sem registros consistentes de funções diretas como PGPB ou biocontroladores (Brown *et al.*, 2015).

Entre os gêneros identificados, alguns possuem maior destaque pela relevância agrônômica já reportada. O gênero *Streptomyces* é um dos mais estudados em microbiologia agrícola, reconhecido pela produção de antibióticos, sideróforos, enzimas hidrolíticas e reguladores de crescimento vegetal, atuando tanto no controle biológico de fitopatógenos quanto na promoção do desenvolvimento das plantas (Viaene *et al.*, 2016). Outro gênero relevante é *Pseudonocardia*, associado a ambientes ricos em matéria orgânica e conhecido pela capacidade de degradar compostos complexos e produzir metabólitos antimicrobianos, com potenciais aplicações no biocontrole (Seipke *et al.*, 2011). Da mesma forma, *Nocardioide*s apresenta espécies capazes de degradar compostos orgânicos recalcitrantes e de atuar na ciclagem de nutrientes, podendo contribuir para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Ma *et al.*, 2023).

O gênero *Mycobacterium*, embora mais conhecido por espécies patogênicas, também inclui representantes ambientais com potencial para degradar compostos aromáticos e promover a ciclagem de nutrientes no solo, o que pode contribuir indiretamente para a fertilidade (Primm, Lucero e Falkinham, 2004). Já *Leifsonia*, pertencente à família *Microbacteriaceae*, inclui espécies associadas à rizosfera e com potencial de solubilização de fósforo e produção de fitormônios, embora também existam registros de espécies patogênicas em plantas (Evtushenko

e Takeuchi, 2006). Gêneros menos estudados, como *Rugosimonospora*, apresentam potencial biotecnológico por produzirem enzimas extracelulares, embora suas funções agronômicas ainda sejam pouco compreendidas.

Alguns grupos identificados possuem informações ainda limitadas, como *SMIA02* e *IS-44*, classificados como táxons candidatos (provavelmente dentro de *Planctomycetota* e *Bacteroidota*, respectivamente), que ainda não possuem descrição funcional robusta, mas podem participar da decomposição de matéria orgânica e da manutenção da diversidade microbiana do solo (Hug *et al.*, 2016). Por outro lado, *Opitutus* (*Verrucomicrobiota*) é descrito como importante na fermentação de carboidratos e na produção de ácidos graxos de cadeia curta, modulando a dinâmica de carbono no solo (Chin *et al.*, 2001).

Entre os representantes de menor notoriedade, *Dongia* (*Alphaproteobacteria*) e *Devosia* (*Alphaproteobacteria*) são relatados como rizobactérias capazes de fixar nitrogênio ou modular a disponibilidade de nutrientes, o que lhes confere potencial como promotores de crescimento vegetal (Baik *et al.*, 2013). Já *Chujaibacter*, pertencente à ordem *Chitinophagales*, pode estar envolvido na degradação de quitina e, assim, contribuir tanto para a ciclagem de nutrientes quanto para a supressão de fitopatógenos associados a resíduos de quitina (Kim *et al.*, 2015). Por fim, *Chryseotalea*, embora pouco estudado, pertence ao filo *Bacteroidota* e tem sido associado à degradação de polissacarídeos complexos, com possíveis implicações na dinâmica da rizosfera (Maejima *et al.*, 2019).

Assim, pode-se sintetizar que gêneros como *Streptomyces*, *Pseudonocardia*, *Nocardioides*, *Devosia* e *Chujaibacter* representam os grupos mais promissores no contexto agronômico, seja pela promoção direta do crescimento vegetal, seja pela capacidade de competir com fitopatógenos. Outros gêneros, como *Opitutus*, *Leifsonia* e *Mycobacterium*, possuem contribuições mais indiretas relacionadas à ciclagem de nutrientes, enquanto *SMIA02*, *IS-44*, *Rugosimonospora*, *Dongia* e *Chryseotalea* ainda carecem de estudos funcionais mais aprofundados para consolidar seu papel em sistemas agrícolas.

