



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Campus “Luiz de Queiros”  
Centro de Energia Nuclear na Agricultura



Fertilidade e biologia do solo:  
integração e tecnologias para todos

FERTBIO 2014

“Integração e Tecnologias para Todos”

Araxá, 15 a 19 de Setembro de 2014

## Como a microbiota do solo pode contribuir para obtenção de altas produtividades

*Siu Mui Tsai*

tsai@cena.usp.br

Laboratório de Biologia Celular e Molecular  
CENA-USP

---

- **Considerações Iniciais**

  - Produção e Produtividade

  - Conservação e Sustentabilidade

  - Intensificação das Práticas Conservacionistas

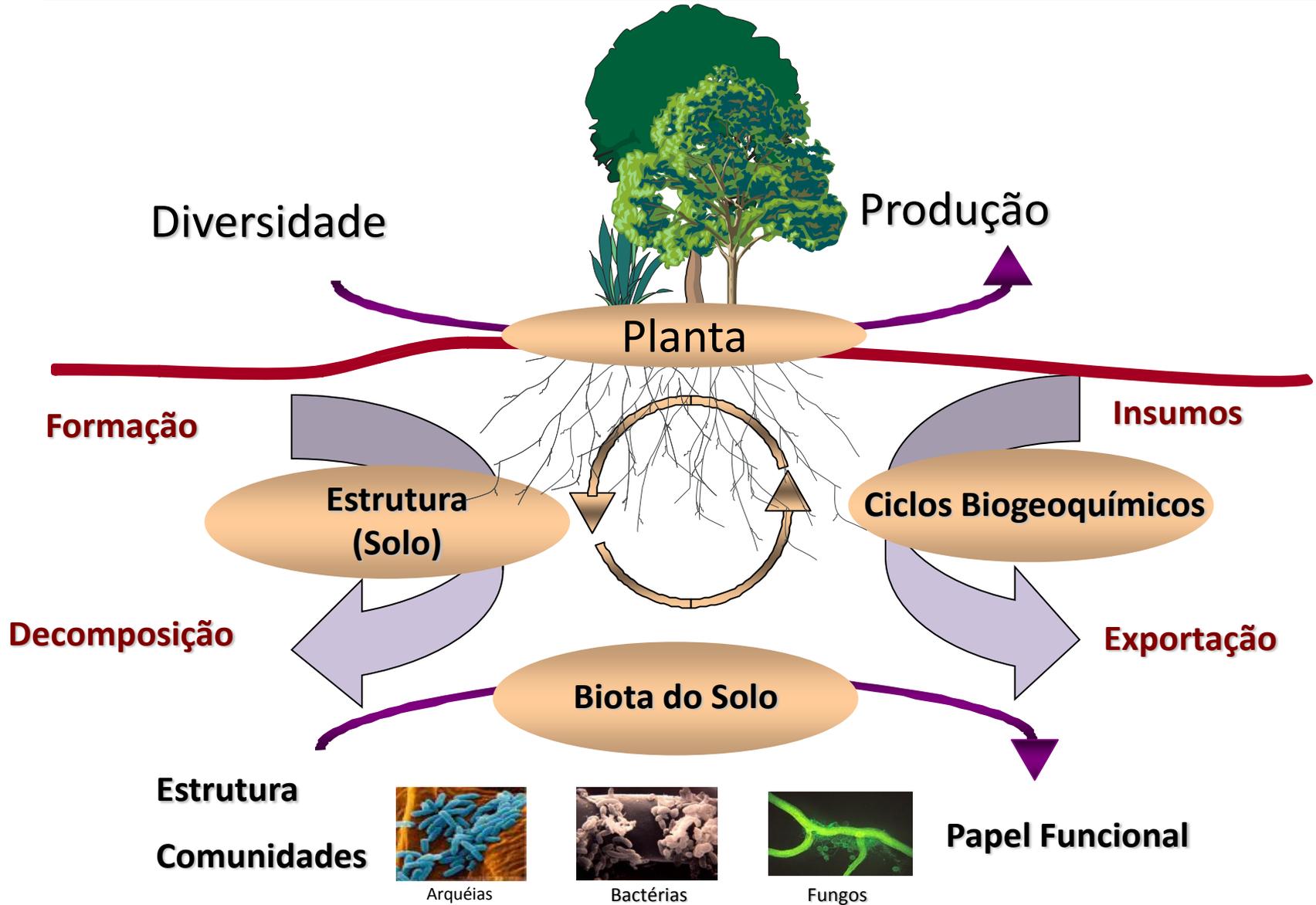
- **Produtividade e Sustentabilidade Agrícola**

