

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS DE SOLO AGRÍCOLA SUBMETIDO A APLICAÇÃO DE AGROMINERAIS COMO FONTES ALTERNATIVAS DE NUTRIENTES PARA AS PLANTAS

BIOPROSPECTION OF BACTERIA FROM AGRICULTURAL SOIL SUBMITTED TO THE APPLICATION OF AGROMINERAL AS ALTERNATIVE SOURCES OF NUTRIENTS FOR PLANTS

Gabriela Martins Silva

Aluna de Graduação da Engenharia Química, 3º período
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Período PIBIC: novembro de 2021 até julho de 2022

Claudia Duarte da Cunha

Orientadora, Engenheira Química, D. Sc.

Sandy Sampaio Videira

Co-orientadora, Engenheira Agrônoma, D. Sc.

RESUMO

Os latentes debates acerca da considerável dependência nacional por fertilizantes agrícolas oriundos da exportação, além das atuais progressivas discussões no que tange à indispensabilidade de aumentar os investimentos em propostas de cunho ambiental, têm orientado as pesquisas científicas em direção à formulação de projetos de inovação que visam aprimorar produtos e processos empregados na produção rural, sobretudo em prol de um agronegócio mais sustentável. Ante a esse fato, o presente trabalho visa identificar, mediante análise metagenômica, a interferência de remineralizadores no microbioma do solo, de modo a permitir a avaliação do impacto da aplicação deste insumo na comunidade microbiana em sistemas de cultivo. As amostras de solo utilizadas neste trabalho foram obtidas de ensaios conduzidos em casa de vegetação no ano de 2021. A partir destas amostras, foram realizadas as extrações de material genético das comunidades microbianas e em seguida, empregou-se a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do gene 16S rDNA, indicado para identificação de bactérias. Posteriormente, foi realizada a eletroforese em gel de agarose para verificar os produtos e sua purificação. Após a finalização das etapas supracitadas, as amostras serão submetidas ao sequenciamento de nova geração a fim de identificar com maior especificidade as comunidades bacterianas envolvidas em bioprocessos de solubilização dos remineralizadores. Até o presente momento foram realizadas as etapas de extração de DNA, amplificação por PCR e purificação de todas as 140 amostras utilizadas neste trabalho. As técnicas de biologia molecular utilizadas foram realizadas com sucesso, uma vez que foi possível obter produtos de PCR de tamanho esperado para o gene 16S rDNA.

Palavras-chave: Remineralizadores; comunidade bacteriana; agricultura sustentável.

ABSTRACT

The latent debates about the considerable national dependence on agricultural fertilizers from exports, in addition to the current progressive discussions regarding the indispensability of increasing investments in environmental proposals, have guided scientific research towards the formulation of innovation projects aimed at improve products and processes used in rural production, especially in favor of a more sustainable agribusiness. In view of this fact, the present work aims to identify, through metagenomic analysis, the interference of remineralizers in the soil microbiome, in order to allow the evaluation of the impact of the application of this input on the microbial community in cultivation systems. The soil samples used in this work were obtained from trials conducted in a greenhouse in the year 2021. From these samples,

extractions of genetic material from the microbial communities were performed, and then the polymerase chain reaction (PCR) technique was used to amplify the 16S rDNA gene, indicated for bacteria identification. Afterwards, agarose gel electrophoresis was performed to verify the products and their purification. After completion of the aforementioned steps, the samples will be submitted to next-generation sequencing in order to identify with greater specificity the bacterial communities involved in remineralizer solubilization bioprocesses. To date, DNA extraction, PCR amplification, and purification have been performed for all 140 samples used in this work. The molecular biology techniques used were performed successfully, since it was possible to obtain PCR products of the expected size for the 16S rDNA gene.

Keywords: Remineralizers; bacterial community; sustainable agriculture

1. INTRODUÇÃO

Apesar do uso de rochas moídas (pó-de-rocha) no solo ser uma prática bastante antiga na agricultura, a aplicação desses materiais tem ganhado maior visibilidade nos últimos anos, uma vez que a busca por recursos nacionalmente disponíveis tem sido intensificada a fim de diminuir a dependência externa de nutrientes minerais e o uso intenso de energia fóssil, bem como proporcionar harmonização do setor agrícola com os princípios de uma agricultura mais sustentável, uma vez que os fertilizantes convencionais (de alta solubilidade) têm provocado danos irreversíveis aos ambientes. Desta forma, no intuito de aumentar a sustentabilidade agrícola, muitos grupos de pesquisa iniciaram a busca por fontes alternativas de nutrientes que pudessem ser de fácil aquisição e energeticamente menos dispendiosas (THEODORO & LEONARDOS, 2006; SWOBODA, et al., 2022).

Após muita discussão e análise de resultados experimentais, a comunidade científica definiu um novo tipo de insumo agrícola, os remineralizadores de solos (chamados anteriormente de agrominerais). Este insumo é formado por algumas rochas silicatadas, que contem em sua composição elementos essenciais e benéficos para as plantas como, por exemplo, Ca, Mg, K, P, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Ni, Se, Si. Theodoro e Leonardos (2006) concluíram que o uso destes remineralizadores proporcionou produções de milho, arroz, mandioca, cana-de-açúcar equiparáveis àquelas produzidas com adubação convencional. Além disso, o uso destes remineralizadores promoveu melhoria significativa da fertilidade do solo. Ribeiro et al. (2010) avaliaram, em vasos, o efeito da aplicação de pó de rochas silicáticas ultramáfica alcalina, rocha piroclástica e flogopitito sobre um Latossolo Amarelo distrófico, pobre em K. Eles observaram que algumas rochas se mostraram promissoras como fontes alternativas de K, liberaram P para o sistema e elevaram o pH do solo em determinadas condições.

