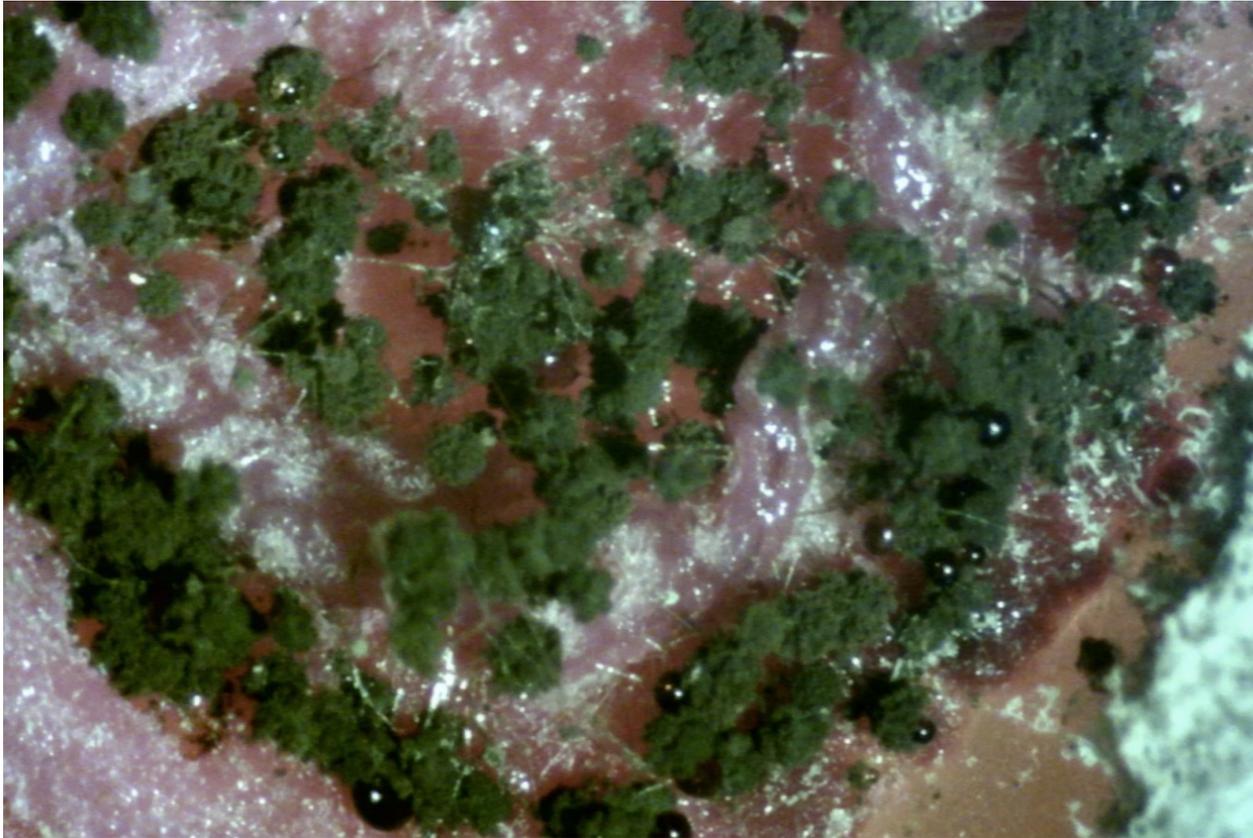


A MAIORIA INVISÍVEL QUE NOS GOVERNA!

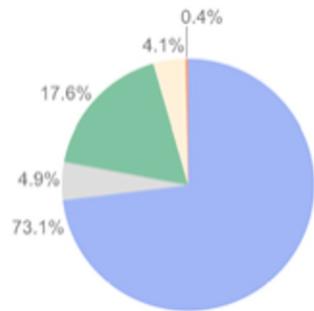
CRISTINA MARIA NOBRE SOBRAL DE VILHENA DA CRUZ HOUGHTON

UMA MAIORIA DESCONHECIDA



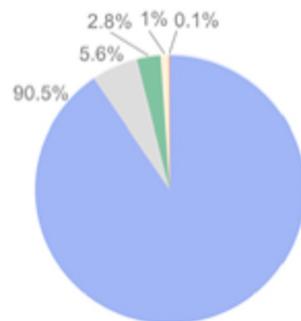
Os microrganismos são a maioria invisível na Terra e compreendem uma grande parte da diversidade genética da vida.

A MAIORIA INVISÍVEL ...



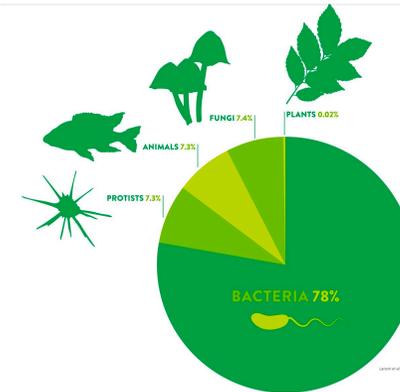
Wilson

1992



Mora et al.

2011



Larsen et al.

2017

% do total de espécies conhecidas

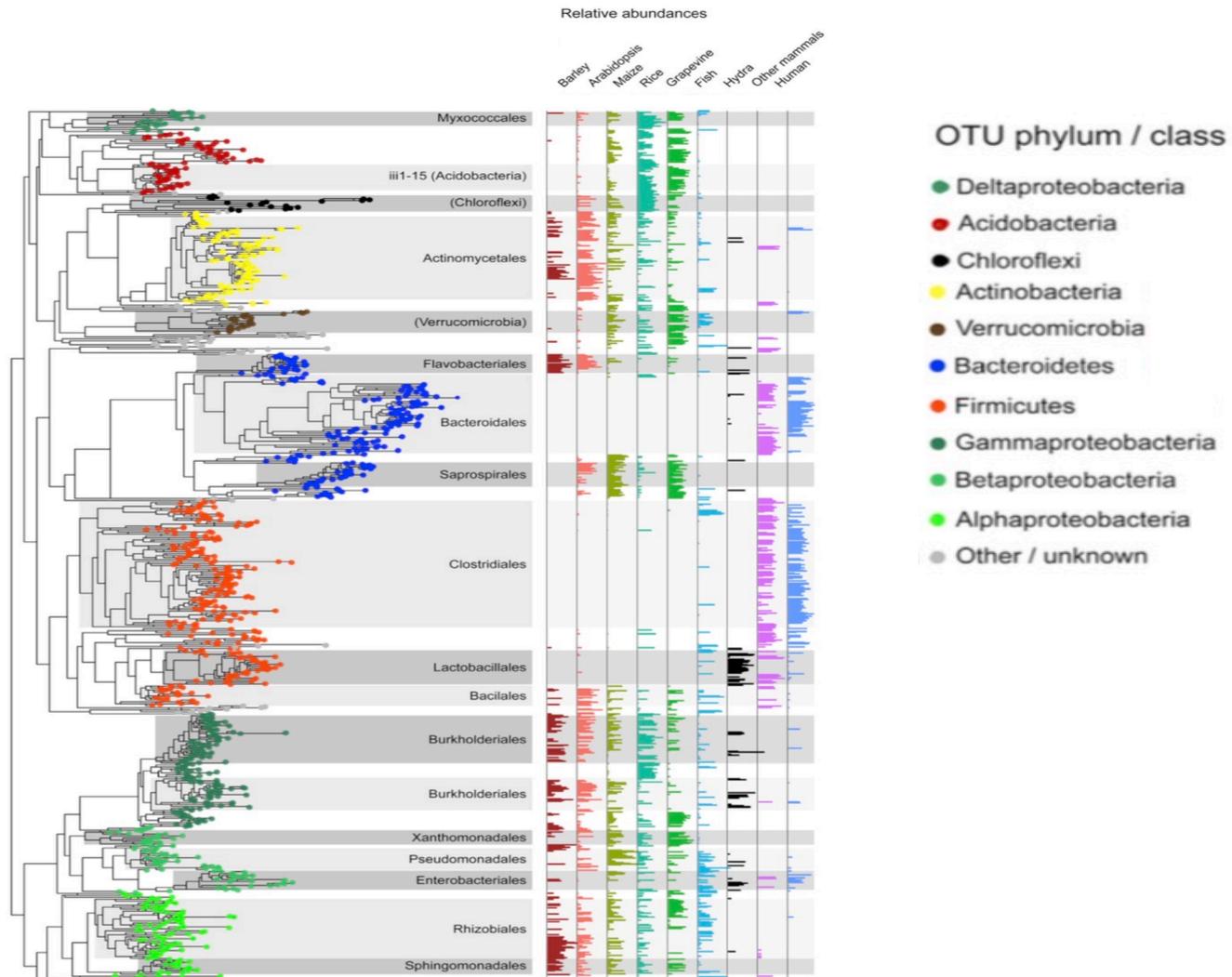
- Animals
- Fungi
- Plants
- Protists
- Bacteria