  - Melhoramento e produção vegetal sob novo enfoque

  - Manejo agrícola: biodiversidade e qualidade do solo

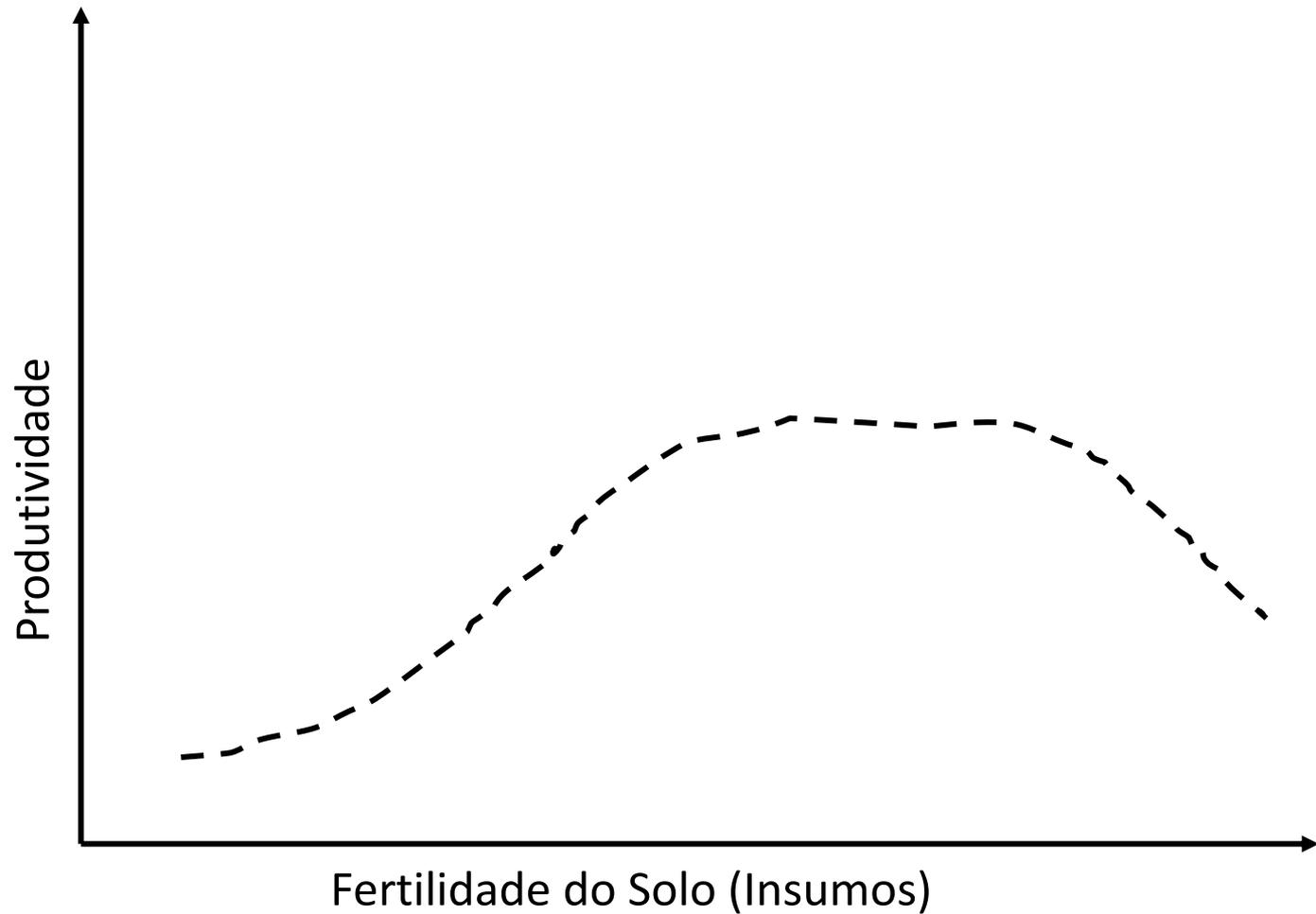
- **Considerações Finais**

# Introdução

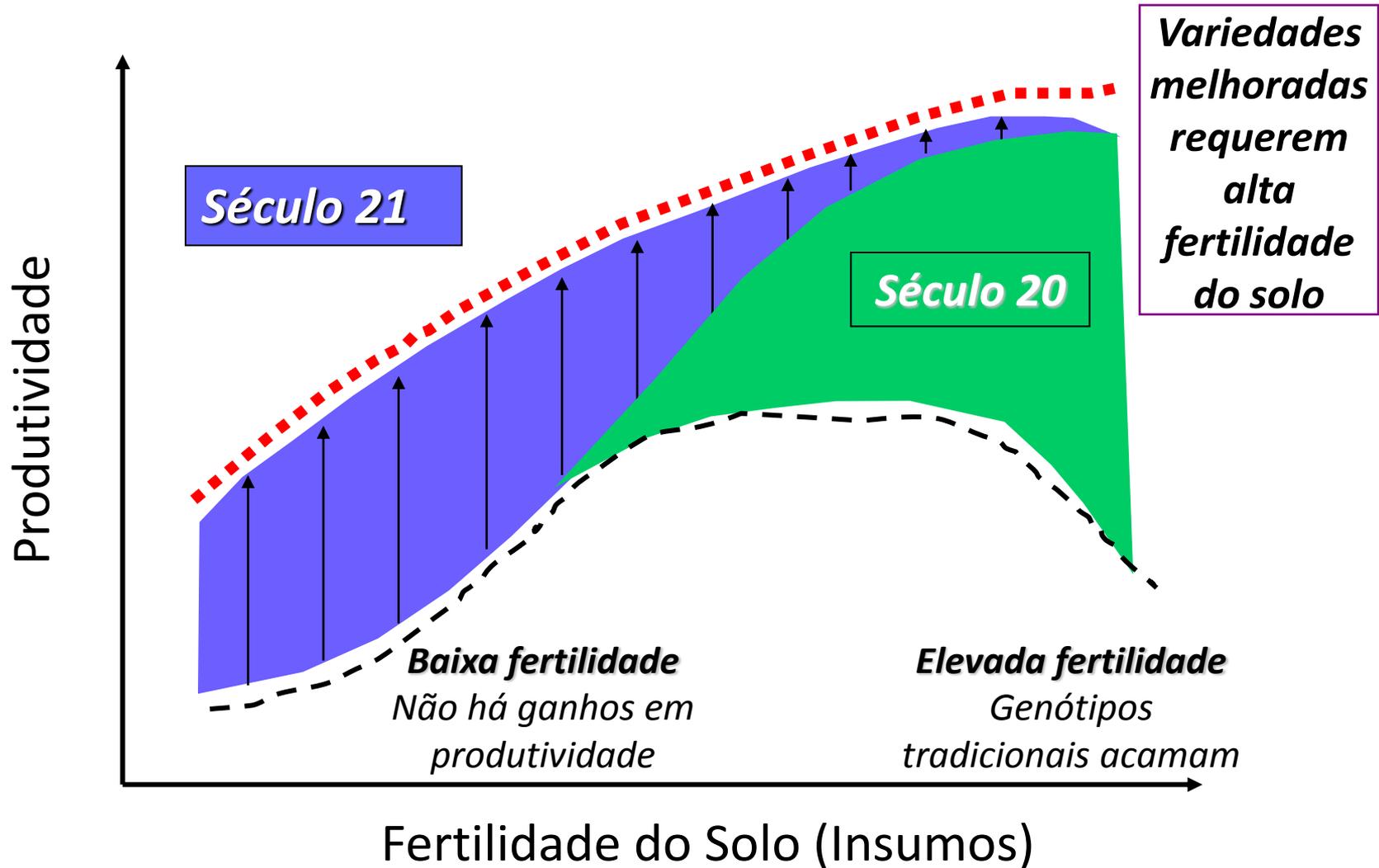


---

## CURVA DA PRODUÇÃO DE UMA CULTURA

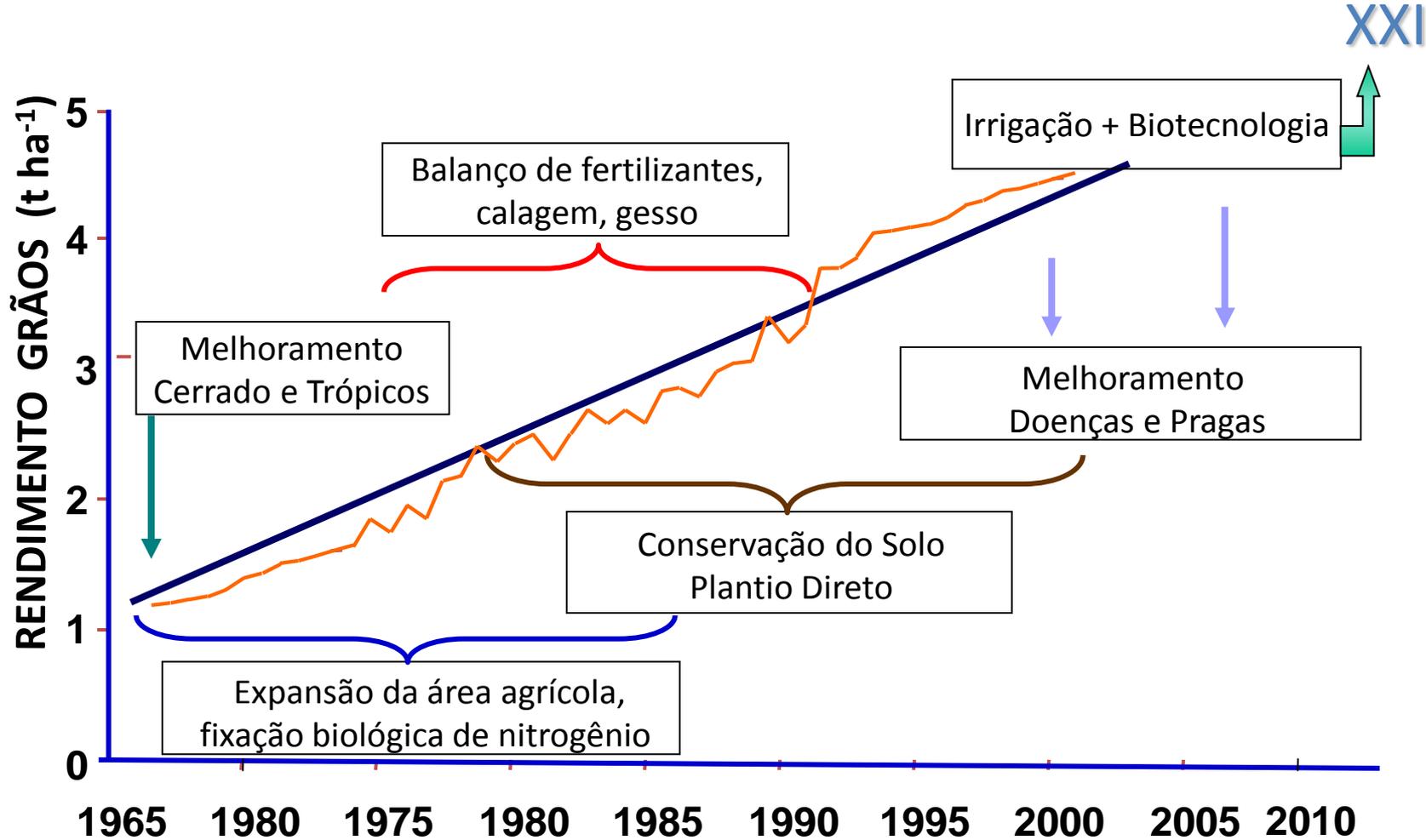


# BENEFÍCIOS DA REVOLUÇÃO VERDE





# O exemplo da soja no Brasil



## ■ Intensificação de Práticas Conservacionistas e Produção em Áreas Marginais e Degradadas

---

- **Produções que alcancem 85-90% do potencial genético para produção vegetal de alta qualidade**
  - ✓ Aumento da eficiência de absorção de nutrientes: P e micronutrientes
  - ✓ Eficiência de 90-95% no uso de água
  - ✓ Tolerância a fatores ambientais: seca, alta temperatura
- **Melhoria da qualidade do solo e ambiente**
  - ✓ Armazenamento de nutrientes
  - ✓ Conservação da matéria orgânica e sequestro do C do solo
  - ✓ Nutrição balanceada das plantas

---

- **Considerações Iniciais**

  - Produção e Produtividade

  - Conservação e Sustentabilidade

  - Intensificação das Práticas Conservacionistas

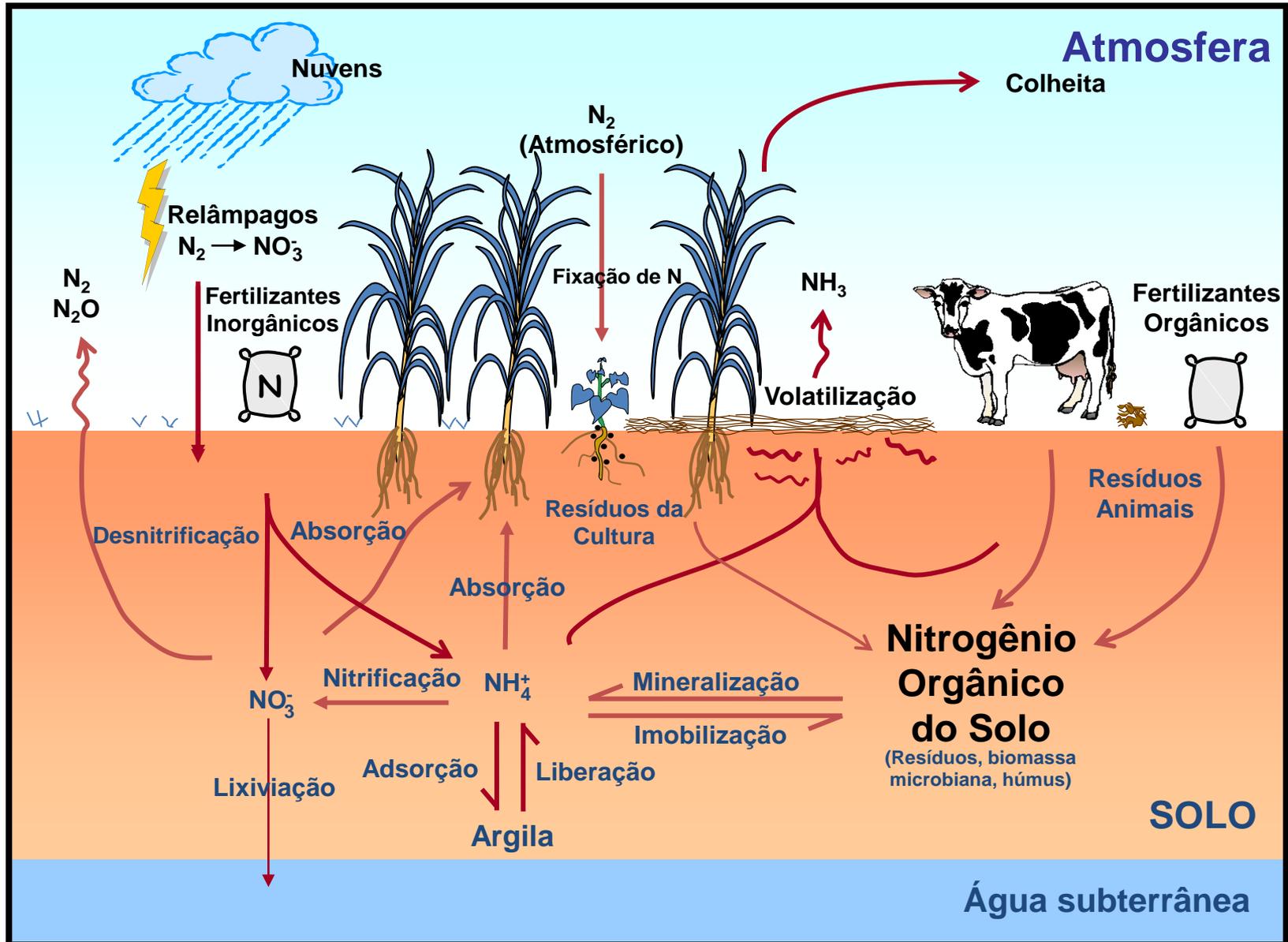
- **Produtividade e Sustentabilidade Agrícola**

  - Melhoramento e produção vegetal sob novo enfoque

  - Manejo agrícola: biodiversidade e qualidade do solo

- **Considerações Finais**

# CICLO DO NITROGÊNIO



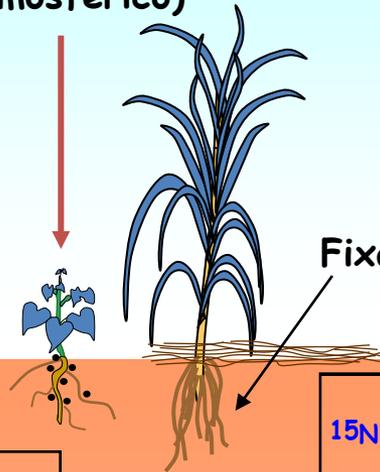
# CICLO BIOLÓGICO DO N

Atmosfera

$N_2$   
(Atmosférico)

Fixação Simbiótica

Fixação Associativa



## FBN EM LEGUMINOSAS

$^{15}N$ -FERTILIZANTE,  $\delta^{15}N$  e  $^{15}N_2$

SOJA	0-450
FEIJÃO	10-112
AMENDOIM	37-206
ERVILHA	17-244
FEIJÃO FAVA	53-330
SESBANIA	11-458
LEUCAENA	100-300

## FBN EM CANA-DE-AÇÚCAR

$^{15}N$  MARCADO EM CILINDROS DE SOLO PVA  
(Urquiaga & Döbereiner 1991)

	%	Kg/ha
CB 47-89	41,9	111
CB 45- 3	44,1	110
NA 56-79	42,9	106
IAC 52-150	46,2	125
SP 70-1143	52,3	128
SP 71-799	46,1	112
SP 79-2312	41,7	84
Chunnee	37,2	56
Caiana	42,2	21
Krakatau	55,6	163
<i>B. radicans</i>	0,0	-

Água subterrânea

## Fixação Biológica de N<sub>2</sub>



Soja nodulante e não nodulante  
Contribuição de 80 a 120 kg N ha<sup>-1</sup>



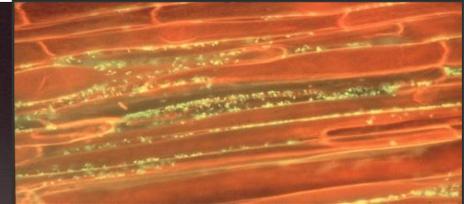
*Bradyrhizobium elkanii*  
suplementa nitrogênio ao solo

*Glycine max* L. (Merrill)