4.1.7. Diversidade Fúngica

No tratamento com o composto diluído, a maior diversidade fúngica pode ser atribuída à redução da pressão competitiva imposta por microrganismos de crescimento rápido, como muitas bactérias, o que permite que espécies fúngicas com estratégias mais lentas de colonização e decomposição tenham oportunidade de se estabelecer (Gadgil e Gadgil, 1971). A diluição também reduz a concentração de metabólitos antimicrobianos, como ácidos orgânicos e compostos fenólicos, frequentemente produzidos por bactérias e fungos dominantes, criando um

ambiente menos inibidor e mais propício à coexistência de diferentes táxons (Peay, Kennedy e Talbot, 2016).

Além disso, fungos apresentam maior capacidade de explorar substratos recalcitrantes através da produção de enzimas extracelulares e, em condições de menor competição direta, conseguem ampliar sua diversidade funcional (Crowther *et al.*, 2013). Dessa forma, a diluição do composto favorece um equilíbrio ecológico no qual grupos fúngicos menos competitivos, porém ecologicamente importantes para a degradação da matéria orgânica, conseguem colonizar e diversificar-se com maior intensidade.

A predominância de *Ascomycota* em ambos os tratamentos é um resultado esperado, visto que esse filo é amplamente dominante em solos agrícolas e em substratos orgânicos devido à sua alta plasticidade metabólica, capacidade de colonizar rapidamente diferentes nichos e tolerância a condições de estresse (Nilsson *et al.*, 2019; Manici *et al.*, 2024).

A maior presença relativa de *Basidiomycota* no tratamento com o composto concentrado pode estar associada a características ecológicas desse grupo. Fungos basidiomicetos, em especial aqueles relacionados à decomposição de lignina e outros polímeros recalcitrantes, tendem a se estabelecer melhor em ambientes ricos em matéria orgânica complexa e em maior densidade de biomassa, condições encontradas no composto mais concentrado (Baldrian, 2017). Além disso, *Basidiomycota* frequentemente apresentam estratégias competitivas distintas, como a formação de estruturas miceliais robustas e a produção de compostos antimicrobianos, o que lhes confere vantagens em ambientes de alta competição microbiana (Prescott e Grayston, 2013).

Já no composto diluído, a menor disponibilidade de substrato complexo e a maior oxigenação podem ter favorecido fungos oportunistas e de crescimento rápido pertencentes a *Ascomycota*, resultando em uma redução proporcional da presença de *Basidiomycota*. Assim, a diferença observada pode refletir tanto a ecologia trófica dos filos quanto a interação com a disponibilidade de nutrientes e a densidade microbiana nos tratamentos.

A nível de gênero de fungos, destaca-se o *Penicillium*, um dos mais estudados na agricultura, conhecido por sua capacidade de produzir antibióticos naturais, sideróforos e enzimas hidrolíticas, além de promover a solubilização de fósforo e de outros nutrientes, o que favorece o crescimento vegetal e a supressão de patógenos (Souchie *et al.*, 2006). De forma semelhante, *Paecilomyces* inclui espécies com reconhecido potencial biocontrolador, como *Paecilomyces lilacinus* (reclassificado como *Purpureocillium lilacinum*), utilizada no controle de nematóides fitopatogênicos (Kerry, 2000). Por outro lado, *Fusarium* e *Curvularia* englobam espécies de grande importância negativa na agricultura, pois incluem fitopatógenos que causam murchas vasculares, podridões radiculares e manchas foliares em diversas culturas (Dean *et al.*,

2012).