A MAIORIA INVISÍVEL QUE ESTÁ EM TODA A PARTE



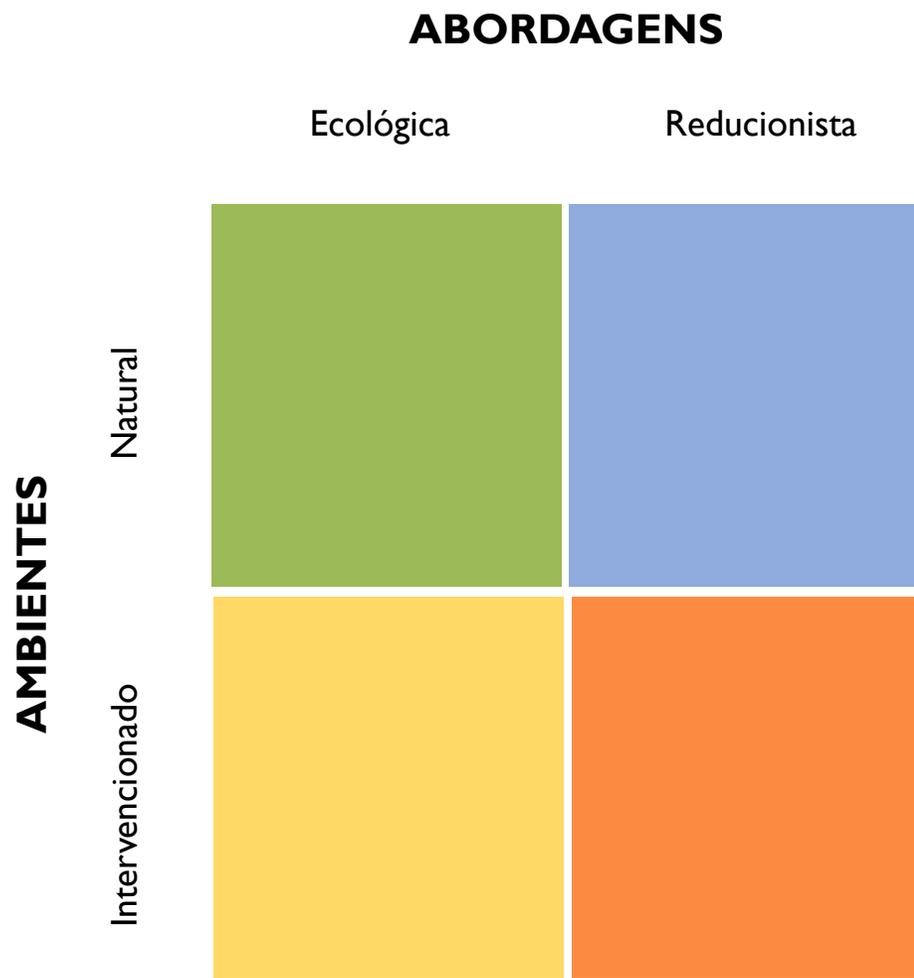
Os microrganismos encontram-se em toda a parte e colonizam todas as superfícies.

UMA MAIORIA ORGANIZADA



Schulze et al, 2015

Os microrganismos formam comunidades diversas e complexas - os **microbiomas**.



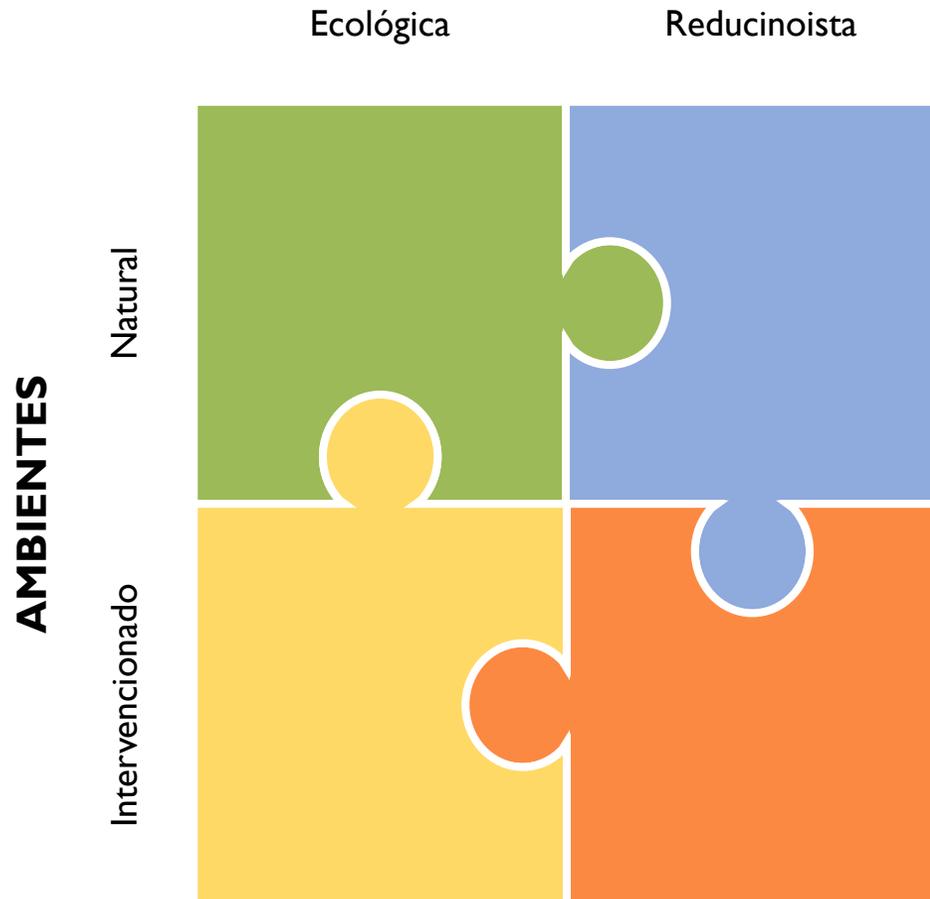
O conhecimento da estrutura e função dos microbiomas é essencial para o conhecimento da vida e da ecologia



instrumental para

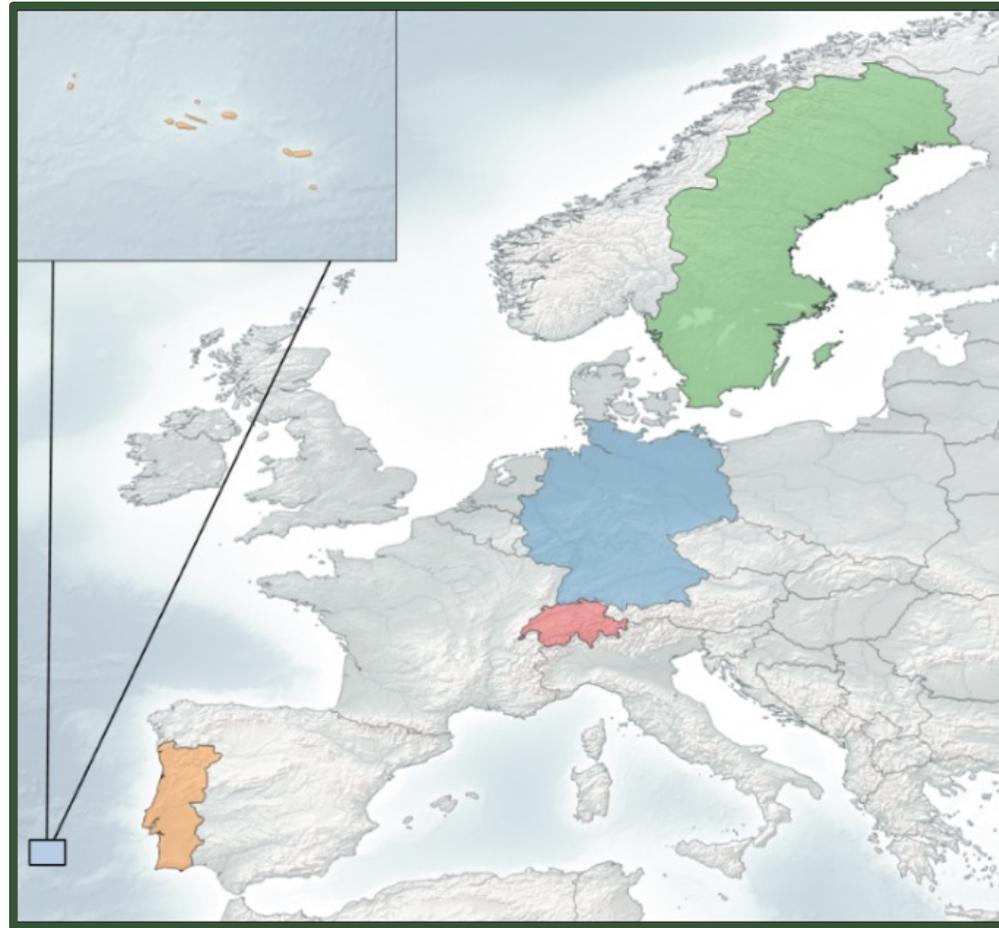
- SDG (ONU)
- Green Deal (UE)

ABORDAGENS



O conhecimento dos microbiomas requer a integração de abordagens ecológicas e reducionistas em ambientes naturais e intervencionados.