RAÍZES E BACTÉRIAS  
NA RIZOSFERA

BACTÉRIAS  
ENDOFÍTICAS



Control

+ Azospirillum



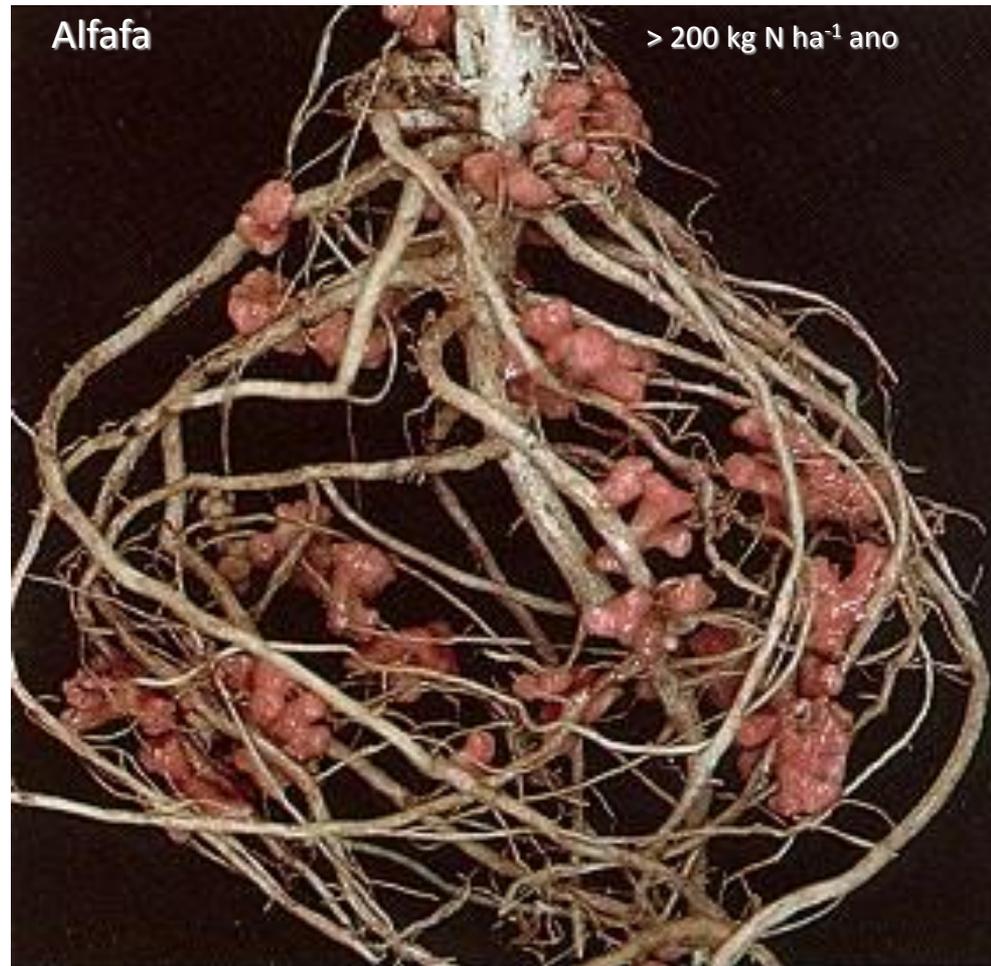
Fixação Biológica de N<sub>2</sub> em Plantas de Pastagem

## FUNGOS MICORRÍZICOS EM ALFAFA



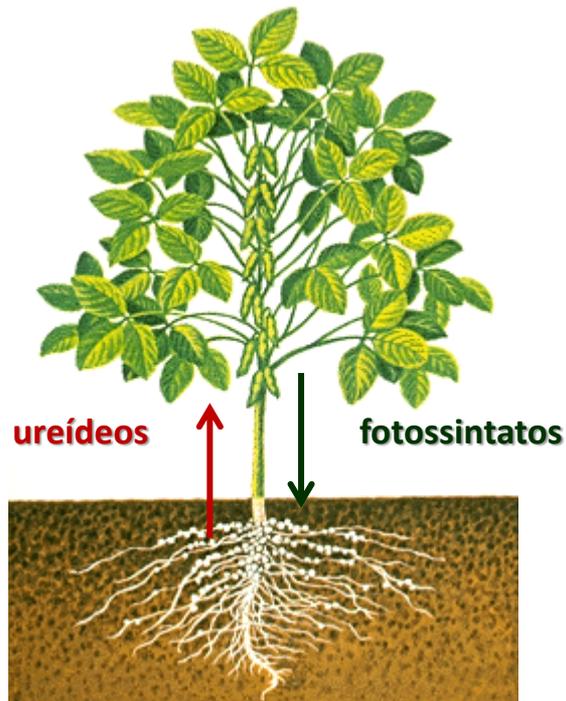
## CONSÓRCIO MILHO-FEIJÃO Solo Esterilizado (R-Gama)





**Nodulação em Alfafa é Muito Eficiente**

# A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N<sub>2</sub>



## CUSTOS DA FBN

Compensação > Taxa Fotossíntese e  
Retardamento da Senescência Foliar

(Kaschuk et al. 2010)

## RESPOSTAS

- Fertilidade do solo (Tsai et al., 1993)
- P, K, S (Divito e Sadras, 2014)

## Respostas à inoculação com estirpes selecionadas em dois cultivares de feijoeiro - Brasil

	Strain/treatment	Nodule no. per plant	Nodule mass <sup>a</sup> per plant	Grain yield <sup>a</sup> (kg per ha)
Estirpes (5)	UMR1020			
	Capixaba <sup>b</sup>	64 <sup>c</sup>	105	1381
	CNPAF 178	32	51	2354
	UMR1024			
	Capixaba	37	39	1661
	CNPAF178	42	71	1257
	UMR1135			
	Capixaba	21	35	1627
	CNPAF178	52	100	2526
	UMR1632			
Capixaba	7	3	871	
CNPAF178	35	68	1437	
UMR1899				
Capixaba	18	19	1431	
CNPAF178	69	52	2056	
Controles (2)	Not inoculated			
	Capixaba	0	0	576
	CNPAF178	0	0	751
	100 kg N per ha			
Capixaba	1	3	1894	
CNPAF178	1	1	1991	

<sup>a</sup> Source: Mendes et al. (1994).

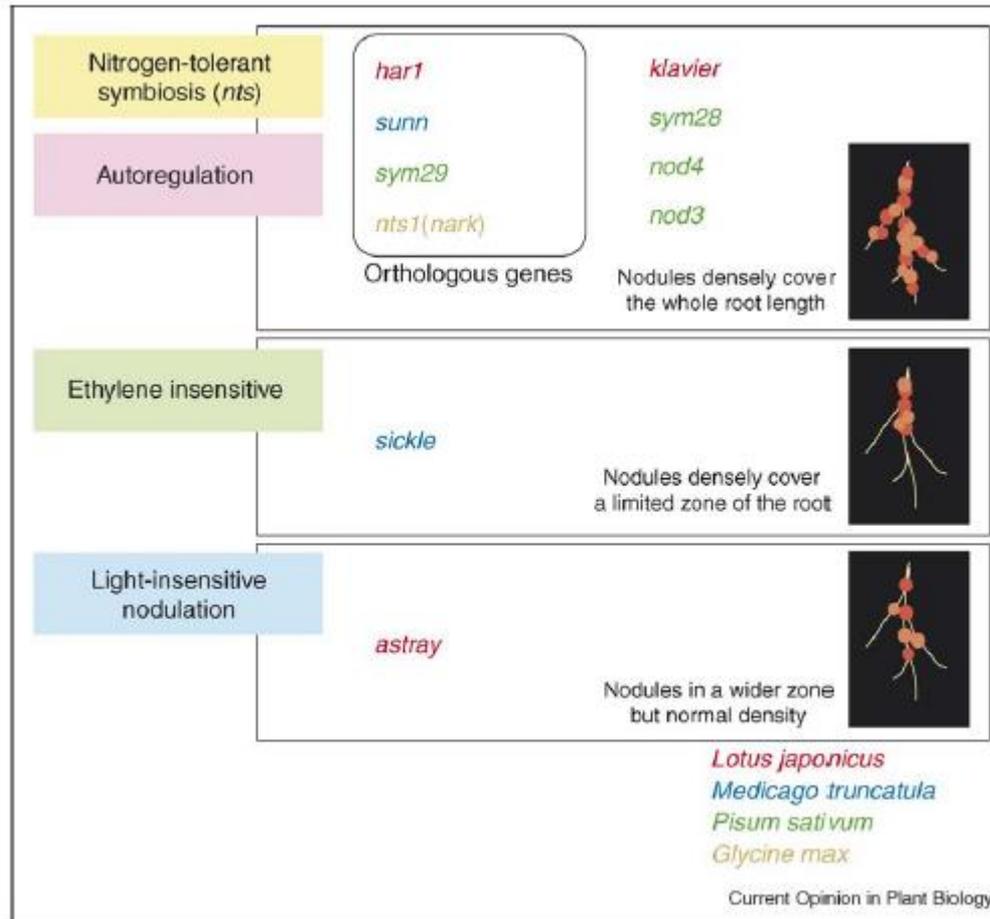
<sup>b</sup> The cultivars used were Capixaba Precoce and CNPAF178.

<sup>c</sup> Nodule number and mass were determined 33 DAP for Capixaba Precoce and 39 DAP for CNPAF 178.

## Melhoramento da FBN – Nodulação

Diferentes categorias de mutantes que apresentam aumento de nódulos

Tolerante N  
(Autoregulação)



## Influência do suprimento de P em parâmetros de nodulação e FBN em *P. vulgaris*

Influence of P supply on parameters of nodulation and nitrogen fixation in *P. vulgaris*\* (P.H. Graham and I. Christiansen, unpublished data)

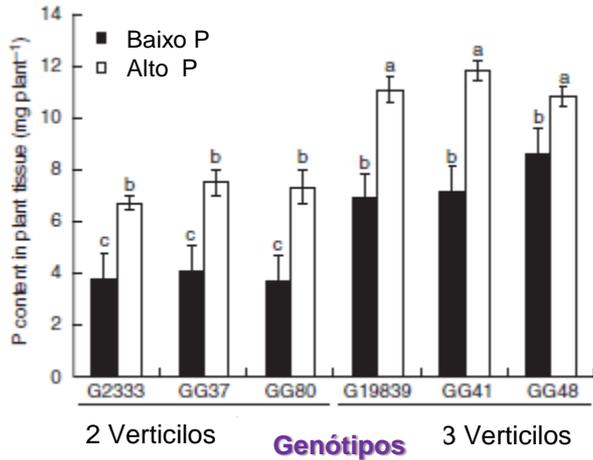
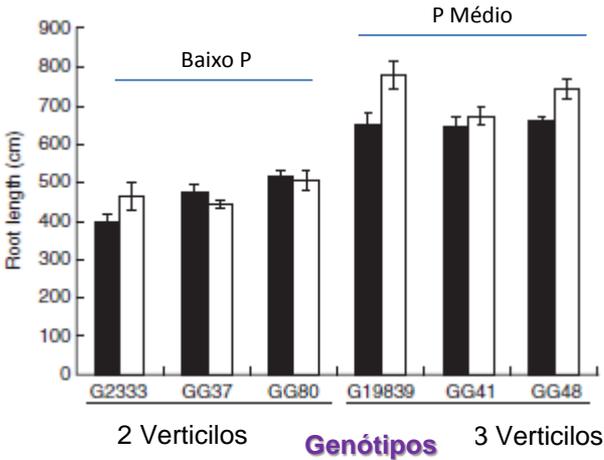
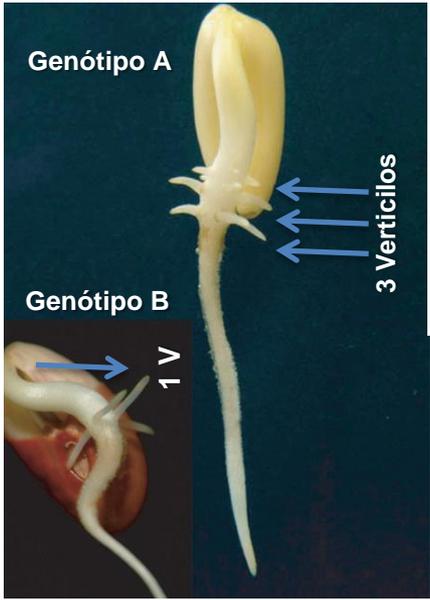
Parameter measured	P supplied in nutrient solution (ppm)		
	1	4	16
Nodule dry weight (mg per plant)	70	212	354
P in nodule (%)	0.21	0.20	0.29
Plant P found in nodules (%)	9.0	10.9	9.7
Total plant N (mg)	45	108	126
Acetylene reduction ( $\mu\text{M}$ per plant $\text{h}^{-1}$ )	4.3	12.4	34.0
Specific nodule activity ( $\mu\text{M C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ nodules h}^{-1}$ )	0.061	0.058	0.096
Fixation per unit P ( $\mu\text{M C}_2\text{H}_4 \text{ mg nodule P h}^{-1}$ )	28.5	26.9	33.7

\* The data provided is an average for four bean cultivars and four replications per cultivar. Plants were sampled 33 days after planting.