Embora muitos trabalhos comprovem o potencial agrônômico dos remineralizadores para a melhoria das características físico-químicas do solo e produção vegetal, muitas questões ainda precisam ser compreendidas como, por exemplo, o impacto da aplicação destes insumos na comunidade microbiana dos solos. Perante o exposto, é importante avaliar a influência dos remineralizadores nas comunidades microbianas existentes nos solos com aplicação destes insumos; e identificar microrganismos que estejam envolvidos nos bioprocessos que podem facilitar a disponibilização de nutrientes às plantas. Isto geraria uma alternativa de reduzido impacto ambiental que, em razão disso, poderia ser futuramente empregada no setor agrícola nacional como uma alternativa mais barata e sustentável (SWOBODA, et al., 2022).

2. OBJETIVOS

Realizar a extração de DNA e a amplificação, por PCR, do gene rrs ou 16S rRNA de amostras de solo após aplicação de diferentes remineralizadores.

3. METODOLOGIA

As amostras utilizadas nesse trabalho foram obtidas de um experimento conduzido em casa de vegetação utilizando solo oriundo do campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Foram usados 5 tratamentos incluindo um tratamento não fertilizado (controle), fertilizado com Amostra 3 (resíduo mineral), fertilizado com Amostra 8 (resíduo mineral) e fertilizado com resíduos da moagem de amazonita e fertilizado com Kamafugito, remineralizador registrado no MAPA, totalizando 80 unidades experimentais. Nesses solos suplementados com os pós-de-rocha foi cultivada crotalária, seguida de sorgo. A figura 1 mostra as etapas do experimento. Amostras de solo foram coletadas ao longo do cultivo destas plantas e armazenadas para realização das análises químicas (fertilidade) e microbiológicas (moleculares). As amostras foram coletadas em quadruplicata para realização de análises estatísticas. O DNA total foi extraído de 0,5 gramas de cada amostra de solo usando o kit FastDNA® Spin (MP Biomedicals, Solon, OH, USA), de acordo com as instruções do fabricante. A composição da comunidade bacteriana está sendo determinada pelo sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA com o par de iniciadores 806R/515F descritos por Caporaso et al., (2012).



Figura 1: Fluxograma do ensaio experimental conduzido em casa de vegetação com os diferentes pós-de-rocha.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final dos 245 dias de experimento foram obtidas 140 amostras de solo, coletadas em 5 etapas distintas do crescimento das plantas. Estas amostras foram utilizadas para as etapas subsequentes de extração de DNA, reação de PCR para amplificação do gene 16S rRNA e purificação destes produtos para serem utilizados no sequenciamento. A figura 2 mostra um gel de agarose com produtos de PCR de amostras representativas no tamanho de aproximadamente 300 pares de base, conforme esperado.

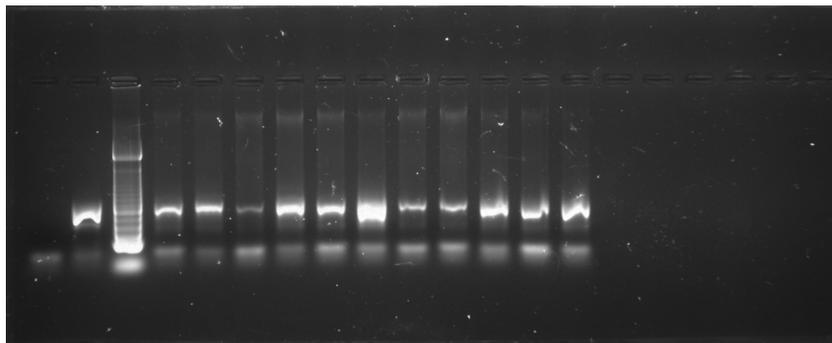


Figura 2: Gel de agarose com produtos de PCR referentes à amplificação do gene 16S rDNA.

5. CONCLUSÕES

O trabalho ainda se encontra em andamento, mas até o presente momento, é possível concluir que todas as técnicas empregadas foram bem executadas, uma vez que foram obtidos produtos de PCR de tamanho esperado. Sob esse prisma, espera-se que as etapas de purificação sejam igualmente eficientes com o fito de obter materiais satisfatórios para a realização do sequenciamento.

6. AGRADECIMENTOS

A autora agradece, primeiramente, ao CNPq por conceder a bolsa de iniciação científica; ao CETEM por disponibilizar infraestrutura e material suficientes e adequados para a realização dos experimentos laboratoriais e para as pesquisas e confecção de trabalhos textuais. Especial agradecimento também às Dras. Cláudia Cunha (CETEM - orientadora do projeto) e Sandy Videira (CETEM - co-orientadora do projeto) por todo o auxílio e ensinamentos fornecidos no transcorrer do projeto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPORASO J.G., LAUBER C.L., WALTERS W.A., et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the IlluminaHiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*.v.6, n.8, p.1621-1624, 2012.

THEODORO, S.H., LEONARDOS, O.H. The use of rocks to improve family agriculture in Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 78, n.4, p.721-730, 2006.

RIBEIRO, L. da S.; SANTOS, A. R. dos; SOUZA, L. F. da S., SOUZA, J. S. Rochas silicáticas portadoras de potássio como fontes do nutriente para as plantas solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, n. 3, p.891-897, 2010.

SWOBODA, Philipp; DÖRING, Thomas; HAMER, Martin. Remineralizing soils? The agricultural usage of silicate rock powders: A review. *Science of the Total Environment*, [s. l.], v. 807, 10 fev. 2022. Disponível em: www.elsevier.com/locate/scitotenv. Acesso em: 21 jul. 2022.