O gênero mais abundante entre ambos os tratamentos é o *Phialemonium*, que reúne espécies consideradas benéficas para a agricultura, comumente encontradas em solos, em ambientes ricos em matéria orgânica e em tecidos de plantas (Hardoim *et al.*, 2015). Há evidências de que espécies de *Phialemonium* podem desempenhar funções relevantes na supressão de fitopatógenos, principalmente por meio da produção de metabólitos antifúngicos e de enzimas hidrolíticas (como quitinases e glucanases), capazes de degradar as paredes celulares de fungos patogênicos. Isolados de *P. curvatum* demonstraram efeito positivo no biocontrole de *Cladosporium cladosporioides*, causador da verrugose do maracujazeiro (Rathnayake *et al.*, 2017), e também no controle de *Pyricularia oryzae*, causador da brusone, doença devastadora na cultura do arroz (Suada *et al.*, 2011). Em outro estudo, a inoculação de sementes de pepino com outra espécie deste gênero, *P. inflatum*, melhorou a germinação, a massa de parte aérea e de raízes, a produção de flores e a tolerância à herbivoria de raízes por larvas de Besouro listrado do pepino (*Acalymma vitattum* L.), uma praga considerada grave em cultivos de cucurbitáceas.

Pseudothielavia e *Humicola* são gêneros de fungos saprófitos que desempenham um papel importante na decomposição de resíduos vegetais, particularmente os ricos em celulose e lignina, por meio da produção de enzimas lignocelulolíticas. Esse processo de degradação libera nutrientes essenciais, como carbono, nitrogênio e fósforo, tornando-os disponíveis para plantas e outros microrganismos do solo, contribuindo, assim, indiretamente para a fertilidade e a saúde do substrato agrícola (Domsch, Gams e Anderson, 2007; Baldrian e Valášková, 2008).

Myriococcum é um gênero menos frequente, relacionado a solos ricos em resíduos vegetais, atuando como decompositor de celulose, podendo contribuir para a mineralização de nutrientes (Domsch, Gams e Anderson, 2007). Por fim, *Arthrographis* é geralmente encontrado em solos e em matéria orgânica em decomposição, e embora seja mais conhecido em contextos clínicos, sua presença no solo indica capacidade de participar da degradação de compostos complexos e da dinâmica microbiana associada a substratos ricos em matéria orgânica (Hoog *et al.*, 2019).

5. CONCLUSÕES

O composto farelado inoculado com microrganismos nativos fermentou e atuou como veículo para microrganismos com potencial para desempenhar diversas funções ecológicas positivas para as plantas.

Apesar das diferenças na composição microbiana, não houve evidência de efeito microbiano direto na diferenciação entre os tratamentos avaliados, o que indica que as diferenças

se deram em função do efeito fertilizante do composto.