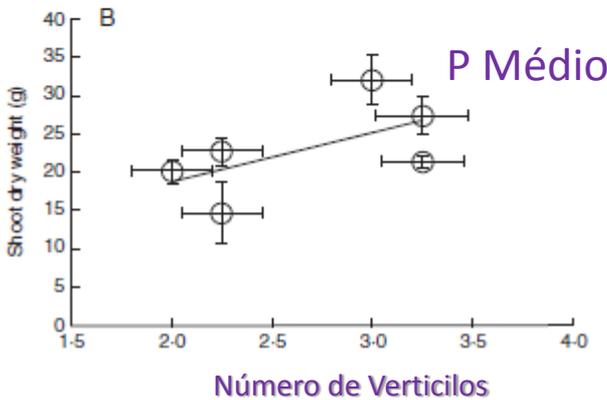
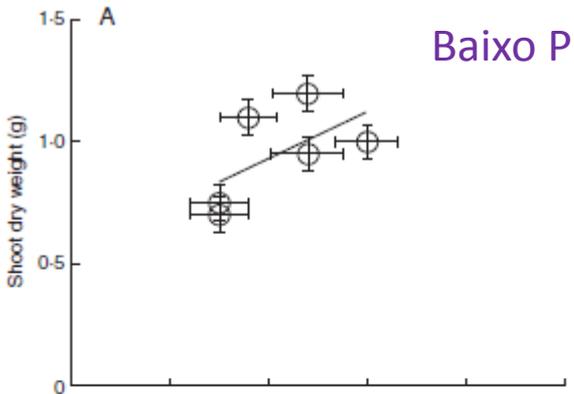
### Fixação Biológica de $\text{N}_2$ (correlações):

Alantoína, Fosfoenol piruvato carboxylase (PEPC) e Leghemoglobina, Glutamina sintetase, malato desidrogenase, acetil-CoA redutase.

# Seleção para Eficiência no Uso de Fósforo *P. vulgaris*



## Parte Aérea (g)



# Seleção para Tolerância a Stress Hídrico

*P. vulgaris*



Raízes com nódulos  
~300 genótipos

(Konzen, Gepts, Tsai)



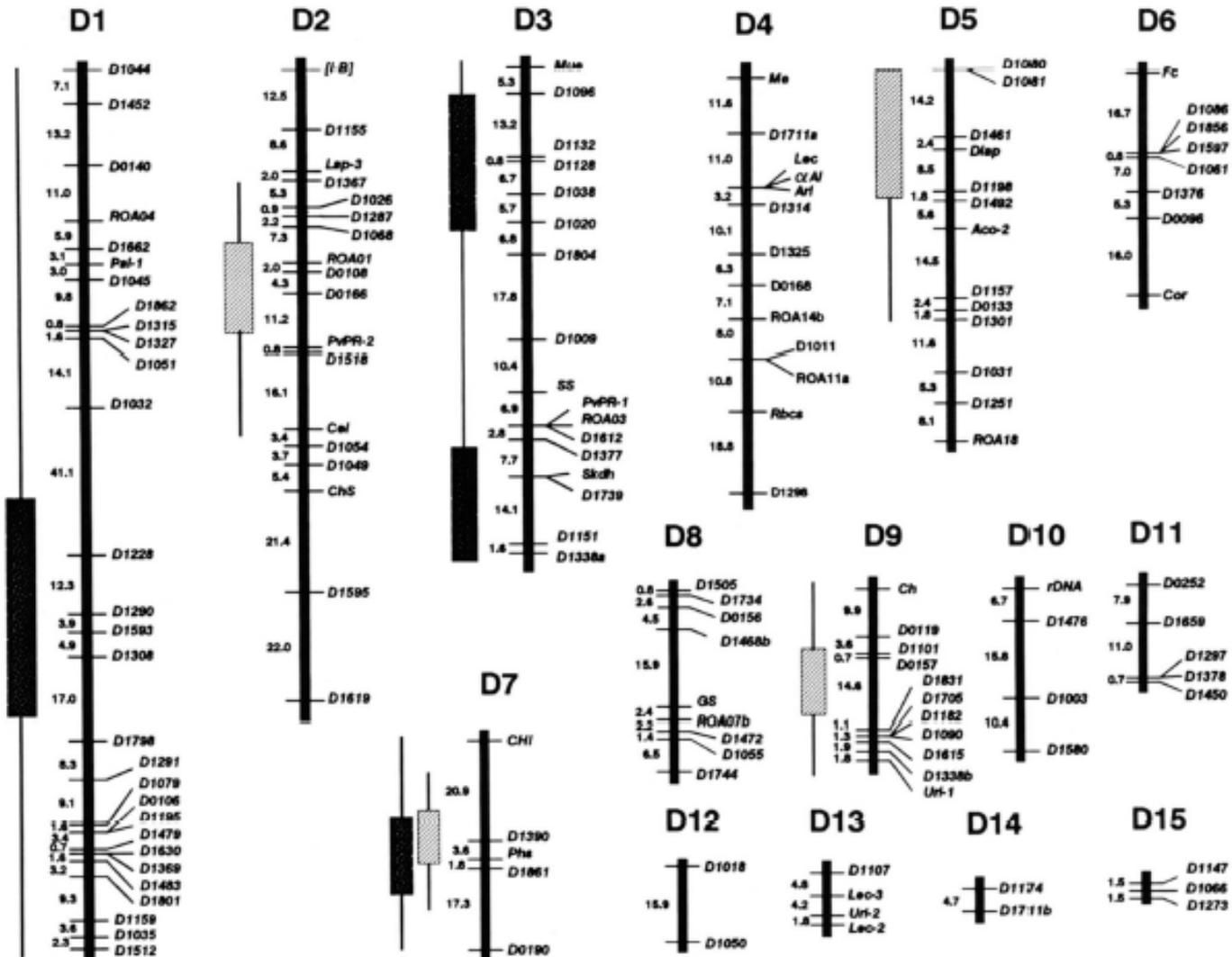
Cinco linhagens para uso eficiente de fósforo e 10 a serem liberadas

Melhoramento Genético: Tolerância a Estresses Ambientais e Eficiência no Uso de Nutrientes J. Lynch – PSU (EUA)

# Mapeamento Genético Assistido por Marcadores: Busca de QTLs

# Marcadores Moleculares

*Phaseolus vulgaris* L.



# MAPEAMENTO ASSISTIDO POR MARCADORES

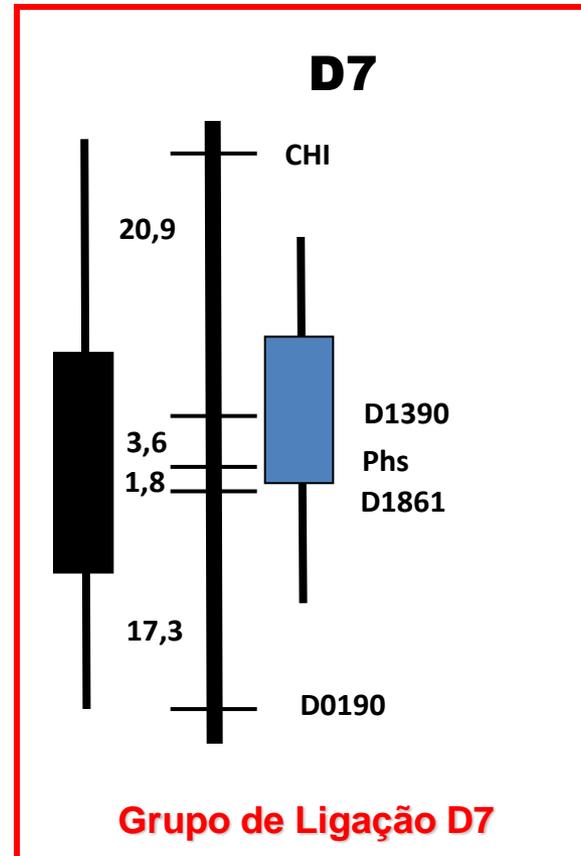
*Phaseolus vulgaris* L.

## Características

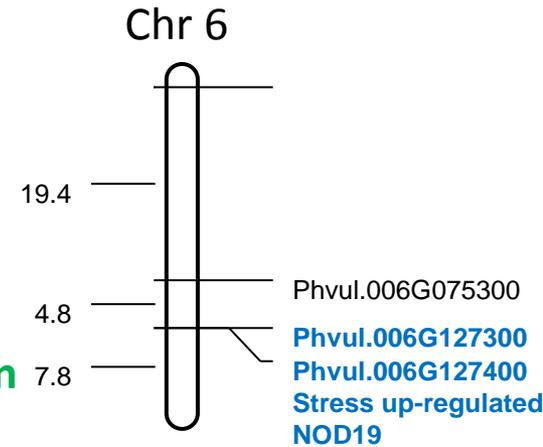
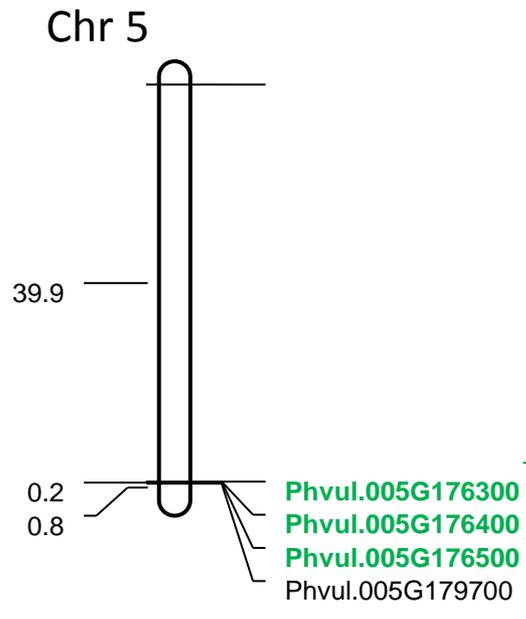
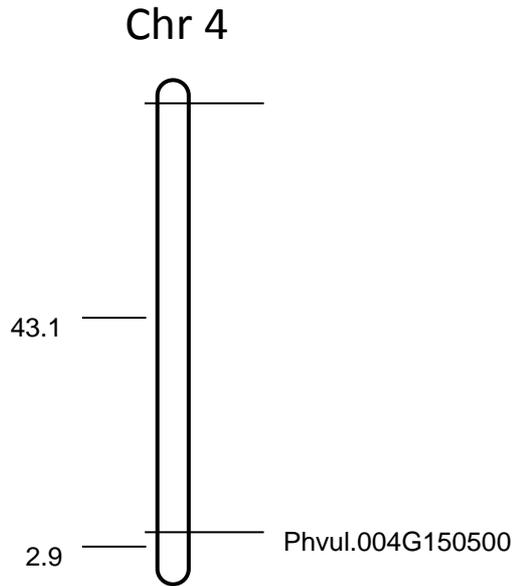
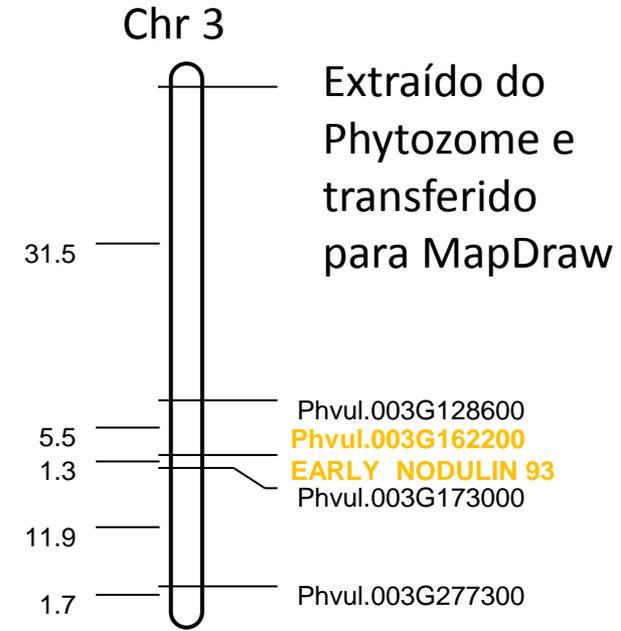
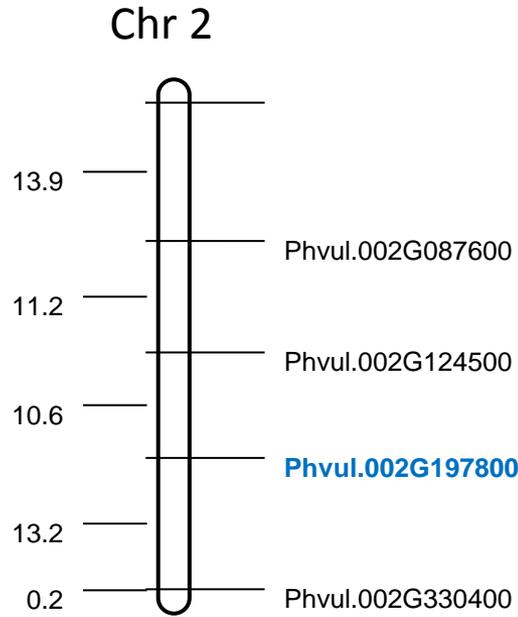
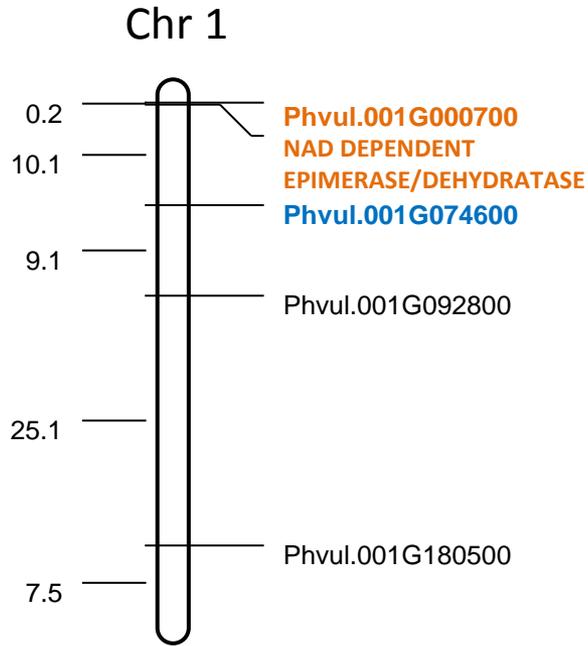
(*Phaseolus vulgaris* L.)