O MICROBIOMA DO SOLO | DIVERSIDADE



Fox et al, 2020. *Soil Biol Biochem.*

O MICROBIOMA DO SOLO | DIVERSIDADE

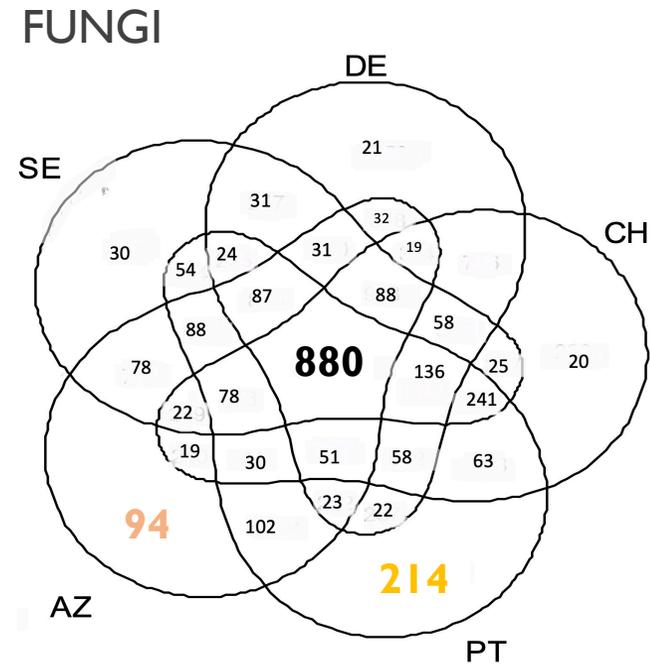
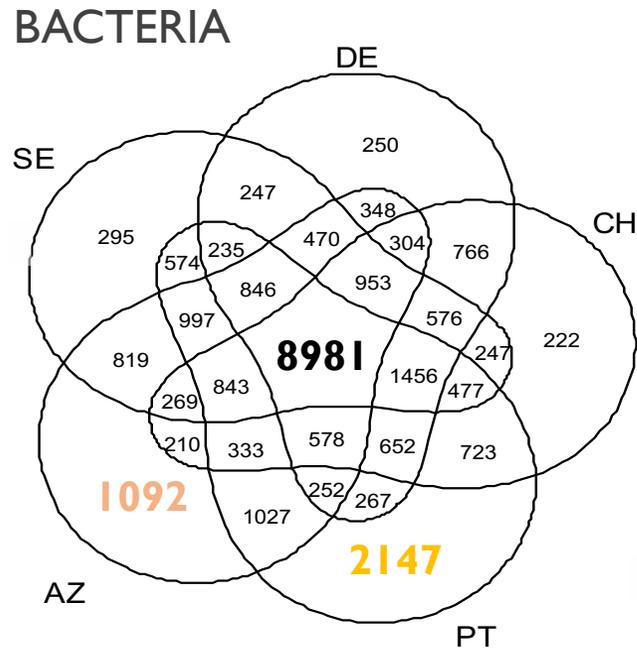
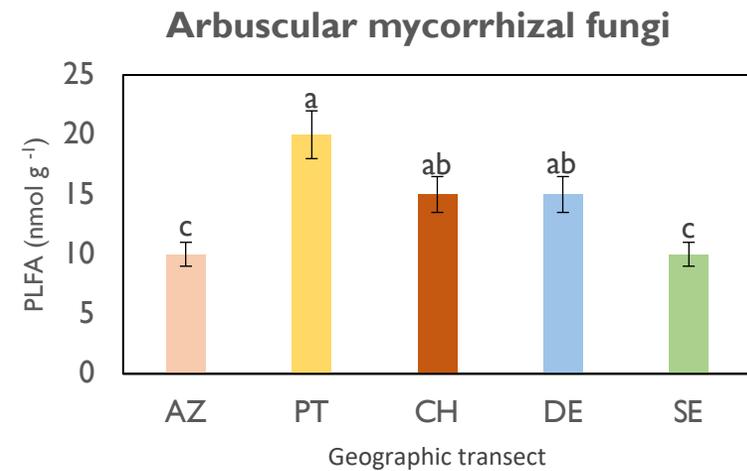
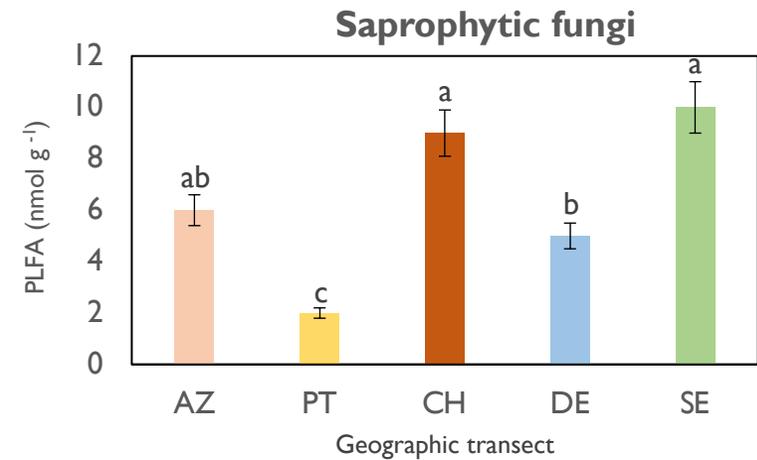
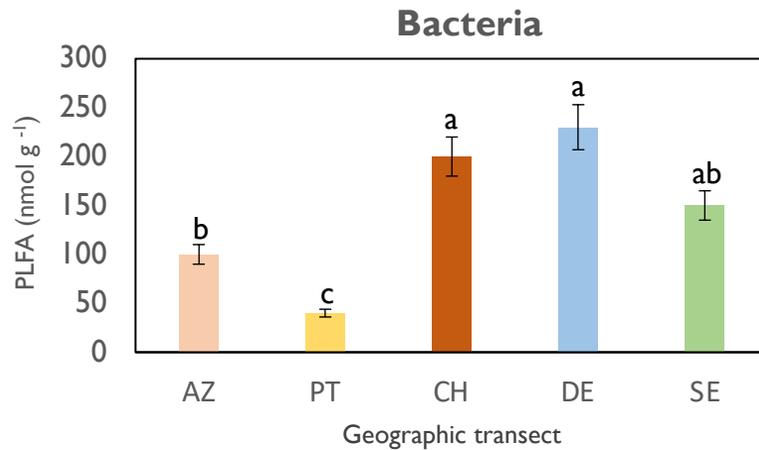


Diagrama de Venn com as OTUs bacterianas e fúngicas únicas e compartilhadas pelas amostras do transeito BIOINVENT. Solo de pastagens permanentes (348 locais). Análise de sequenciação Illumina Miseq baseada em amplicões conduzida no gene de 16S rRNA bacteriano e na região ITS para fungos. Foi construída uma tabela para OTUs.

Fox et al, 2020. Soil Biol Biochem.

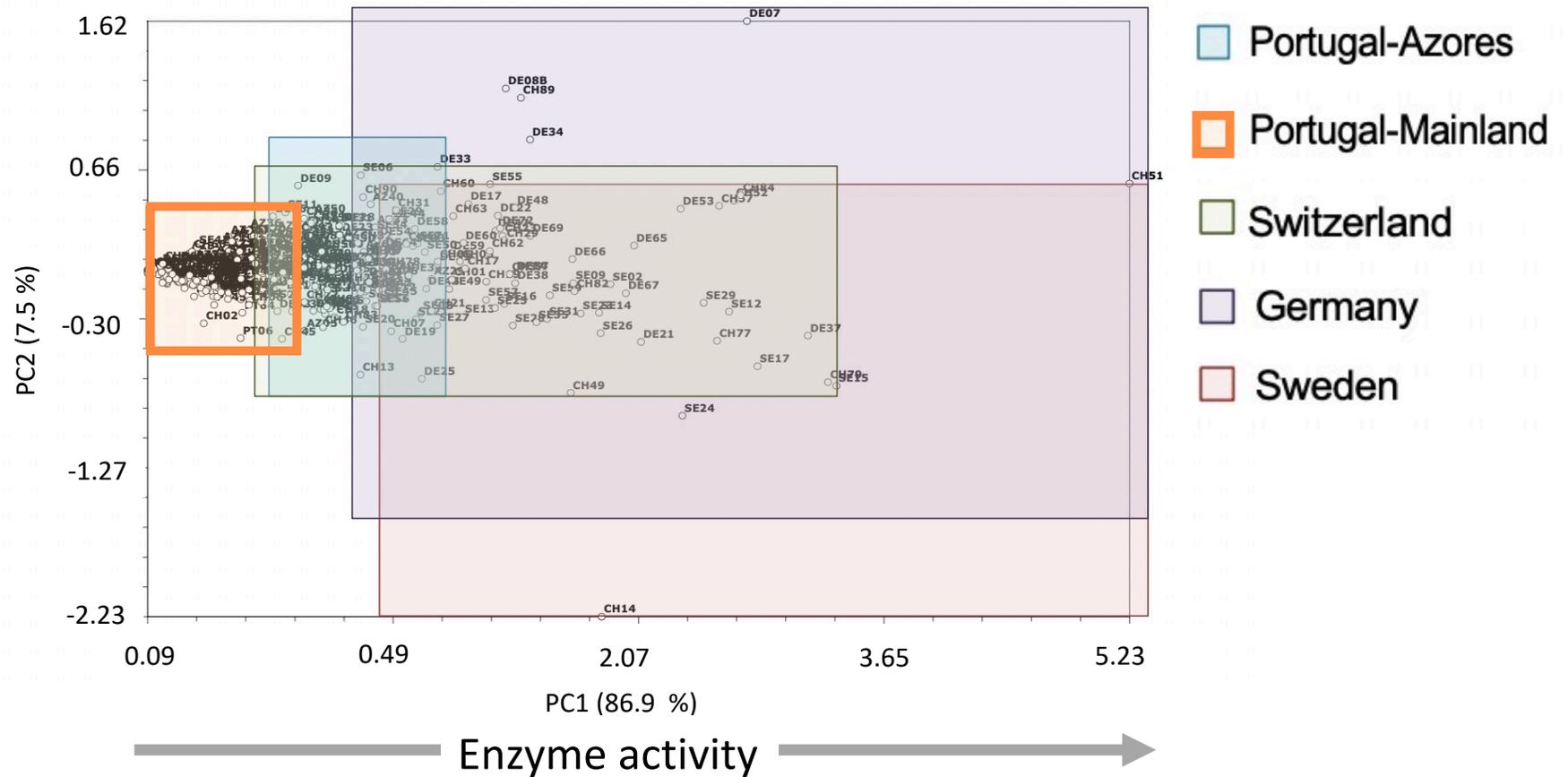
O MICROBIOMA DO SOLO | BIOMASSA



Determinações de PLFA.
18:2 ω 6 - indicador de fungos saprofíticos,
16:1 ω 5 indicador de AMF.
Diferentes letras indicam significância a 5%. As barras representam a
média \pm o erro padrão (n = 3).

Adapted from Barreiro et al, 2020. *Soil Biol Biochem.*

O MICROBIOMA DO SOLO | RELAÇÃO ESTRUTURA FUNÇÃO



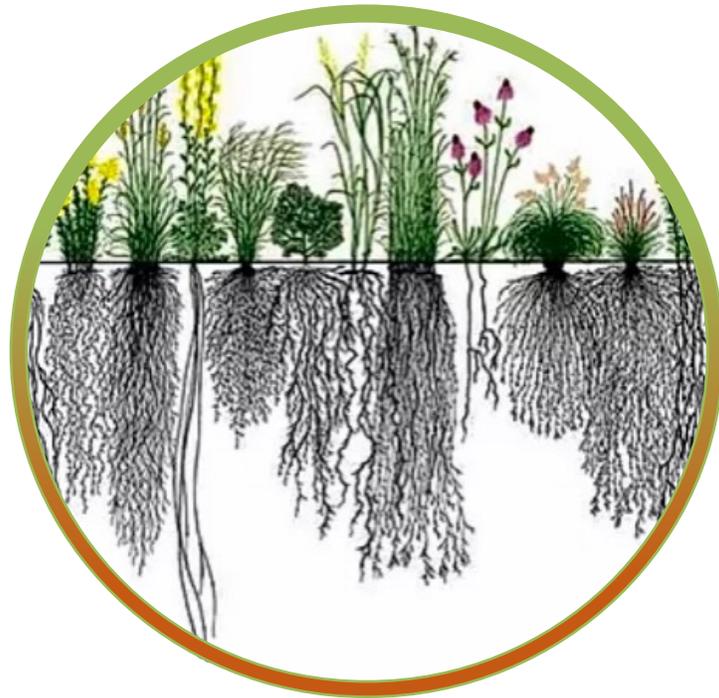
Análise exploratória dos resultados das atividades das enzimas extracelulares do solo (β -xylosidase, cellobiohidrolase, N-acetylglucosaminidase and β -glucosidase) com base em PCA (348 locais).