REFERÊNCIAS

- Andrews, J.H., Harris, R.F. (1986). ***r*- and *K*-Selection and Microbial Ecology**. In: Marshall, K.C. (eds) *Advances in Microbial Ecology*. *Advances in Microbial Ecology*, vol 9. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0611-6_3 Acesso em: 12 jul. 2025
- Baik KS, Hwang YM, Choi JS, Kwon J, Seong CN. **Dongia rigui sp. nov., isolated from freshwater of a large wetland in Korea**. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013 Dec;104(6):1143-50. doi: 10.1007/s10482-013-0036-9. Epub 2013 Sep 18. PMID: 24046206. Acesso em: 16 jul. 2025.
- Baldrian P, Valášková V. **Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi**. *FEMS Microbiol Rev*. 2008 May;32(3):501-21. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x. Epub 2008 Mar 26. PMID: 18371173. Acesso em: 23 ago. 2025.
- Bruno, Riselane & Ursulino Alves, Edna & Oliveira, A.P. & Paula, Rinaldo. (2001). **Tratamentos pré-germinativos para superar a dormência de sementes de Mimosa caesalpiniaefolia Benth.** *Revista Brasileira de Sementes*. 23. 136-143. 10.17801/0101-3122/rbs.v23n2p136-143.
- Baldrian P. **Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics**. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 Mar 1;41(2):109-130. doi: 10.1093/femsre/fuw040. PMID: 27856492.
- Bernal, M. P., J.A. Alburquerque, J. A. e Moral, R. **Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment**. A review, *Bioresource Technology*, Volume 100, Issue 22, 2009, Pages 5444-5453, ISSN 0960-8524, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>. Disponível em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408009917>) Acesso em: 05 jun. 2025.
- Bhatti AA, Haq S, Bhat RA. **Actinomycetes benefaction role in soil and plant health**. *Microb Pathog*. 2017 Oct;111:458-467. doi: 10.1016/j.micpath.2017.09.036. Epub 2017 Sep 18. PMID: 28923606.
- Brown CT, Hug LA, Thomas BC, Sharon I, Castelle CJ, Singh A, Wilkins MJ, Wrighton KC, Williams KH, Banfield JF. **Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria**. *Nature*. 2015 Jul 9;523(7559):208-11. doi: 10.1038/nature14486. Epub 2015 Jun 15. PMID: 26083755. Acesso em: 10 abr. 2025.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. **DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data**. *Nat Methods*. 2016 Jul;13(7):581-3. doi: 10.1038/nmeth.3869. Epub 2016 May 23. PMID: 27214047; PMCID: PMC4927377. Acesso em: 20 abr. 2025.
- Carrión VJ, Perez-Jaramillo J, Cordovez V, Tracanna V, de Hollander M, Ruiz-Buck D, Mendes LW, van Ijcken WFJ, Gomez-Exposito R, Elsayed SS, Mohanraju P, Arifah A, van der Oost J, Paulson JN, Mendes R, van Wezel GP, Medema MH, Raaijmakers JM. **Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome**. *Science*. 2019 Nov 1;366(6465):606-612. doi: 10.1126/science.aaw9285. PMID: 31672892.
- Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R. **Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample**. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 15;108 Suppl 1(Suppl 1):4516-22. doi: 10.1073/pnas.1000080107. Epub 2010 Jun 3. PMID: 20534432; PMCID: PMC3063599.
- Chao, Anne. (1984). **Non-parametric estimation of the classes in a population**. *Scandinavian Journal of Statistics*. 11. 265-270. 10.2307/4615964.
- Chaves, Nicole & Braga, Francisco De Assis & Braga, Pedro. (2022). **ADUBAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE FAVEIRO-DE-WILSON (DIMORPHANDRA WILSONII FABACEAE)**. In book: *OPEN SCIENCE RESEARCH IV* (pp.113-123)Edition: IVPublisher: Editora

Científica Digital DOI: 10.37885/22048559

Chin KJ, Liesack W, Janssen PH. **Opitutus terrae gen. nov., sp. nov., to accommodate novel strains of the division 'Verrucomicrobia' isolated from rice paddy soil.** Int J Syst Evol Microbiol. 2001 Nov;51(Pt 6):1965-1968. doi: 10.1099/00207713-51-6-1965. PMID: 11760935.

Crowther TW, Stanton DW, Thomas SM, A'Bear AD, Hiscox J, Jones TH, Vorisková J, Baldrian P, Boddy L. **Top-down control of soil fungal community composition by a globally distributed keystone consumer.** Ecology. 2013 Nov;94(11):2518-28. doi: 10.1890/13-0197.1. PMID: 24400503.

Dai Z, Su W, Chen H, Barberán A, Zhao H, Yu M, Yu L, Brookes PC, Schadt CW, Chang SX, Xu J. **Long-term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of Actinobacteria and Proteobacteria in agro-ecosystems across the globe.** Glob Chang Biol. 2018 Aug;24(8):3452-3461. doi: 10.1111/gcb.14163. Epub 2018 Apr 25. PMID: 29645398. Acesso em: 01 ago. 2025.

Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD. **The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology.** Mol Plant Pathol. 2012 May;13(4):414-30. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x. Erratum in: Mol Plant Pathol. 2012 Sep;13(7):804. PMID: 22471698; PMCID: PMC6638784.

Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. (2007) **Compendium of Soil Fungi.** IHW-Verl, Eching, 672 p.

Evtushenko, L.I., Takeuchi, M. (2006). **The Family Microbacteriaceae.** In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_43 Acesso em: 22 ago. 2025

Ferguson BJ, Mens C, Hastwell AH, Zhang M, Su H, Jones CH, Chu X, Gresshoff PM. **Legume nodulation: The host controls the party.** Plant Cell Environ. 2019 Jan;42(1):41-51. doi: 10.1111/pce.13348. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29808564. Acesso em: 23 jul. 2025.

Fierer, N. & Jackson, R.B. (2006). **The diversity and biogeography of soil bacterial communities, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 103 (3) 626-631, <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>. Acesso em: 12 jul. 2025

Fierer N, Bradford MA, Jackson RB. **Toward an ecological classification of soil bacteria.** Ecology. 2007 Jun;88(6):1354-64. doi: 10.1890/05-1839. PMID: 17601128.

Fuerst, J., Sagulenko, E. **Beyond the bacterium: planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function.** Nat Rev Microbiol 9, 403–413 (2011). <https://doi.org/10.1038/nrmicro2578> Acesso em: 15 jun. 2025.

Gadgil RL, Gadgil PD. **Mycorrhiza and litter decomposition.** Nature. 1971 Sep 10;233(5315):133. doi: 10.1038/233133a0. PMID: 16063238.

Gams, W., & McGinnis, M. R. (1983). **Phialemonium, a new anamorph genus intermediate between Acremonium and Phialophora.** Mycologia, 75(5), 977–987.

Gonçalves, José Leonardo de Moraes et al. **Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização.** Nutrição e fertilização florestal. Tradução . Piracicaba: IPEF, 2000. . . Acesso em: 16 ago. 2025.

Goulart J. M., Guerra, J. G. M., Almeida, L. H., Araújo E. S, Rumjanek N. G., Espindola J. A. A., Andrade, K. M., Aguiar, L. A. e Rosa, R. C. C. (2024) **Compostos fermentados do tipo Bokashi: formulações, fontes de inóculo, indicadores de qualidade e estimativa do custo de produção.** Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brasil. ISSN 1676-6709

Gühl, K.; Holmer, R.; Xiao, T.T.; Shen, D.; Wardhani, T.A.K.; Geurts, R.; van Zeijl, A.; Kohlen, W. **The Effect of Exogenous Nitrate on LCO Signalling, Cytokinin Accumulation, and Nodule Initiation in *Medicago truncatula***. *Genes* 2021, *12*, 988. <https://doi.org/10.3390/genes12070988>

Hoog, Sybren & Guarro, Josep & Gené, Josepa & Ahmed, Sarah & Al-Hatmi, Abdullah & Figueras, Maria & Vitale, Roxana. (2019). *Atlas of Clinical Fungi*.

Hug, L., Baker, B., Anantharaman, K. *et al.* **A new view of the tree of life**. *Nat Microbiol* 1, 16048 (2016). <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48> Acesso em: 23 jul. 2025.

Hunt, J.P. R. O. **Plant growth curves**. *Folia geobot. phytotax.* 19, 278 (1984). <https://doi.org/10.1007/BF02853090> Acesso em: 06 mai. 2025.

Insam, H. e de Bertoldi, M. **Microbiology of the composting process**. Waste Management Series, Elsevier, Volume 8, 2007, Pages 25-48, ISSN 1478-7482, ISBN 9780080439600, [https://doi.org/10.1016/S1478-7482\(07\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S1478-7482(07)80006-6). Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1478748207800066> Acesso em: 28 jul. 2025.