- Doenças bacterianas estimuladas pela adição de N-mineral
- Nodulação: herança quantitativa dominante
- Ausência de nodulação: herança simples e recessiva
- Bacteriose x nodulação:

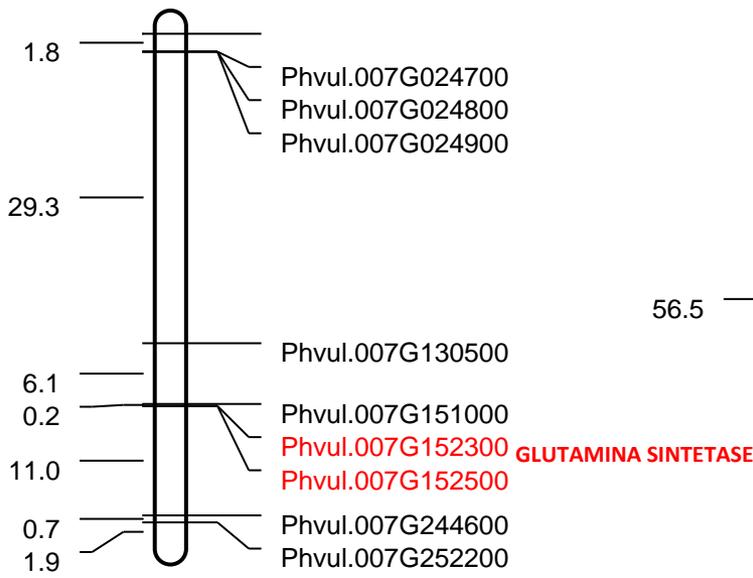
**seleção negativa**



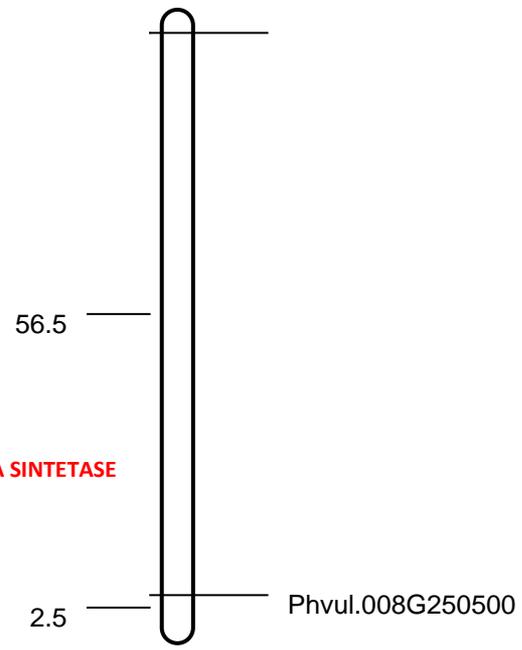
# LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA DE GENES CODIFICADORES DE NODULINAS , *NODULIN-LIKE* E OUTRAS PROTEÍNAS RELACIONADAS À NODULAÇÃO EM FEIJOEIRO



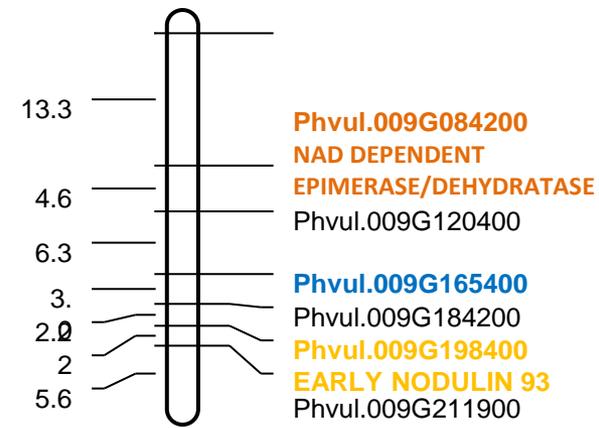
### Chr 7



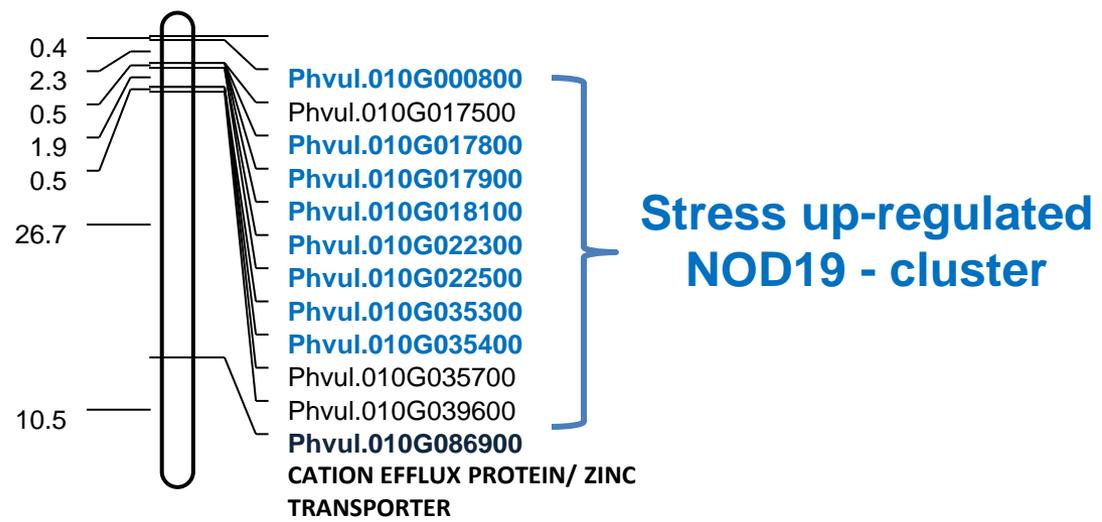
### Chr 8



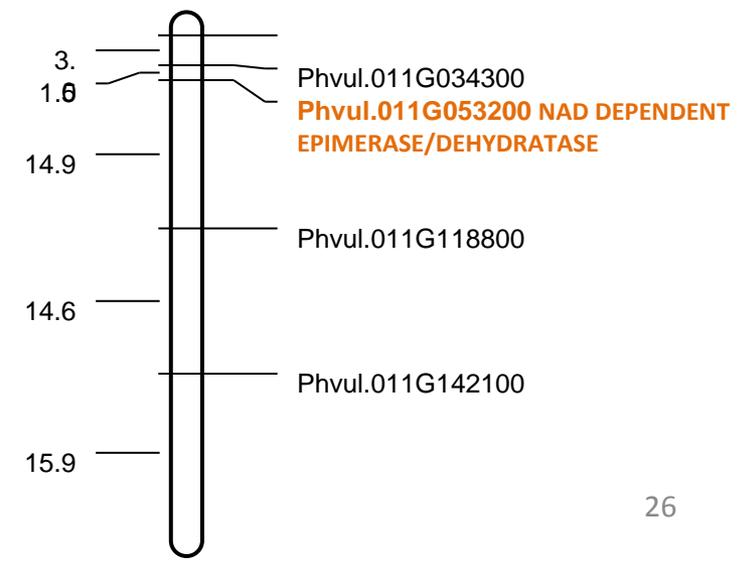
### Chr 9



### Chr 10

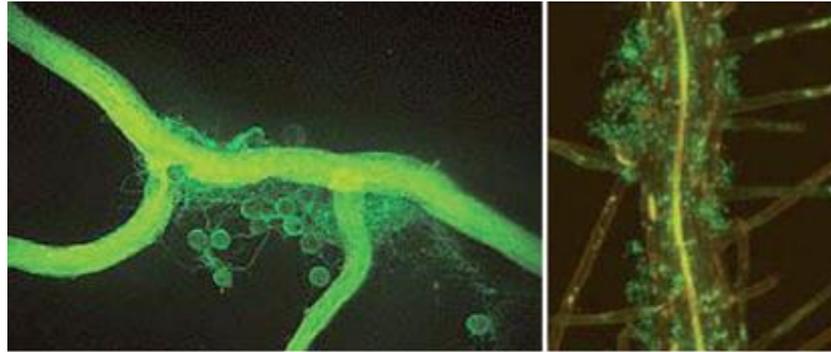


### Chr 11



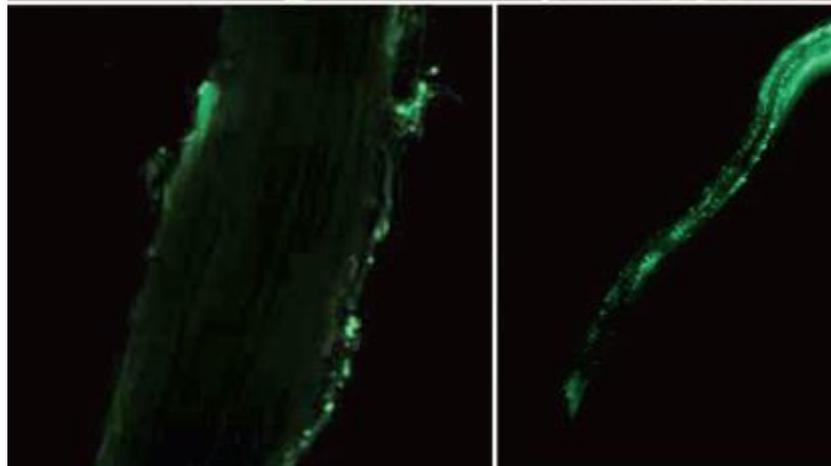
## Micro-organismos na Rizosfera

Fungo Micorrízico Arbuscular  
Milho



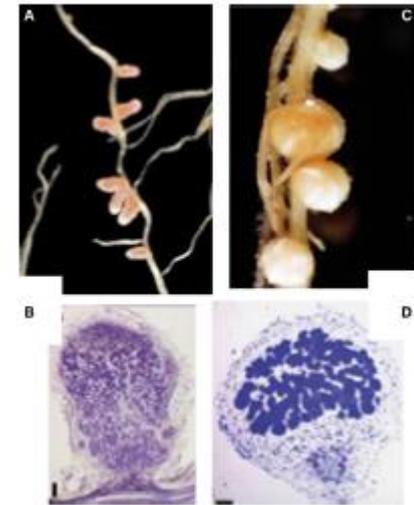
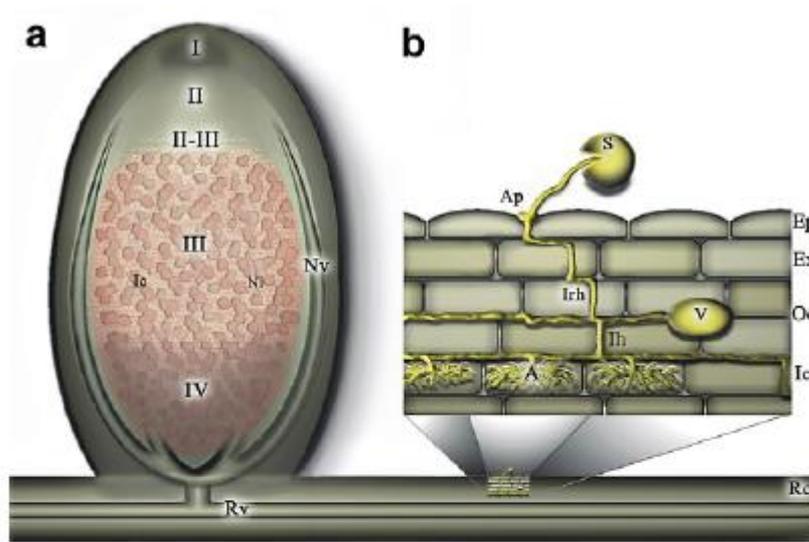
Rizobactéria Promotora  
Crescimento – *Bacillus subtilis*  
*Arabidopsis thaliana*