Melo et al, unpublished data

O MICROBIOMA DO SOLO | A RELEVÂNCIA DOS AMF



Estrutura | Função



Estrutura | Função

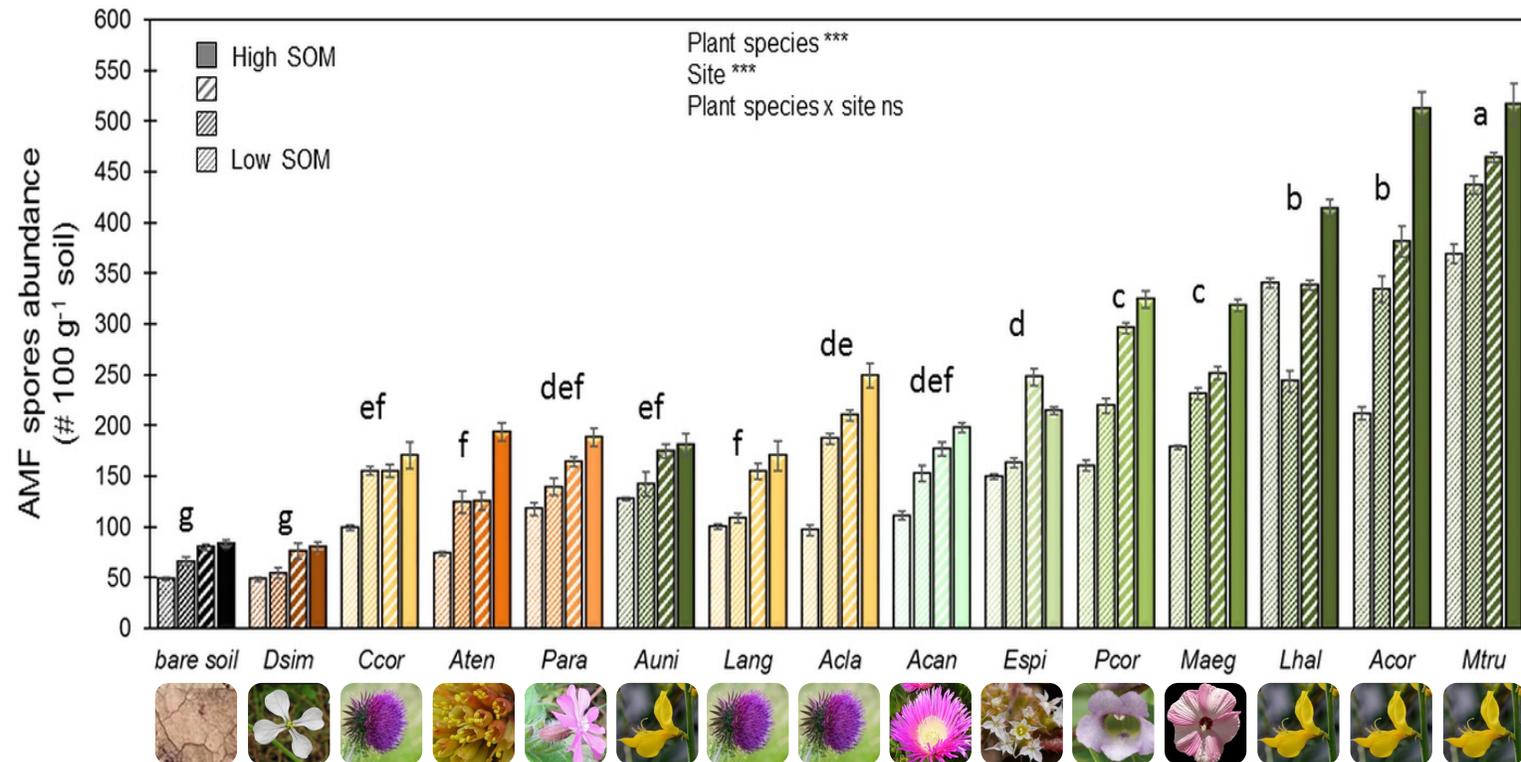
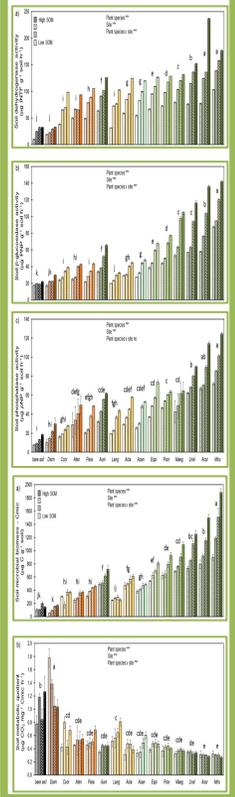
AMF

SOLOS

- Pouco férteis
- Pobres em matéria orgânica
- Muito sujeitos à erosão



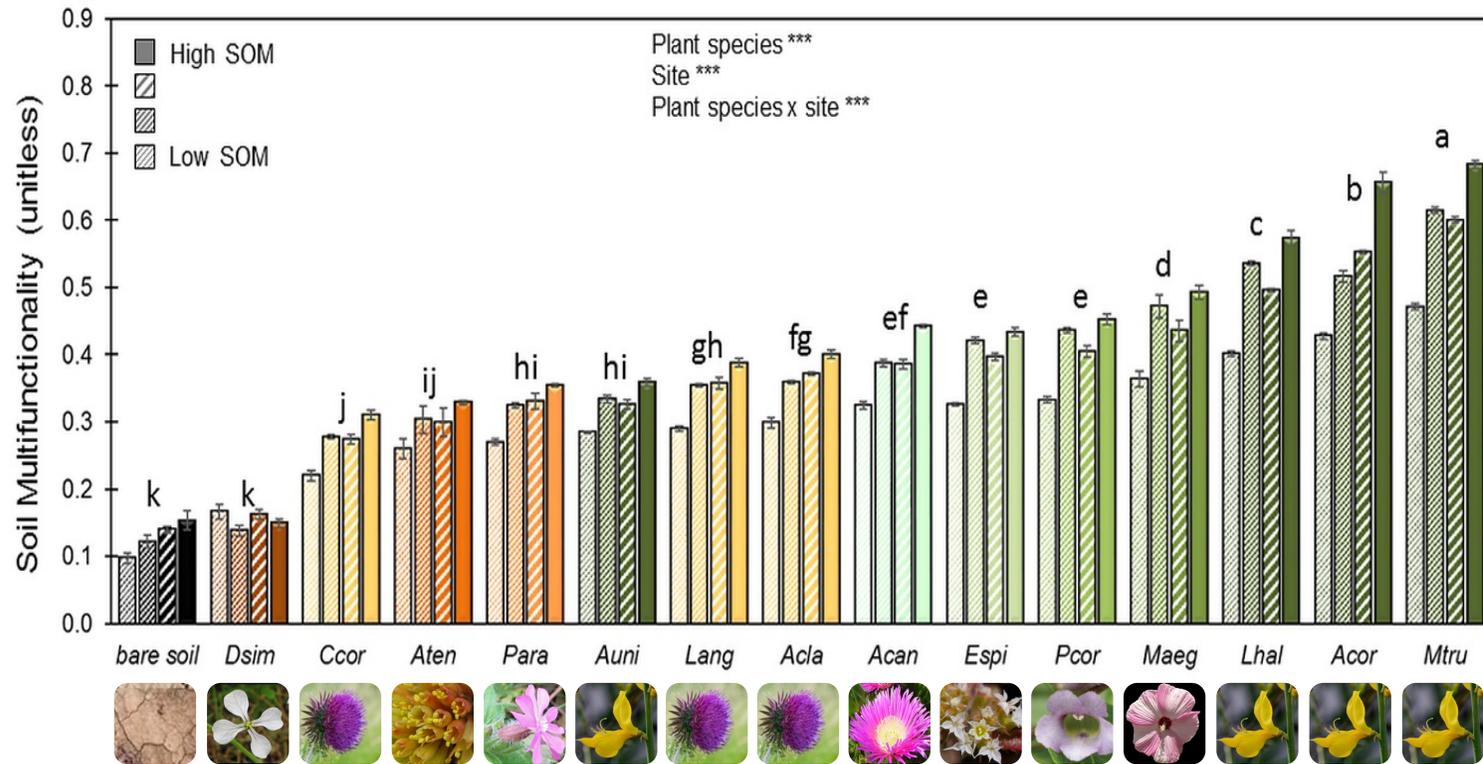
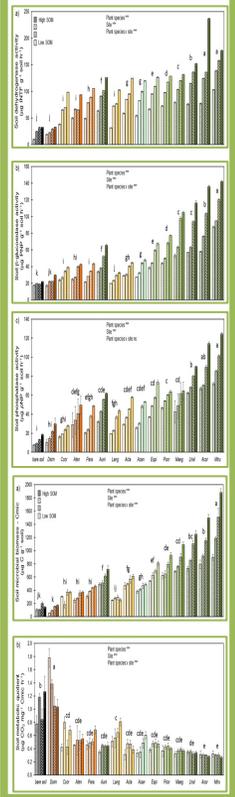
O MICROBIOMA DO SOLO | A RELEVÂNCIA DOS AMF EM ECOSISTEMAS MEDITERRÂNICOS



Abundância de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (AMF). *** significante a 0,01%. Diferentes letras indicam significância a 5%. As barras representam a media \pm o erro padrão (n = 3).

Mahmoudi et al, under review. Biol Fert Soils.