Janvier, C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann, V., Mateille T., Steinberg C. **Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators?** *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 39, Issue 1, 2007, Pages 1-23, ISSN 0038-0717, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.07.001>. Disponível em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071706003142>) Acesso em: 20 jul. 2025

Kerry BR. **Rhizosphere Interactions and the Exploitation of Microbial Agents for the Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes**. *Annu Rev Phytopathol.* 2000 Sep;38:423-441. doi: 10.1146/annurev.phyto.38.1.423. PMID: 11701849. Acesso em: 01 abr. 2025.

Kim SJ, Ahn JH, Weon HY, Hong SB, Seok SJ, Kim JS, Kwon SW. **Chujaibacter soli gen. nov., sp. nov., isolated from soil**. *J Microbiol.* 2015 Sep;53(9):592-7. doi: 10.1007/s12275-015-5136-y. Epub 2015 Aug 27. PMID: 26310302. Acesso em: 20 mar. 2025.

Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO. **Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies**. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan 7;41(1):e1. doi: 10.1093/nar/gks808. Epub 2012 Aug 28. PMID: 22933715; PMCID: PMC3592464. Acesso em: 12 jul. 2025.

Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, Aksenov A, Callewaert C, Debelius J, Gonzalez A, Kosciulek T, McCall LI, McDonald D, Melnik AV, Morton JT, Navas J, Quinn RA, Sanders JG, Safford AD, Thompson LR, Tripathi A, Xu ZZ, Zaneveld JR, Zhu Q, Caporaso JG, Dorrestein PC. **Best practices for analysing microbiomes**. *Nat Rev Microbiol.* 2018 Jul;16(7):410-422. doi: 10.1038/s41579-018-0029-9. PMID: 29795328. Acesso em: 20 jun. 2025.

Legendre, P., Gallagher, E.D. **Ecologically meaningful transformations for ordination of species data**. *Oecologia* 129, 271–280 (2001). <https://doi.org/10.1007/s004420100716> Acesso em: 05 mai. 2025.

Lian, T., Yu, Z., Liu, J. *et al.* **Rhizobacterial community structure in response to nitrogen addition varied between two Mollisols differing in soil organic carbon**. *Sci Rep* 8, 12280 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30769-z> Acesso em: 03 jun. 2025.

Lugtenberg B, Kamilova F. **Plant-growth-promoting rhizobacteria**. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63:541-56. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918. PMID: 19575558. Acesso em: 23 ago. 2025.

Ma Y, Wang J, Liu Y, Wang X, Zhang B, Zhang W, Chen T, Liu G, Xue L, Cui X. ***Nocardioides*: "Specialists" for Hard-to-Degrade Pollutants in the Environment**. *Molecules.* 2023 Nov

5;28(21):7433. doi: 10.3390/molecules28217433. PMID: 37959852; PMCID: PMC10649934. Acesso em: 08 mai. 2025.

Maejima Y, Iino T, Muraguchi Y, Fukuda K, Ohkuma M, Suzuki T, Moriuchi R, Dohra H, Kimbara K, Shintani M. **Chryseotalea sanaruensis gen. nov., sp. nov., a Member of the Family Cytophagaceae, Isolated from a Brackish Lake in Hamamatsu Japan.** Curr Microbiol. 2020 Feb;77(2):306-312. doi: 10.1007/s00284-019-01823-4. Epub 2019 Dec 2. PMID: 31792570.

Manici, Luisa & Caputo, Francesco & Sabata, Davide & Fornasier, Flavio. (2024). **The enzyme patterns of Ascomycota and Basidiomycota fungi reveal their different functions in soil.** Applied Soil Ecology. 196. 105323. 10.1016/j.apsoil.2024.105323.

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). **phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data.** PLoS ONE, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217> Acesso em: 14 ago. 2025.