Rizobactérias  
Hibridização *in situ* (GFP)  
*Arabidopsis thaliana*

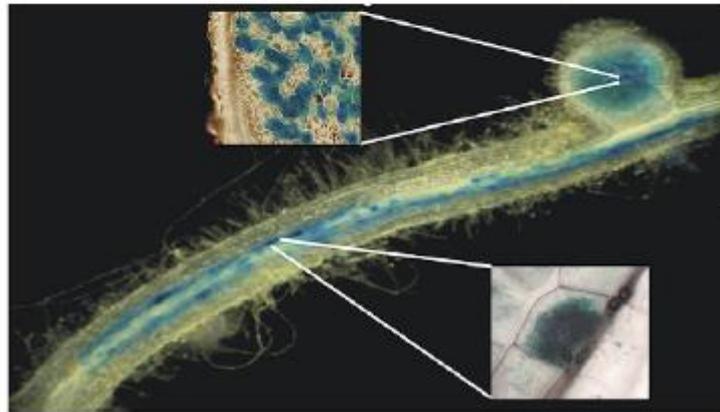


Rizobactérias  
GFP  
*Arabidopsis thaliana*

Gene promotor VfLb29 que codifica o gene da symbiosina  
(simbioticamente induzido) em nódulos e em raízes micorrizadas



(Küster et al. 2007)



(Desbrosses & Stougaard 2011)

Marcação com *gusA* em raízes de *M. truncatula* transgênica

# Meta-Omics

Desenvolvimento de flores e frutos  
Resistência a doenças e estresse  
Qualidade nutricional  
Simbioses  
Arquitetura da planta

Sequências de ESTs,  
BACs  
Citogenética  
Mapas  
Ligação/Físico

Micro-arranjos, QTLs  
Transformação/Mutagênese  
Proteômica

Bioquímica e análises  
genéticas e fisiológicas  
de tratos selecionados

Genômica  
Estrutural

Genômica  
Funcional

Genética  
Evolutiva

Bioinformática

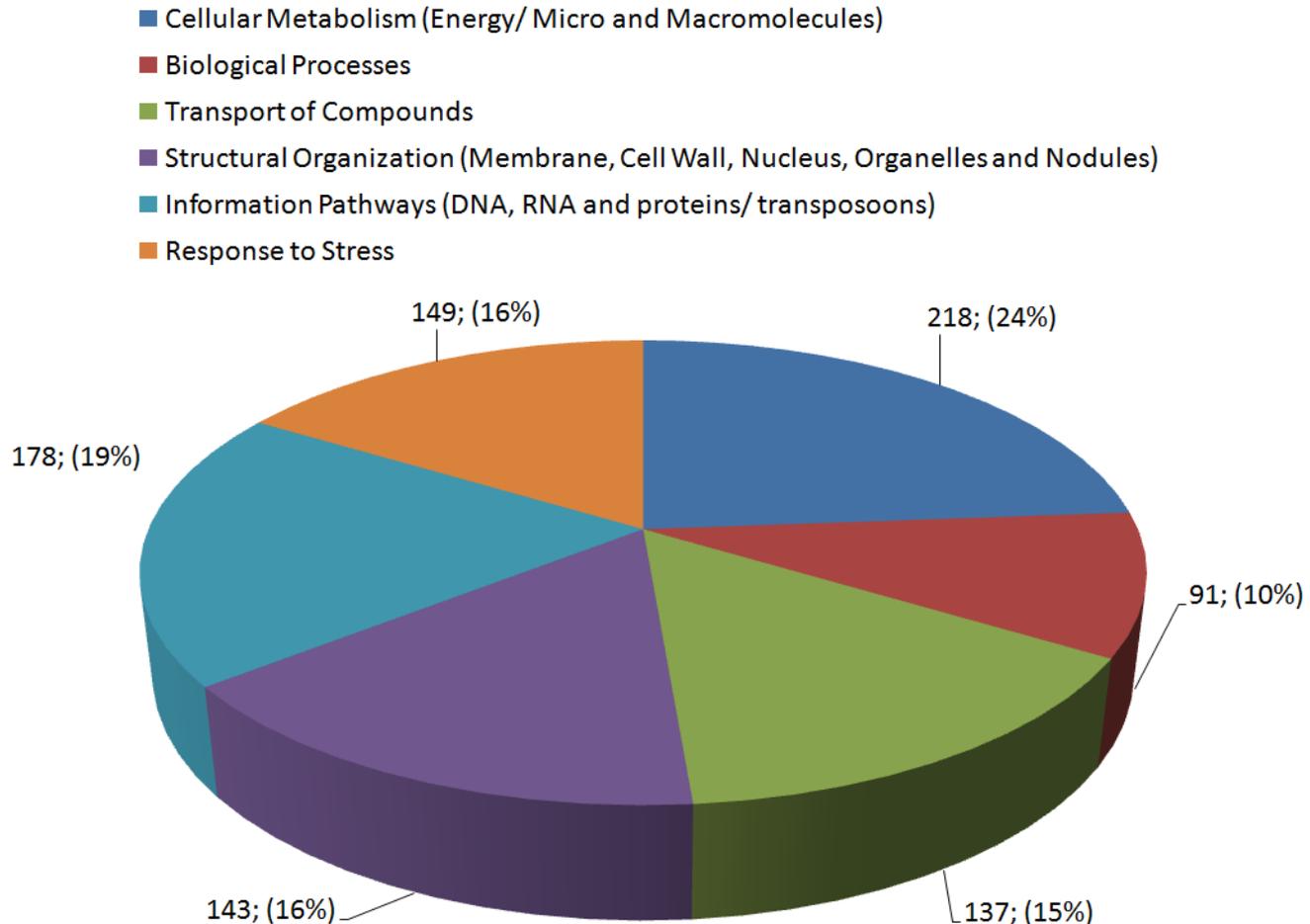
Estudos sócio-econômicos

Base de Dados

Melhoramento

NOVAS LINHAGENS

## Análise de Genes Funcionais em *P. vulgaris*



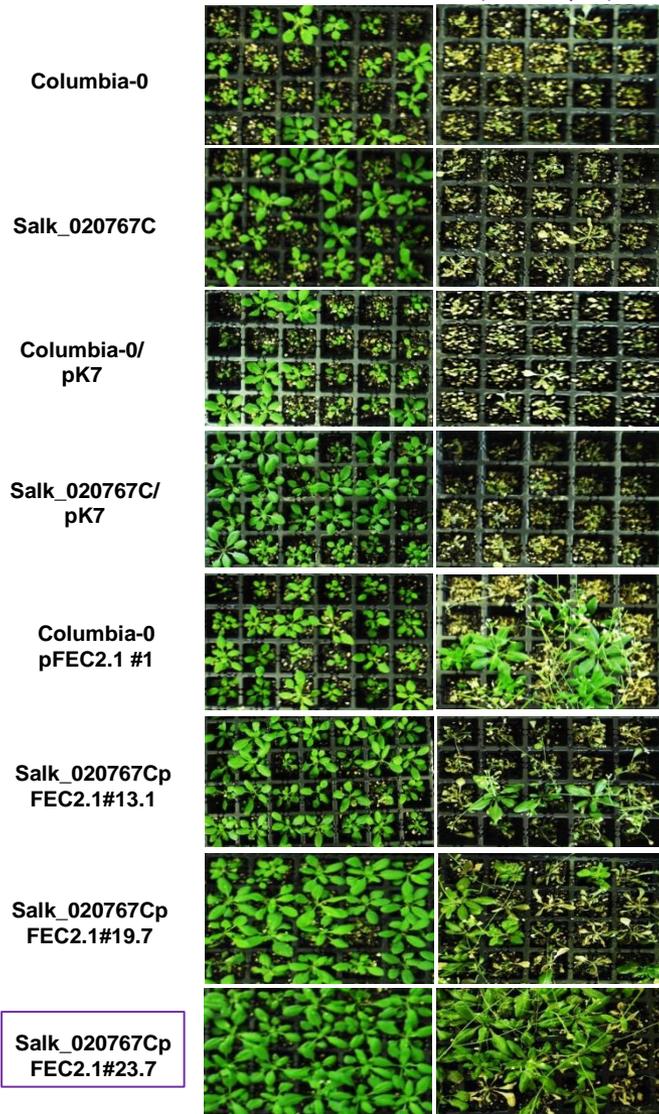
(Recchia , 2011)

# A FISIOLOGIA DO ESTRESSE

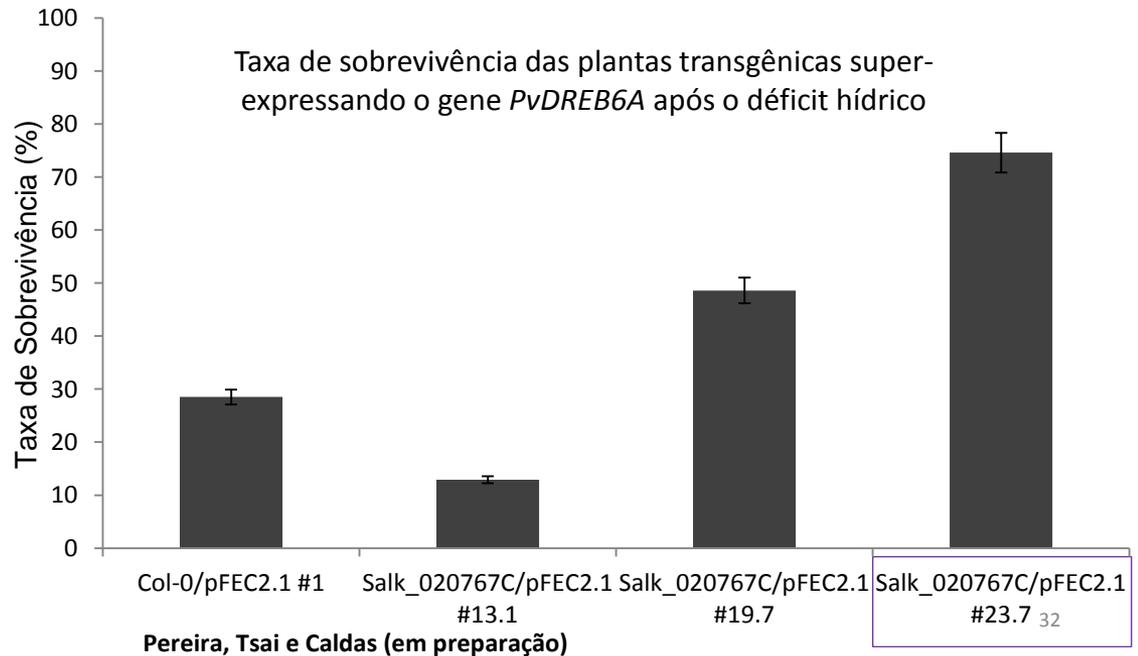
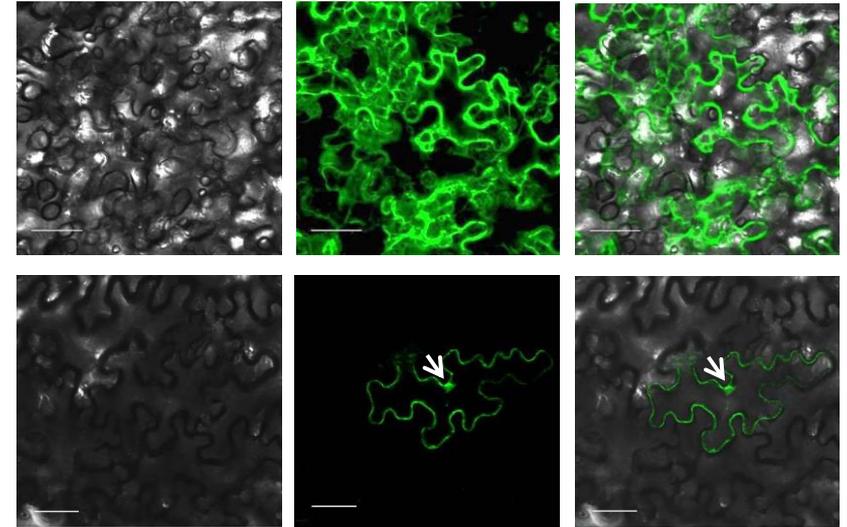
# Arabidopsis thaliana