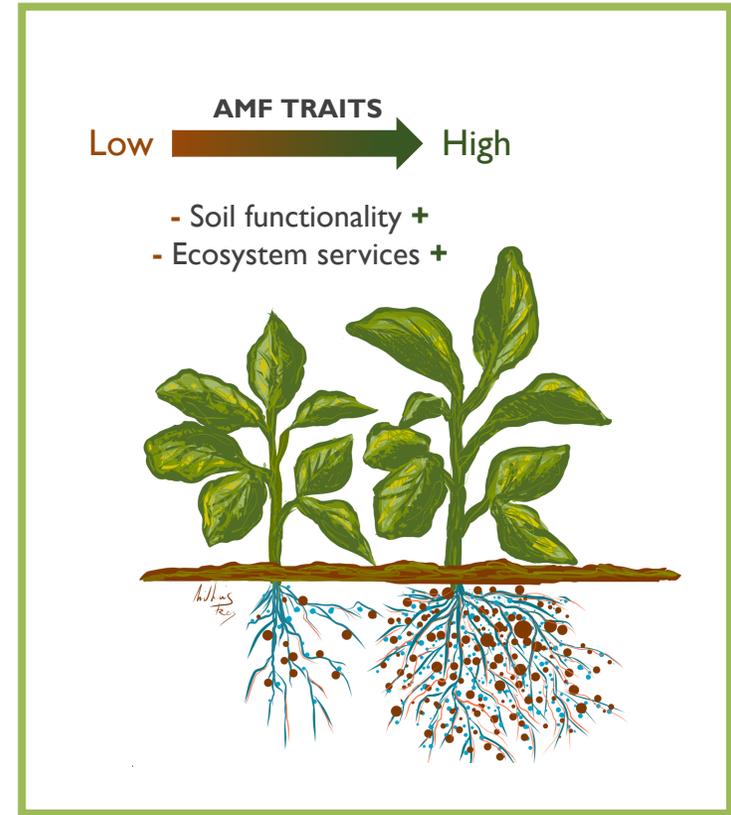
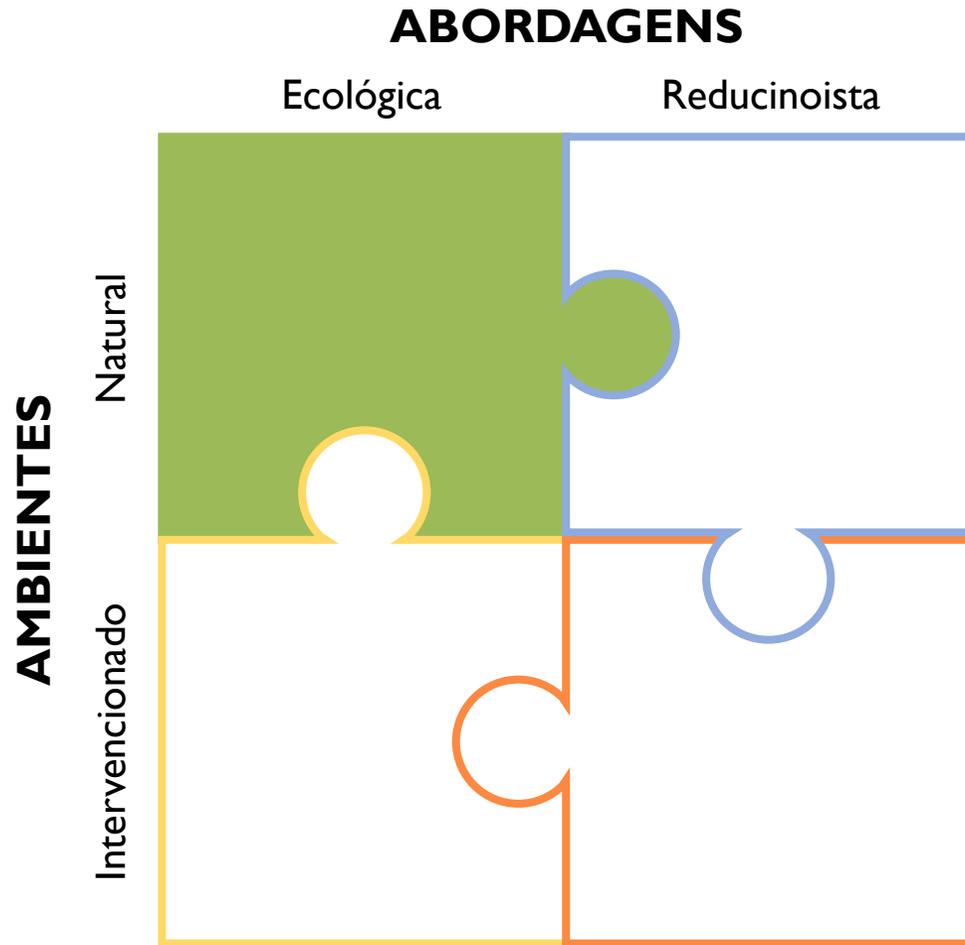
O MICROBIOMA DO SOLO | A RELEVÂNCIA DOS AMF EM ECOSISTEMAS MEDITERRÂNICOS



Multifuncionalidade dos solos. *** significante a 0,01%. Diferentes letras indicam significância a 5%.
 As barras representam a média ± o erro padrão (n = 3).

Mahmoudi et al, under review. Biol Fert Soils.

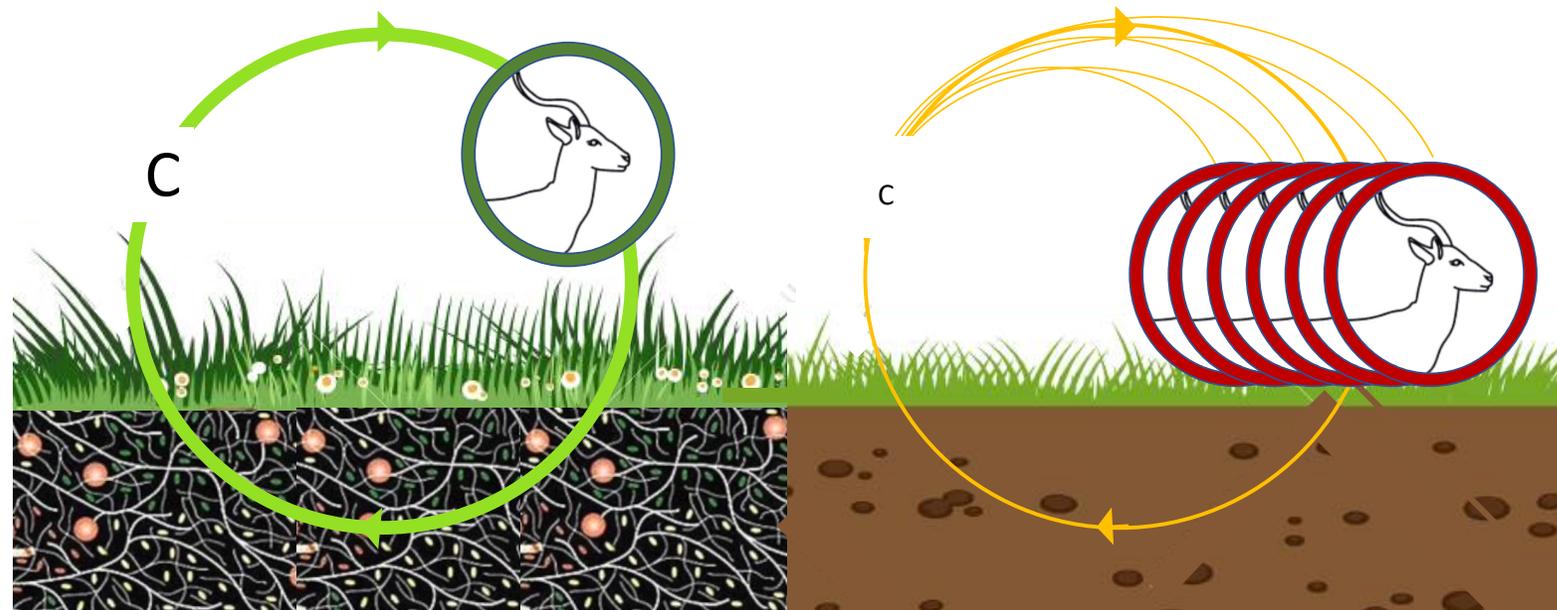
O MICROBIOMA DO SOLO | A RELEVÂNCIA DO COBERTO VEGETAL EM ECOSISTEMAS MEDITERRÂNICOS



O MICROBIOMA DO SOLO | A RELEVÂNCIA DO COBERTO VEGETAL EM ECOSISTEMAS MEDITERRÂNICOS



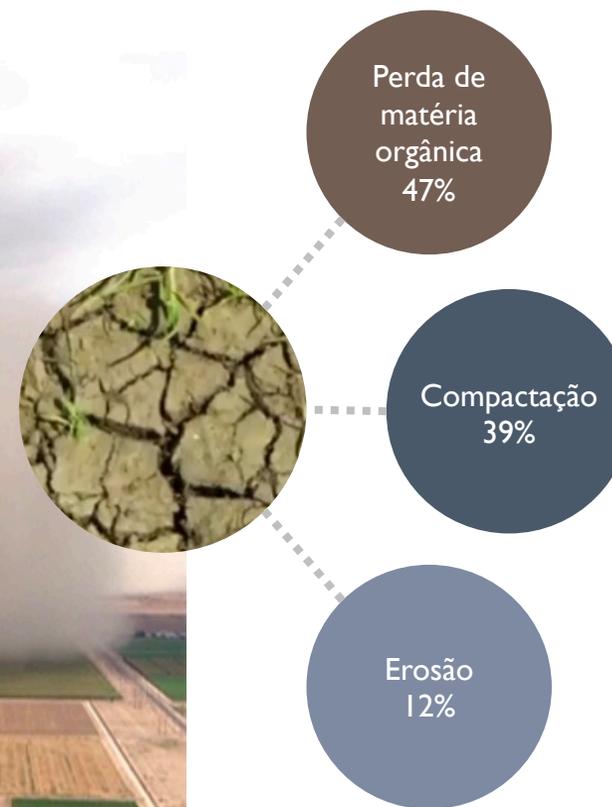
Em sistemas de baixa fertilidade, micorriza e herbívoros competem por fotossintetizados



Mahmoudi, et al 2020. Diversity.