Melo, L. A. de ., Abreu, A. H. M. de ., Leles, P. S. dos S., Oliveira, R. R. de ., & Silva, D. T. da (2018). **QUALIDADE E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE Mimosa caesalpinifolia Benth. PRODUZIDAS EM DIFERENTES VOLUMES DE RECIPIENTES.** Ciência Florestal, 28(1), 47–55. <https://doi.org/10.5902/1980509831574> Acesso em: 27 fev. 2025.

Mendes R, Kruijt M, de Bruijn I, Dekkers E, van der Voort M, Schneider JH, Piceno YM, DeSantis TZ, Andersen GL, Bakker PA, Raaijmakers JM. **Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria.** Science. 2011 May 27;332(6033):1097-100. doi: 10.1126/science.1203980. Epub 2011 May 5. PMID: 21551032.

Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM. **The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms.** FEMS Microbiol Rev. 2013 Sep;37(5):634-63. doi: 10.1111/1574-6976.12028. Epub 2013 Jul 22. PMID: 23790204.

Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, Wurzbacher C, Baldrian P, Tedersoo L. **Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi.** Nat Rev Microbiol. 2019 Jan;17(2):95-109. doi: 10.1038/s41579-018-0116-y. PMID: 30442909.

Okon, Y. & Labandera-Gonzalez, C. A. **Agronomic applications of azospirillum: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation,** Soil Biology and Biochemistry, Volume 26, Issue 12, 1994, Pages 1591-1601, ISSN 0038-0717, [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90311-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90311-5). (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0038071794903115>) Acesso em: 05 jun. 2025.

Oksanen, Jari & Simpson, Gavin & Blanchet, F. Guillaume & Kindt, Roeland & Legendre, Pierre & Minchin, Peter & Hara, R & Solymos, Peter & STEVENS, HENRY & Szöcs, Eduard & Wagner, Helene & Barbour, Matt & Bedward, Michael & Bolker, Ben & Borcard, Daniel & Carvalho, Gustavo & Chirico, Michael & De Cáceres, Miquel & Durand, Sébastien & Weedon, James. (2022). **vegan community ecology package version 2.6-2** April 2022.

Oldroyd GE, Murray JD, Poole PS, Downie JA. **The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis.** Annu Rev Genet. 2011;45:119-44. doi: 10.1146/annurev-genet-110410-132549. Epub 2011 Aug 11. PMID: 21838550. Acesso em: 10 jul. 2025.

Pacheco, A.R., Moel, M. & Segrè, D. **Costless metabolic secretions as drivers of interspecies interactions in microbial ecosystems.** Nat Commun 10, 103 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07946-9> Acesso em: 12 jul. 2025

Peay KG, Kennedy PG, Talbot JM. **Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome.** Nat Rev Microbiol. 2016 Jul;14(7):434-47. doi: 10.1038/nrmicro.2016.59. PMID: 27296482.

Perdomo, Haybrig & García, Dania & Gené, Josepa & Cano, Jose & Sutton, Deanna & Summerbell, Richard & Guarro, Josep. (2012). **Phialemoniopsis, a new genus of Sordariomycetes, and new species of Phialemonium and Lecythophora.** Mycologia. 105. 10.3852/12-137

Prescott, Cindy & Grayston, Sue. (2013). **Tree species influence on microbial communities in litter and soil: Current knowledge and research needs.** Forest Ecology and Management. 309. 19-27. 10.1016/j.foreco.2013.02.034.

Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO 3rd. **Health impacts of environmental mycobacteria.** Clin Microbiol Rev. 2004 Jan;17(1):98-106. doi: 10.1128/CMR.17.1.98-106.2004. PMID: 14726457; PMCID: PMC321467.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. **The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools.** Nucleic Acids Res. 2013 Jan;41(Database issue):D590-6. doi: 10.1093/nar/gks1219. Epub 2012 Nov 28. PMID: 23193283; PMCID: PMC3531112.