Antes do estresse  
Hídrico

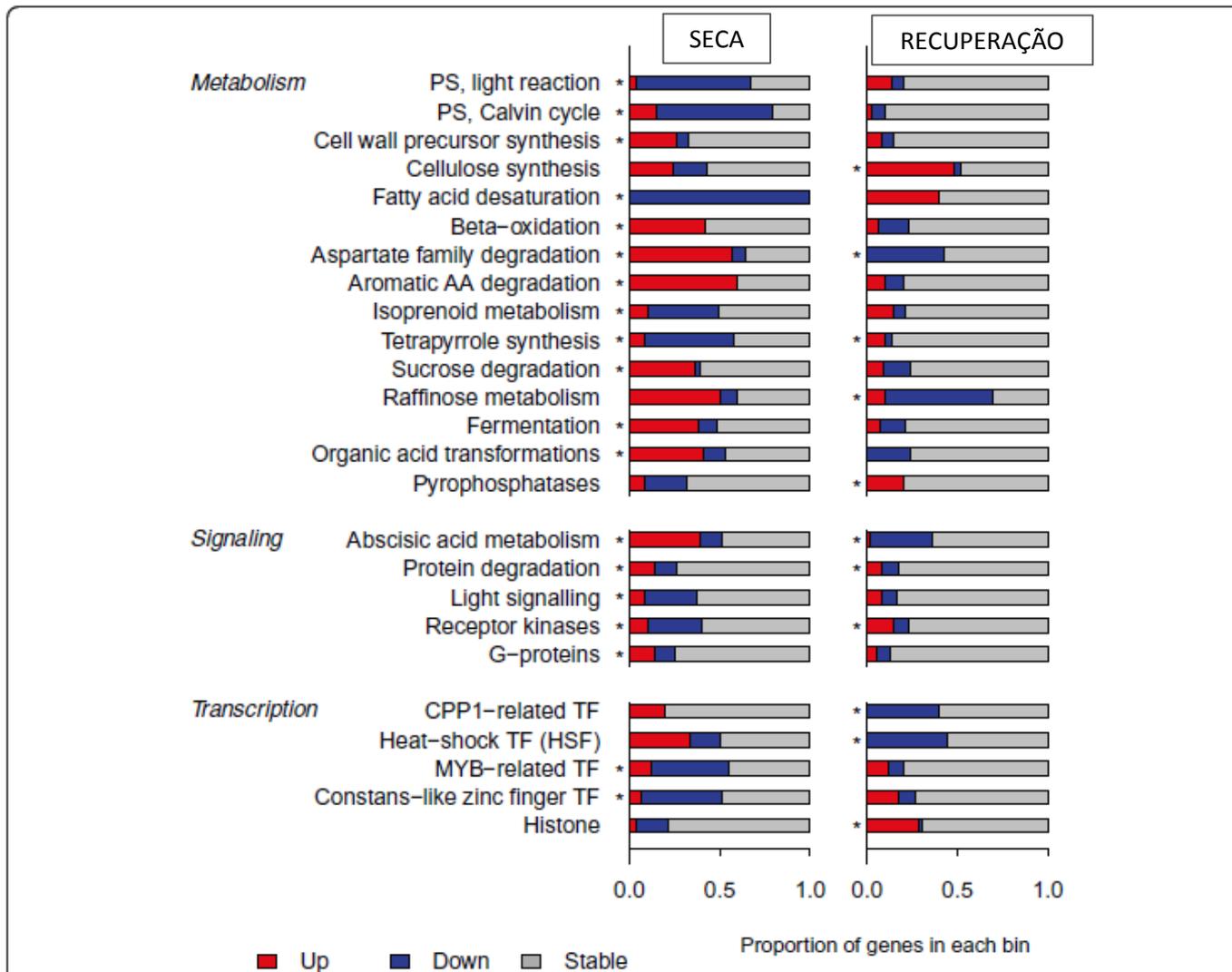
Após  
estresse  
(4 dias após)



Localização nuclear da proteína PvDREB6A fusionada a *gfp*, em células de tabaco transformadas por agroinfiltração



# Integrando respostas transcricionais, metabôlômicas e fisiológicas ao déficit hídrico (*Panicum virgatum* L.)



---

- **Considerações Iniciais**

  - Produção e Produtividade

  - Conservação e Sustentabilidade

  - Intensificação das Práticas Conservacionistas

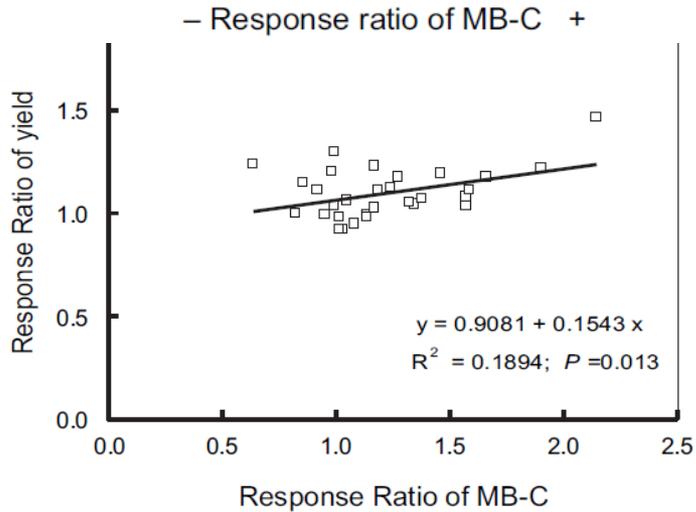
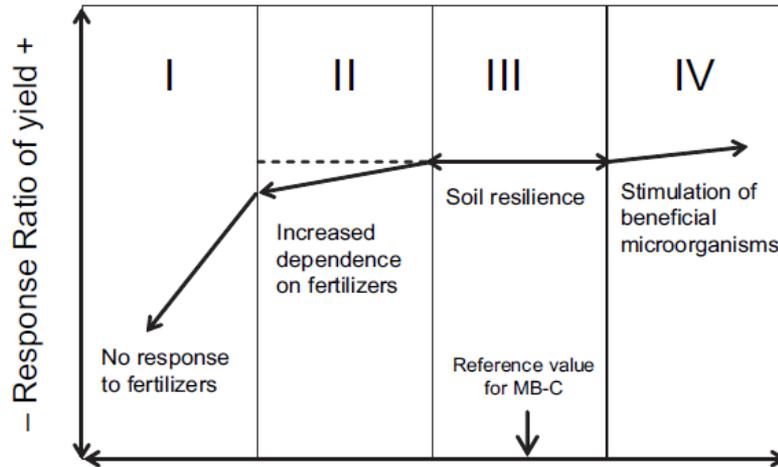
- **Produtividade e Sustentabilidade Agrícola**

  - Melhoramento e produção vegetal sob novo enfoque

  - Manejo agrícola: biodiversidade e qualidade do solo

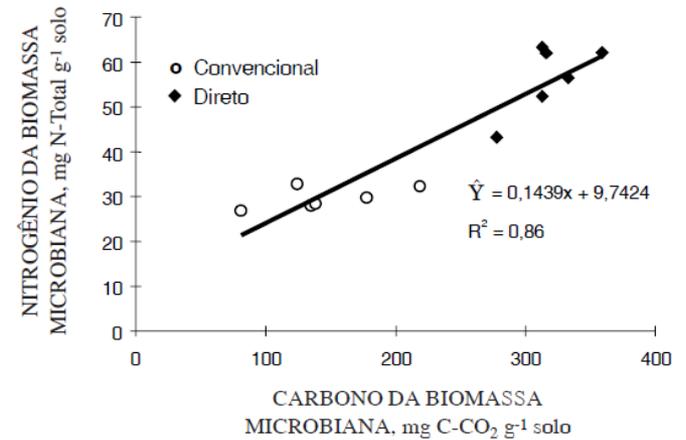
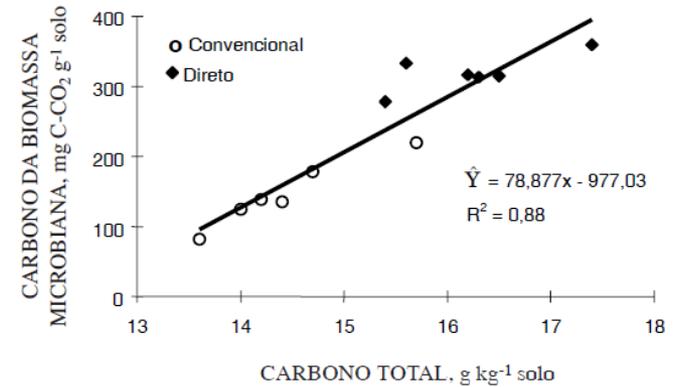
- **Considerações Finais**

## Biomassa Microbiana e Produção

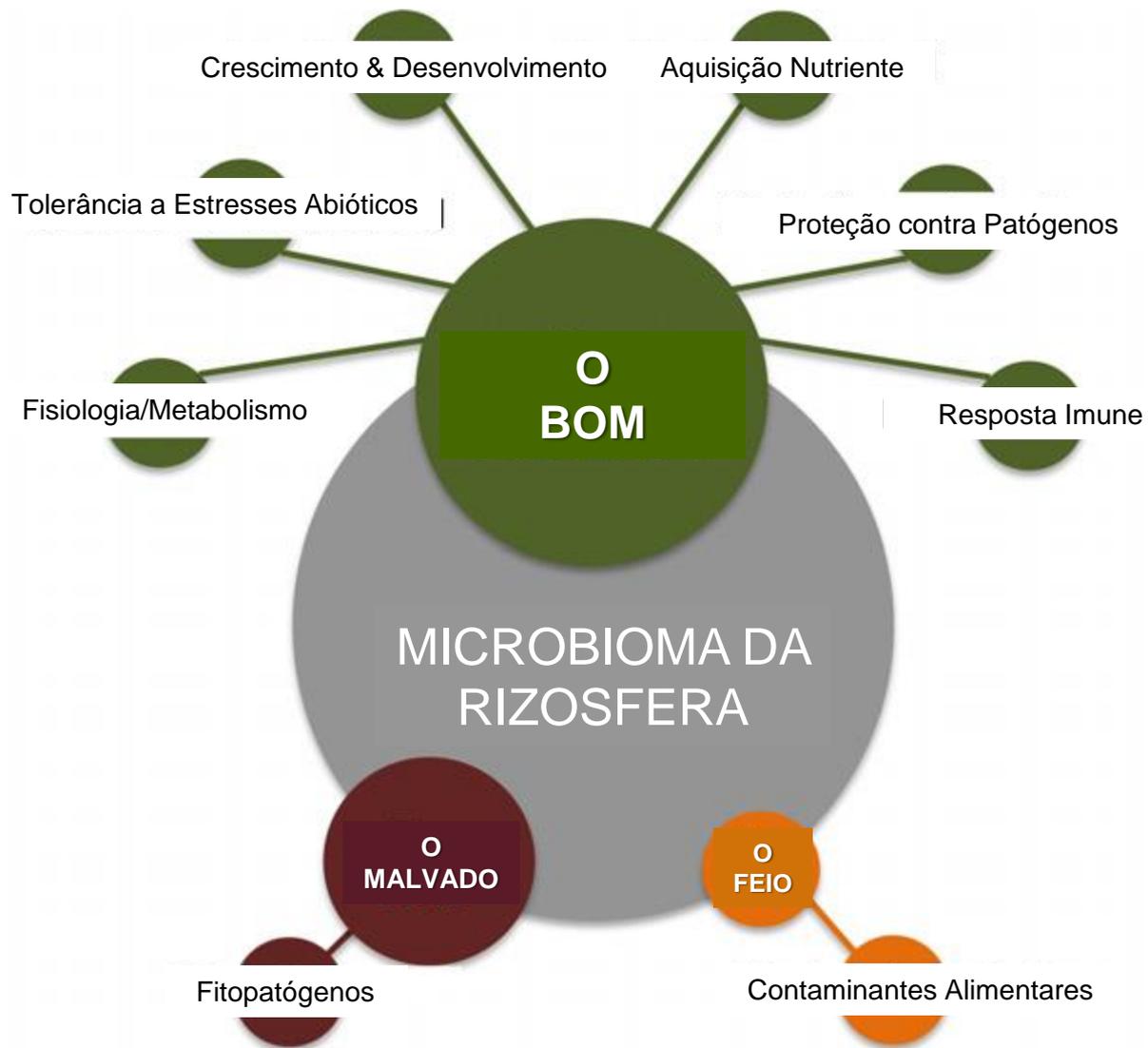


Kaschuk et al. (2010)