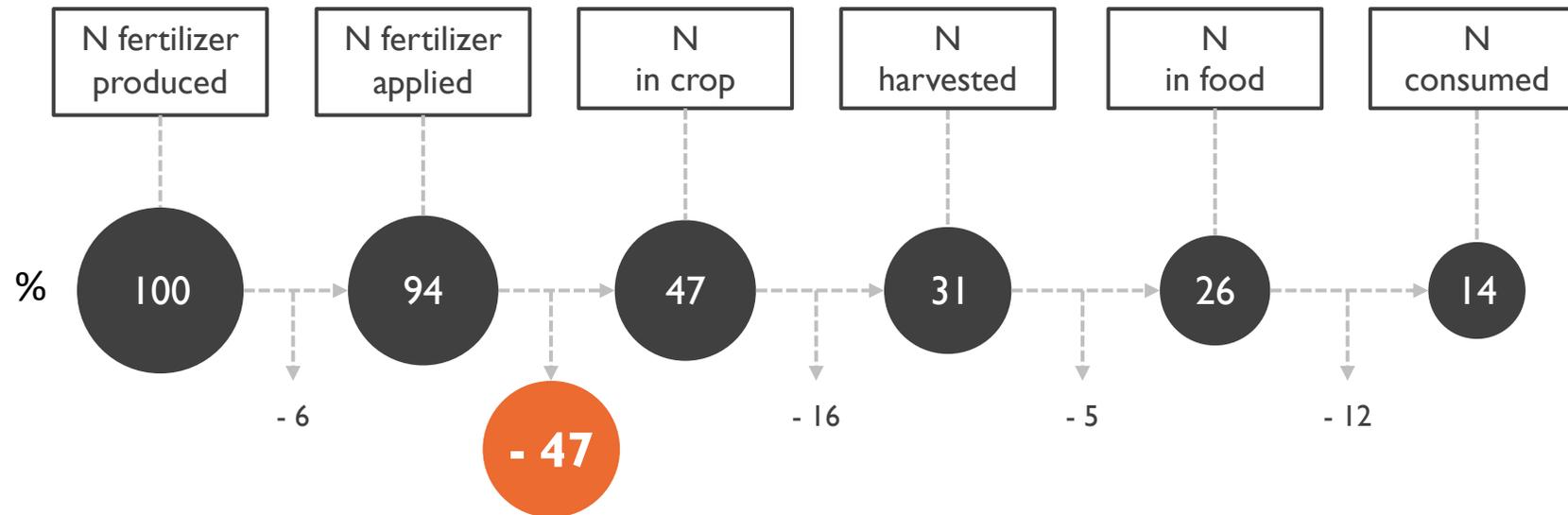
DEGRADAÇÃO DO SOLO



O custo anual da degradação do solo na Europa é de 15 bilhões €

Graves, 2019. Nat Res.

O AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES CAUSADO PELA AGRICULTURA



Marschner, 2013

IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N



Dias et al., 2014. Plos One.



C. ladanifer

Parque natural da Arrábida (Natura 2000)

- 90 Espécies de plantas vasculares nas parcelas
- 0,1 % N
- 2 % C
- 7 ppm P
- 4 kg N/ha/ano Deposição ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$)

IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N



Dias et al., 2014. Plos One.

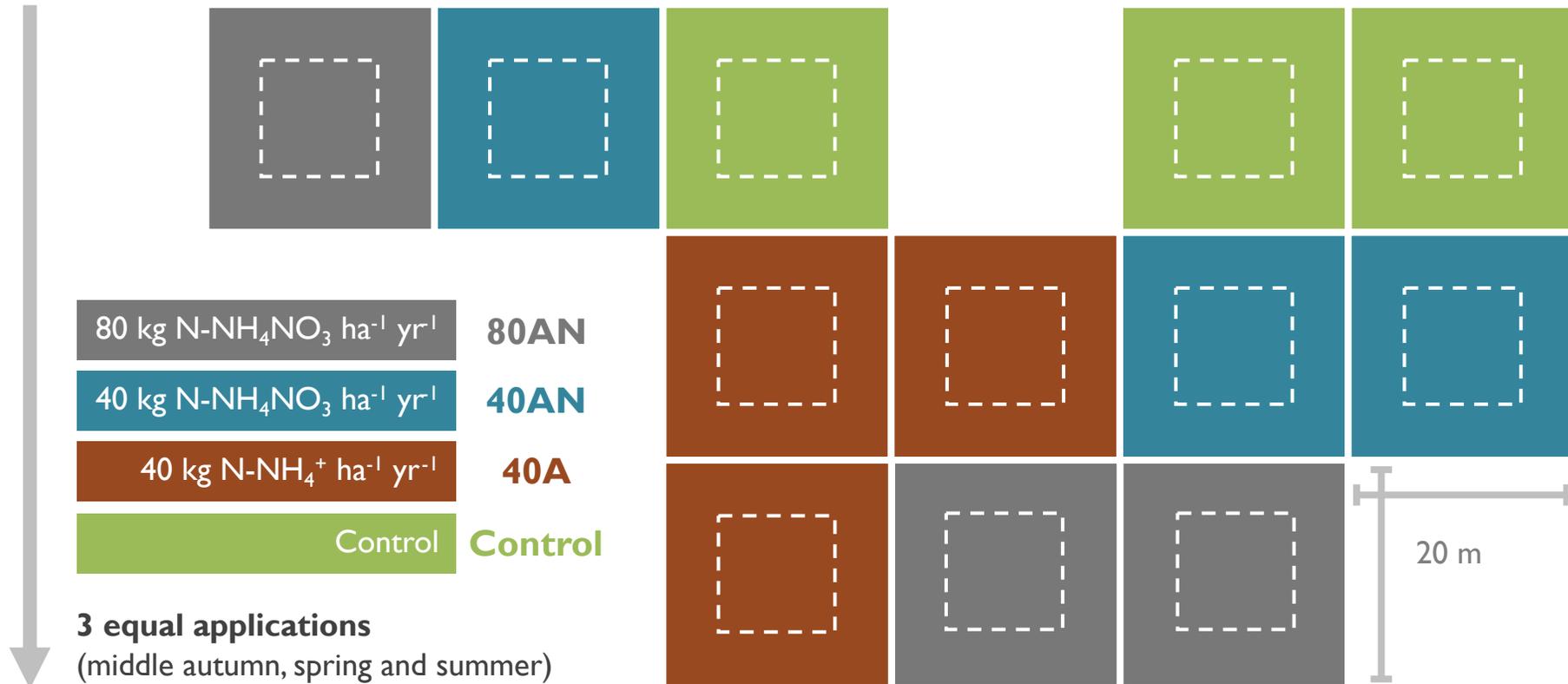
+ NH_y



+ NO_x



IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N



Dias et al., 2014. Plos One.

IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | DIVERSIDADE VEGETAL



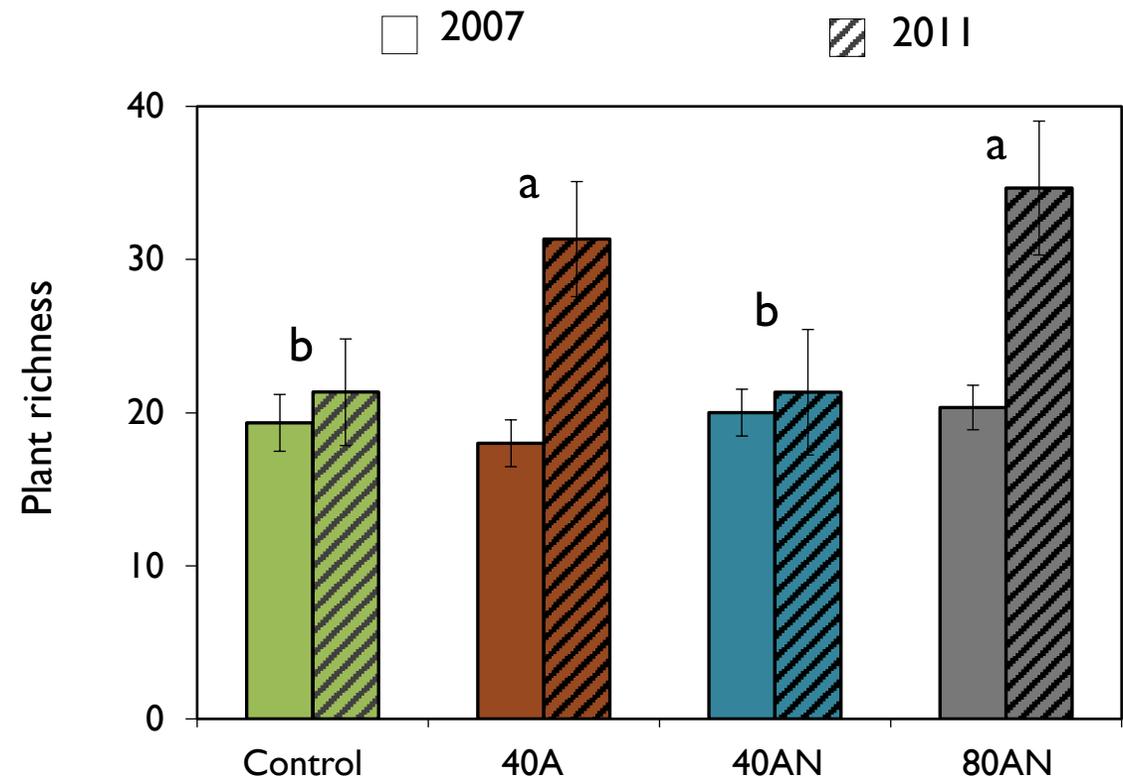
Padrão de resposta:

control \approx 40AN

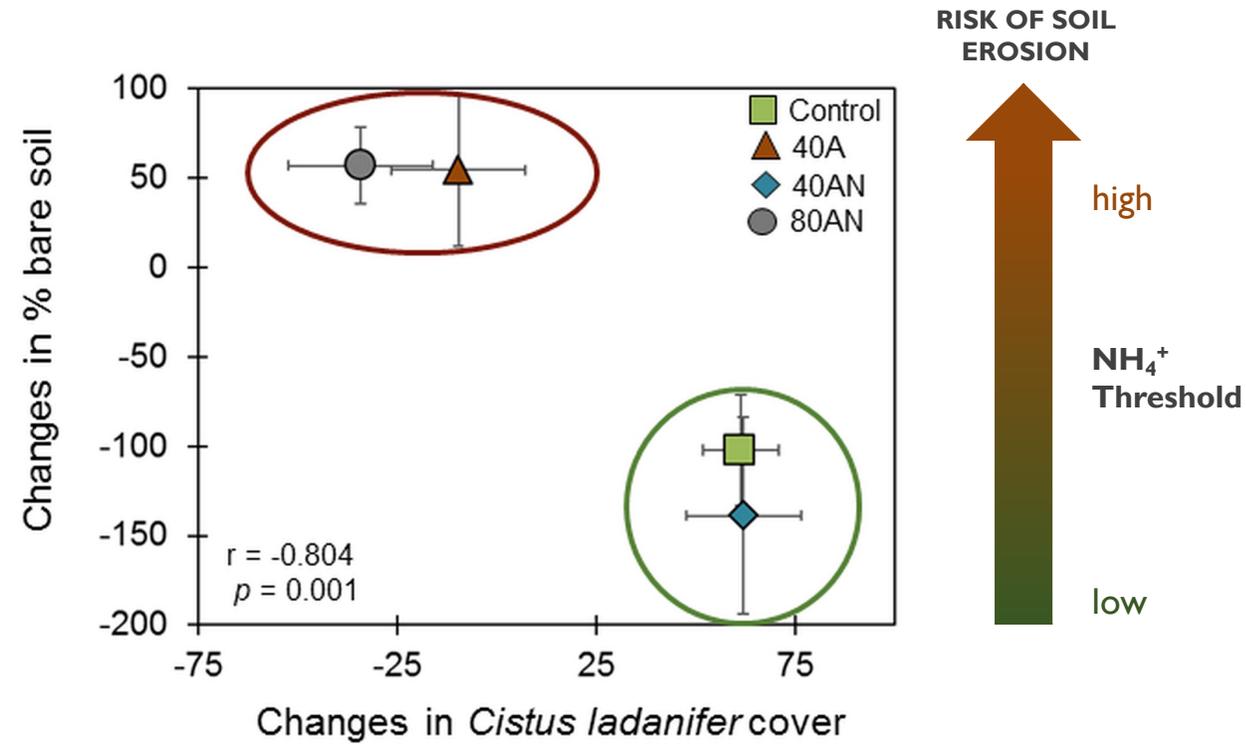
40A \approx 80AN

Consequência:

N Critical Loads deve considerar **forma e quantidade**
(20-30 kg N /ha/ano – riqueza específica)



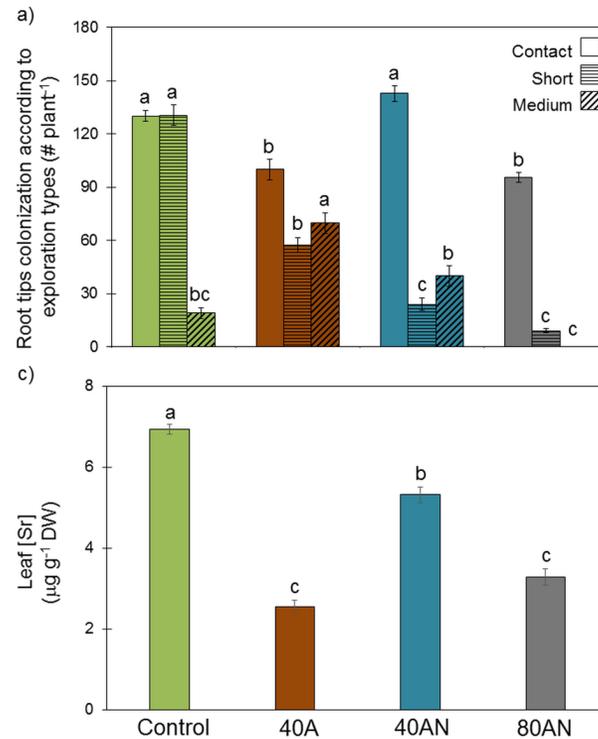
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | RISCO DE EROSÃO



Relação entre as mudanças no solo nú e a cobertura de *Cistus ladanifer* entre 2007 (primeira) e 2013 (sétima primavera da experiência). Os símbolos representam a média \pm erro padrão ($n = 3$). Correlação de Pearson calculada para as 12 parcelas experimentais.

Dias et al, 2017. LDD.

IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N

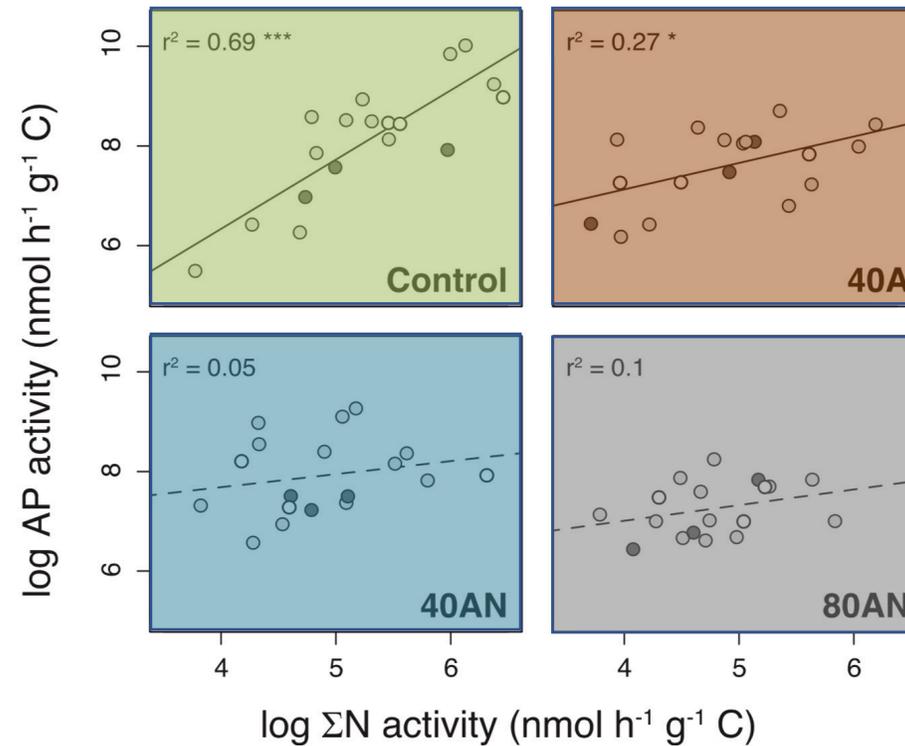


Impacto da adição de N na formação de ectomicorriza (de acordo com os tipos de exploração: contato, exploradores de curta e média distância). Letras diferentes mostram significância a 5%. Barras representam a média \pm erro padrão ($n = 3$).

Dias et al, 2017. LDD.

Ulm et al, 2017. Soil Biol Biochem.

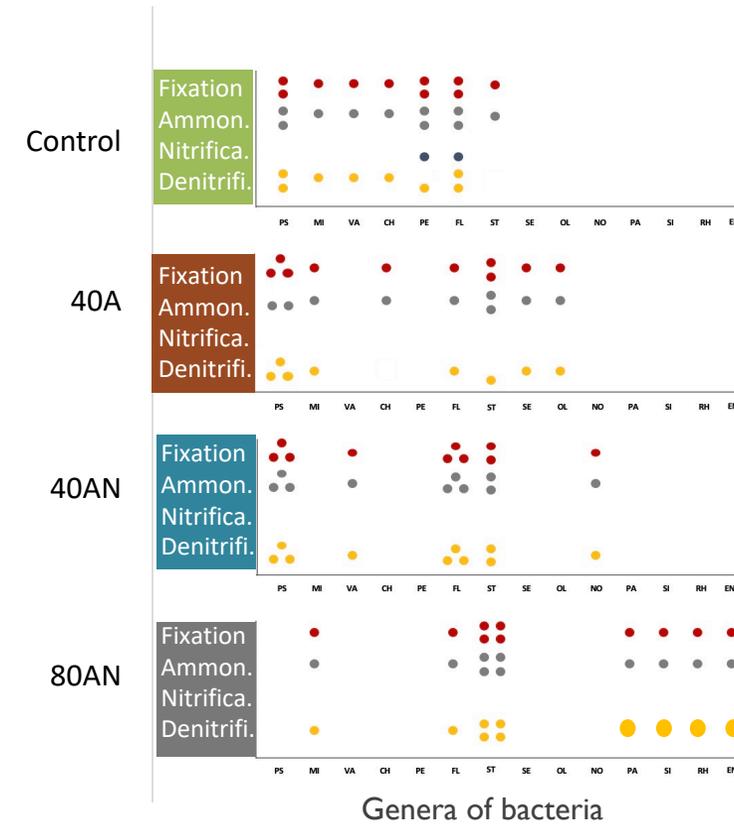
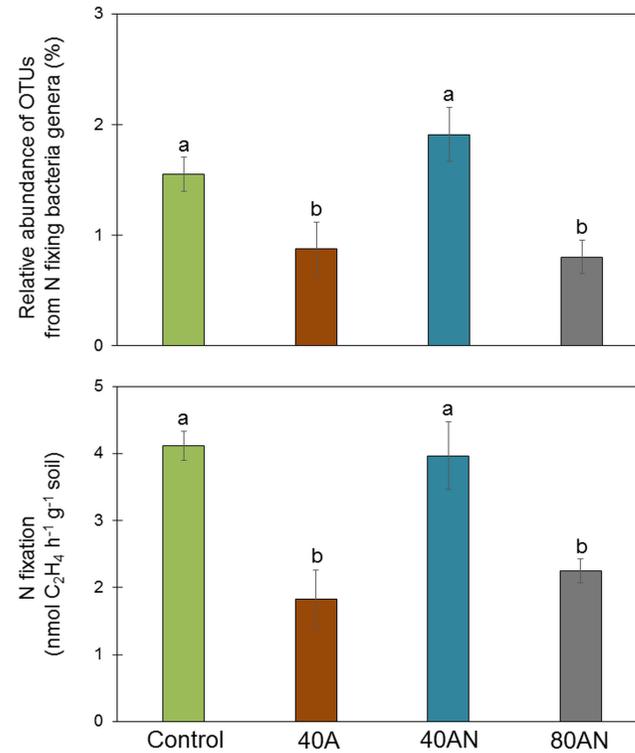
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | ECTOMICORRIZAS



Correlação entre a atividade enzimática extracelular (AE) relacionada com o ciclo do N (leucina-aminopeptidase e N-acetilglucosaminidase) e o do C (β -glucosidase, celobio-hidrolase, EA-específica de β -glucuronidase e β -xilosidase). A significância é indicada com asteriscos (***) <0,001). Branco, cinza escuro EA de solo; cinza claro raiz micorrízica

Ulm et al, 2017. Soil Biol Biochem.