R Core Team (2025). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Rathnayake, G. R. N., Kumar, N. S., Jayasinghe, L., Araya, H., & Fujimoto, Y. (2017). **Chemical investigation of metabolites produced by an endophytic fungi Phialemonium curvatum from the leaves of Passiflora edulis.** Natural Product Research, 32(20), 2483–2486. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1416373> Acesso em: 22 ago. 2025.

Reichenbach, H. (2001). **Myxobacteria, producers of novel bioactive substances.** J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 27, 149-156. Journal of industrial microbiology & biotechnology. 27. 149-56. 10.1038/sj.jim.7000025.

Rivera-Vega, L.J.; Grunseich, J.M.; Aguirre, N.M.; Valencia, C.U.; Sword, G.A.; Helms, A.M. **A Beneficial Plant-Associated Fungus Shifts the Balance toward Plant Growth over Resistance, Increasing Cucumber Tolerance to Root Herbivory.** Plants 2022, 11, 282. <https://doi.org/10.3390/plants11030282> Acesso em: 06 ago. 2025

Ryckeboer, Jaak & Mergaert, J & Vaes, K & Klammer, S & De Clercq, Deborah & Coosemans, J & Insam, Heribert & Swings, Jean. (2003). **A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes.** Annals of Microbiology. 53. 349-410.

Schoch, C. L. et al., 2012. **Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi,** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109 (16) 6241-6246, <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109> (2012). Acesso em: 06 ago. 2025.

Seipke, Ryan & Barke, Jörg & Brearley, Charles & Hill, Lionel & Yu, Douglas & Goss, Rebecca & Hutchings, Matthew. (2011). **A Single Streptomyces Symbiont Makes Multiple Antifungals to Support the Fungus Farming Ant Acromyrmex octospinosus.** PloS one. 6. e22028. 10.1371/journal.pone.0022028.

Shannon, C. E. (1948). **A mathematical theory of communication.** Bell System Technical Journal, 27(3): 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x> Acesso em: 03 ago. 2025.

Souchie, E. L., Azcón, R., Barea, J. M., Saggin-Júnior, O. J., & Silva, E. M. R. da (2006). **Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41(9), 1405–1411. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000900009> Acesso em: 18 abr. 2025.

Streeter, J., & Wong, P. P. (1988). **Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, 7(1), 1–23. <https://doi.org/10.1080/07352688809382257> Acesso em: 18 mai. 2025.

Suada, I. Ketut, et al. "**Ability of endophytic fungi isolated from rice to inhibit *Pyricularia oryzae*–induced rice blast in Indonesia.**" (2012): 51-53. DOI: <https://doi.org/10.5109/22047> Acesso em: 11 ago. 2025.

White, T.J. & Bruns, Tom & Lee, Steven & Taylor, John. (1989). **Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal Rna Genes for Phylogenetics.** 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.

Viaene T, Langendries S, Beirinckx S, Maes M, Goormachtig S. **Streptomyces as a plant's best friend?** FEMS Microbiol Ecol. 2016 Aug;92(8):f1w119. doi: 10.1093/femsec/f1w119. Epub 2016 Jun 7. PMID: 27279415. Acesso em: 16 abr. 2025.

Xiong C, Singh BK, He JZ, Han YL, Li PP, Wan LH, Meng GZ, Liu SY, Wang JT, Wu CF, Ge AH, Zhang LM. **Plant developmental stage drives the differentiation in ecological role of the maize microbiome.** Microbiome. 2021 Aug 13;9(1):171. doi: 10.1186/s40168-021-01118-6. PMID: 34389047; PMCID: PMC8364065. Acesso em: 23 ago. 2025.

Yan Du, Tianye Wang, Chengyu Wang, Paul-Simon Anane, Shuxia Liu, and Jorge Paz-Ferreiro. 2019. **Nitrogen fertilizer is a key factor affecting the soil chemical and microbial communities in a Mollisol.** *Canadian Journal of Microbiology*. 65(7): 510-521. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0683> Acesso em: 30 jul. 2025