## Biomassa Microbiana e Manejo do Solo



Balota et al. (1998)

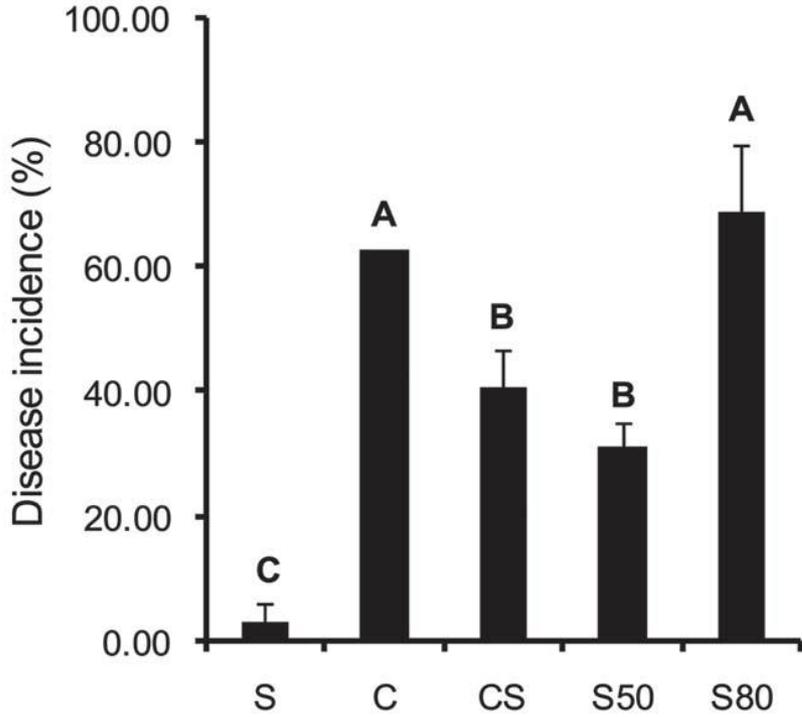


# Desvendando o Microbioma da Rizosfera em Solo Agrícola

A

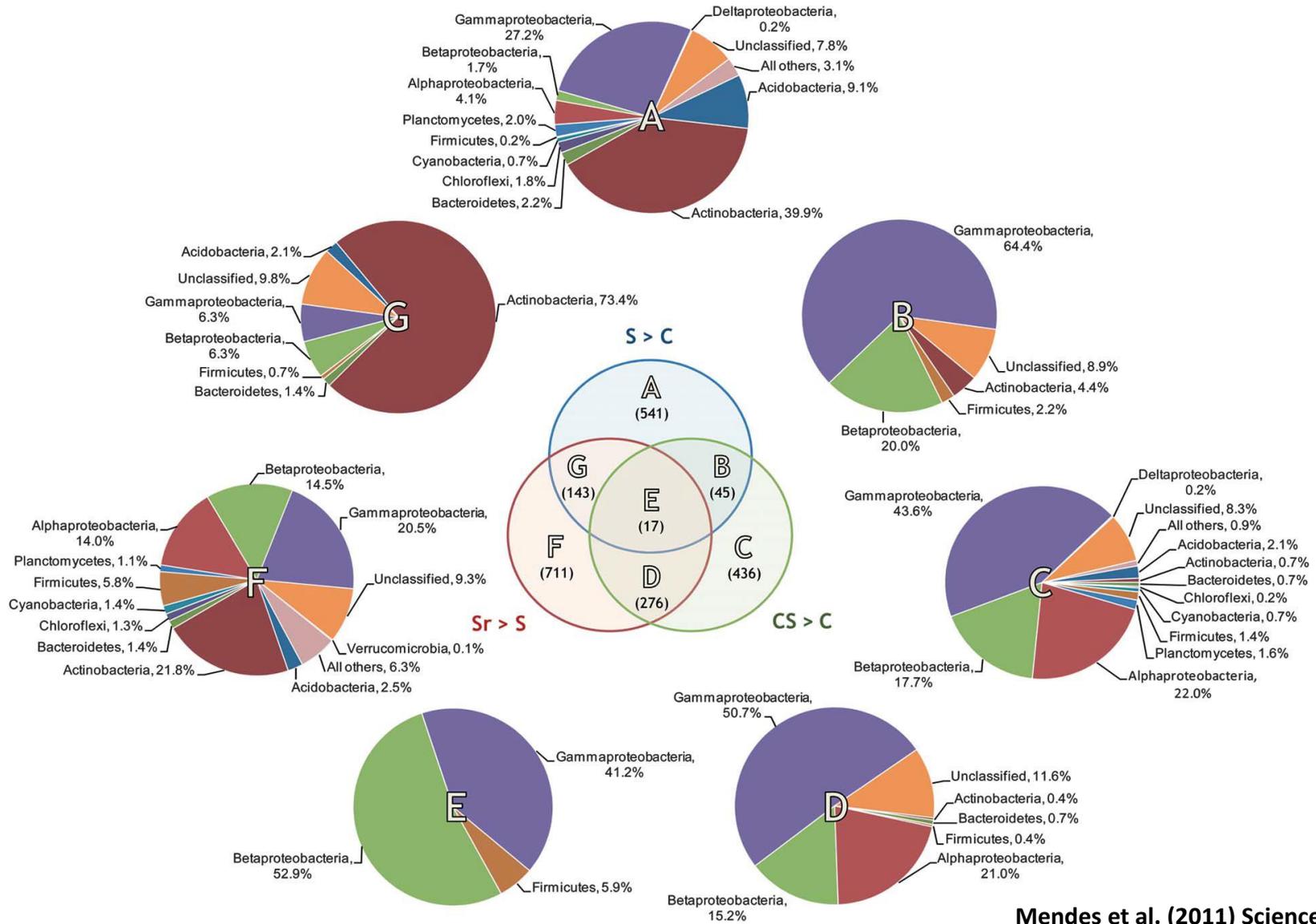


B



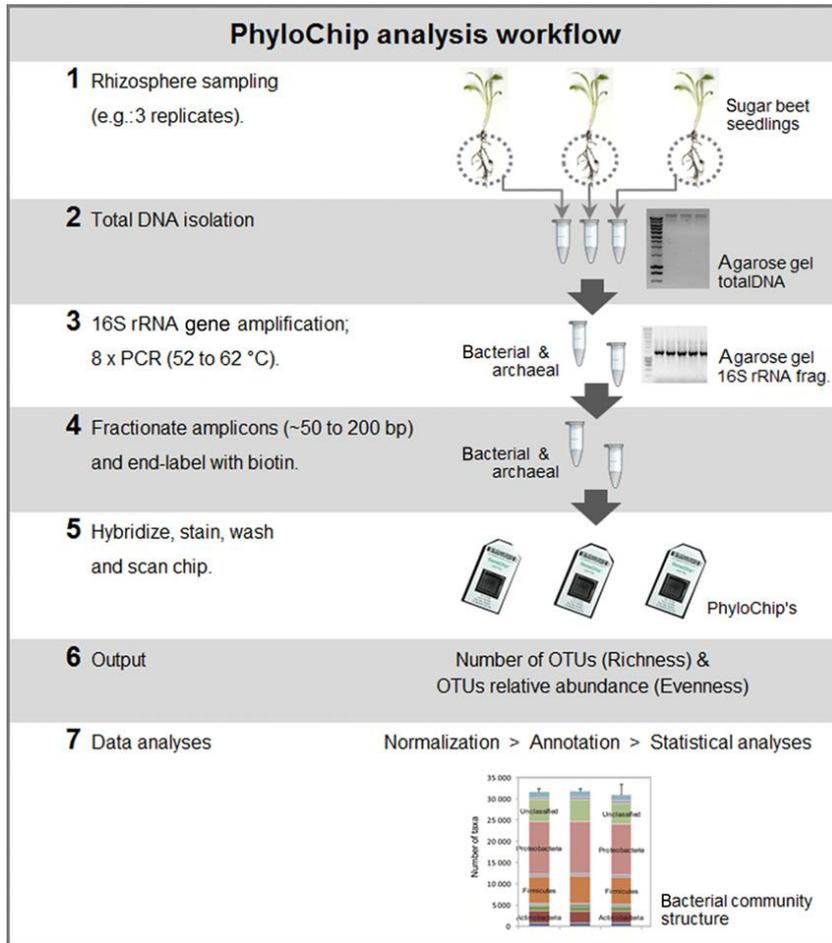
S = Solo Supressivo  
C = Solo com *Rhizoctonia solani*  
CS = C + 10% Solo Supressivo  
S50 = S + 50°C  
S80 = S + 80°C

# Desvendando o Microbioma da Rizosfera em Solo Agrícola



# A Meta-ômica em Estudos da Microbiota

## Composição da Microbiota



## Processos Funcionais

Grupo de Processos funcionais	Processo funcional	Nº famílias de genes <sup>a</sup>	Nº sondas de genes <sup>b</sup>	
Ciclo do Carbono	Degradação de Carbono	33	9033	
	Fixação de Carbono	5	1762	
	Oxidação de Metano	2	240	
	Produção Metano	1	267	
Ciclo do Enxofre	Oxidação de Enxofre	1	468	
	Redução N dissim	5	2786	
Ciclo do Fósforo	Utilização de Fósforo	3	1378	
Ciclo do Nitrogênio	Amonificação	2	999	
	Anammox	1	49	
	Desnitrificação	5	2654	
	Fixação de Nitrogênio	1	1224	
	Nitrificação	2	1443	
	Redução N assim	4	533	
	Redução N dissim	2	650	
	Degradação de compostos orgânicos		184	17919
	Estresse		45	21574
	Genes de bacteriófagos		40	1100
Marcador filogenético gyrB		1	2390	
Processos energéticos		4	862	
Resistência a antibióticos		11	3349	
Resistência a metais		44	9478	
Virulência		13	3732	



<sup>a</sup> cada família de genes reúne genes com o mesmo nome e codificam a mesma classe de proteínas.

<sup>b</sup> cada sequência de gene presente na lâmina do Geochip.

167,044 sondas distintas  
 Cobertura de 395,894 genes de 1500 famílias gênicas

---

- **Considerações Iniciais**

  - Produção e Produtividade

  - Conservação e Sustentabilidade

  - Intensificação das Práticas Conservacionistas

- **Produtividade e Sustentabilidade Agrícola**

  - Melhoramento e produção vegetal sob novo enfoque

  - Manejo agrícola: biodiversidade e qualidade do solo

- **Considerações Finais**

## Desafios

### Novos parâmetros de seleção

- Sistema radicular, área foliar e arquitetura da planta/raiz
- Maximização do potencial biológico dos micro-organismos
- Tolerância a fatores do solo (<P, >Al, <pH, >salinidade)
- Tolerância a fatores de estresses ambientais (temperatura, seca)

### Redução dos atuais impactos ambientais

- Melhoria da eficiência no uso de nutrientes e nutrição balanceada na cultura
- Manejo integrado da cultura em uma agricultura sustentável com uso de fontes alternativas de nutrientes incluindo sistemas biológicos
- Aproveitamento de biomassas e resíduos vegetais para reciclagem dos nutrientes exportados e produção de energia renovável

# **PERSPECTIVAS**

**O Maior Desafio:**

***O FOCO MULTIDISCIPLINAR***

***DA INTERAÇÃO PLANTA-MICROORGANISMOS***

## COLABORADORES

- ✓ APTA-IAC: Alisson Chiorato, Sérgio Carbonell
- ✓ ESALQ-USP: Maria Lúcia Carneiro, Luiz E. Camargo
- ✓ EMBRAPA-CNPq: Michael Thung, Rosana Brondani
- ✓ UC-Davis: Paul Gepts, Maeli Melotto, Jorge Rodrigues
- ✓ University of Missouri: Jay Thelen

### CENA/USP

Fabiana Cannavan, Acácio Navarrete, Lucas Mendes, Danielle Caldas, Gustavo Recchia, Enéas Konzen, Ana Zakir Pereira, Clovis Borges, Beatriz Ferreira, Lucas Palman, Marina Dellias, Caio Yoshiura, Fernanda Nakamura, Andressa Venturini, Marcela Arnaldo, Aline França, Marília Reichert