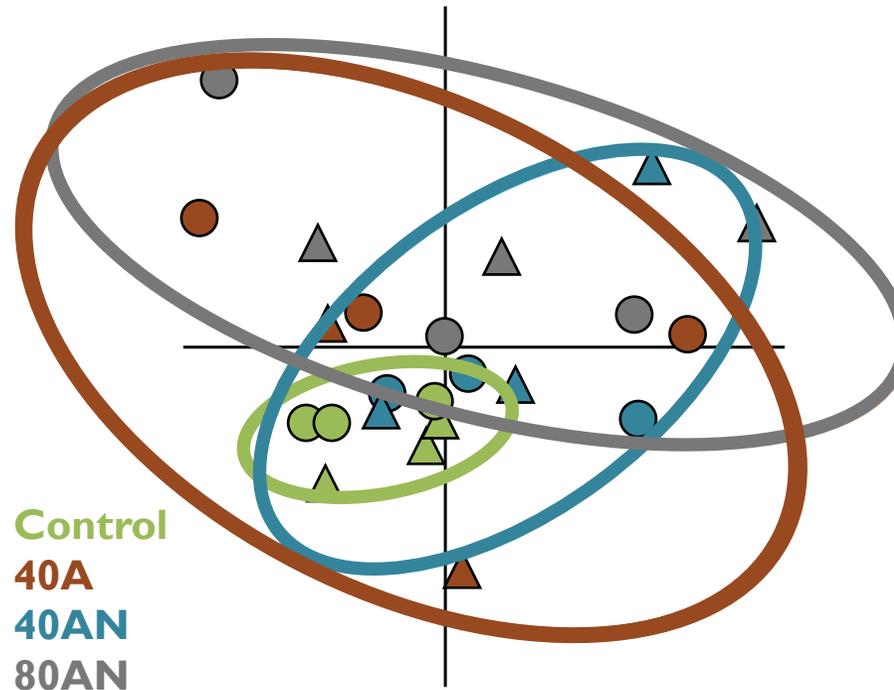
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | FIXAÇÃO DE N



Impacto dos tratamentos na comunidade diazotrófica e na taxa de fixação de N (redução de acetileno). Letras diferentes mostram significância a 5%. Barras representam a média ± erro padrão (n = 3).

Dias et al **2017**. *Land Degradation and Development*.
Almeida, **2019**. *Tese de Mestrado*.

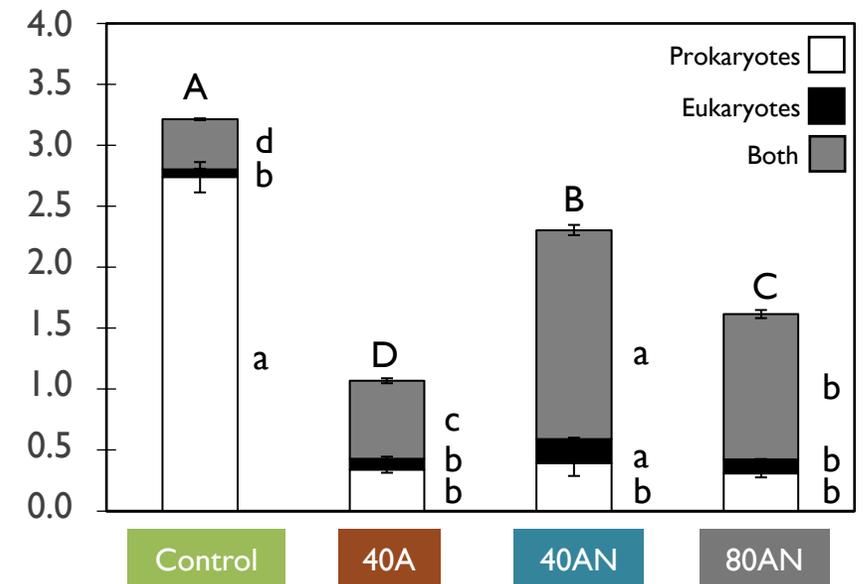
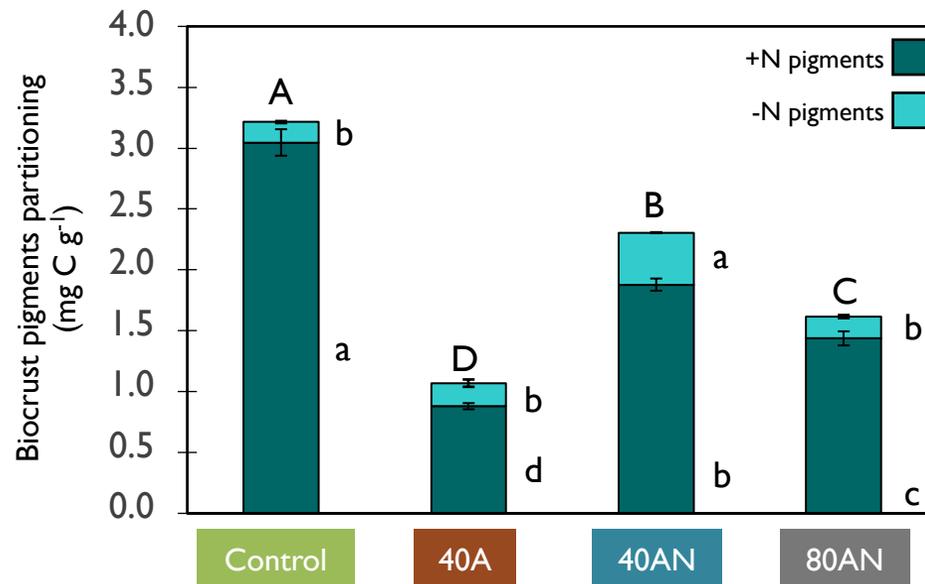
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | COLONIZAÇÃO RADICULAR



A colonização das raízes por bactérias é mais determinística no controlo e mais estocástica nas raízes dos tratamentos que recebem N.

Martinez et al, 2015. Com pessoal.

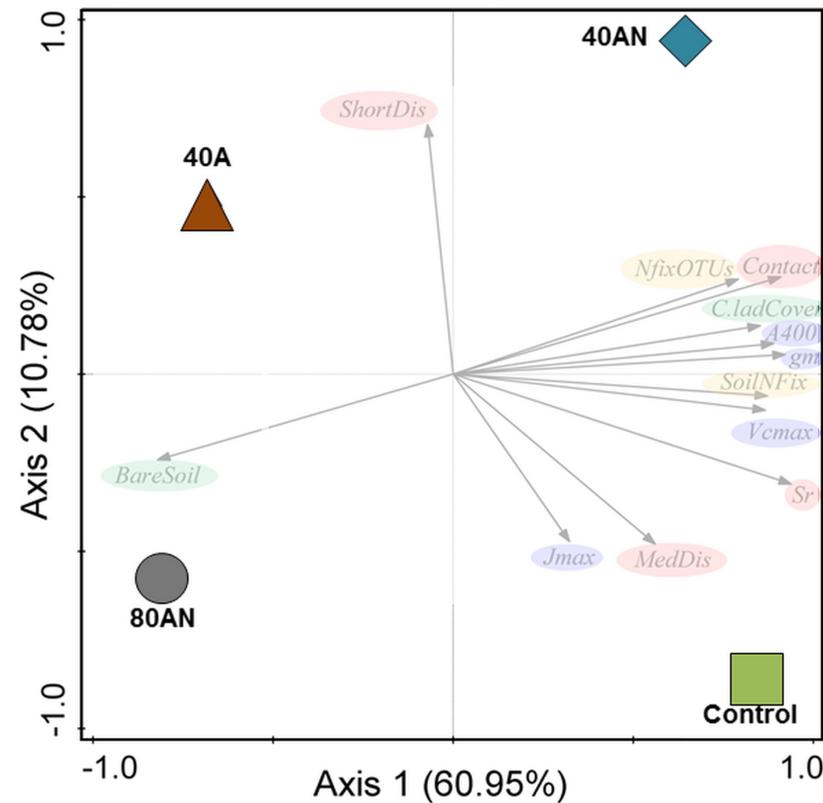
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N | PIGMENTOS DO SOLO



Efeito dos tratamentos na partição funcional dos pigmentos e dos microrganismos associados à sua produção (procarióticos, eucarióticos ou ambos). Letras diferentes mostram efeitos significativos a 5%. Barras representam a média \pm erro padrão (n = 3).

Dias et al, Under Revision. Soil Biol Biochem.

IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N

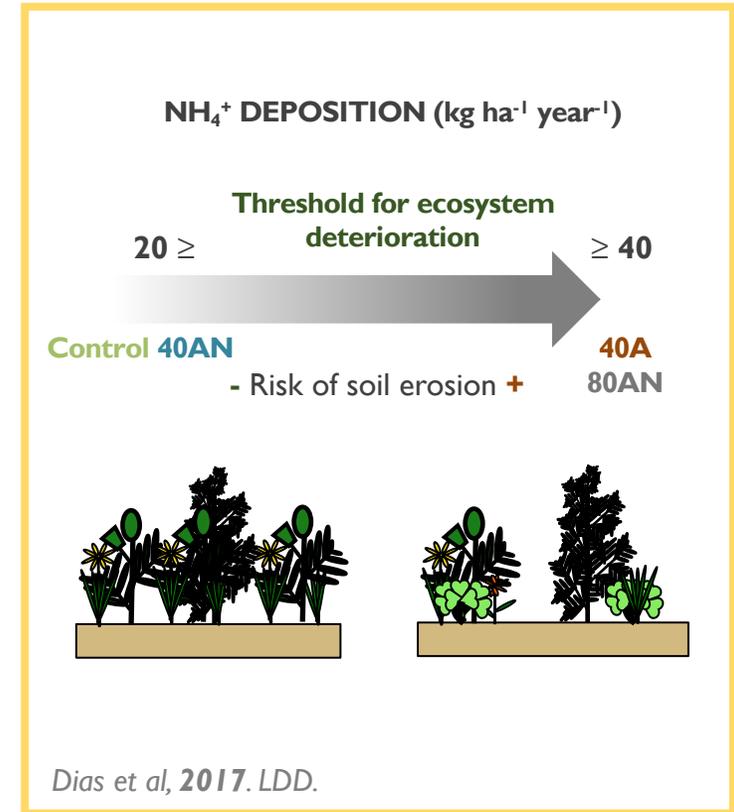
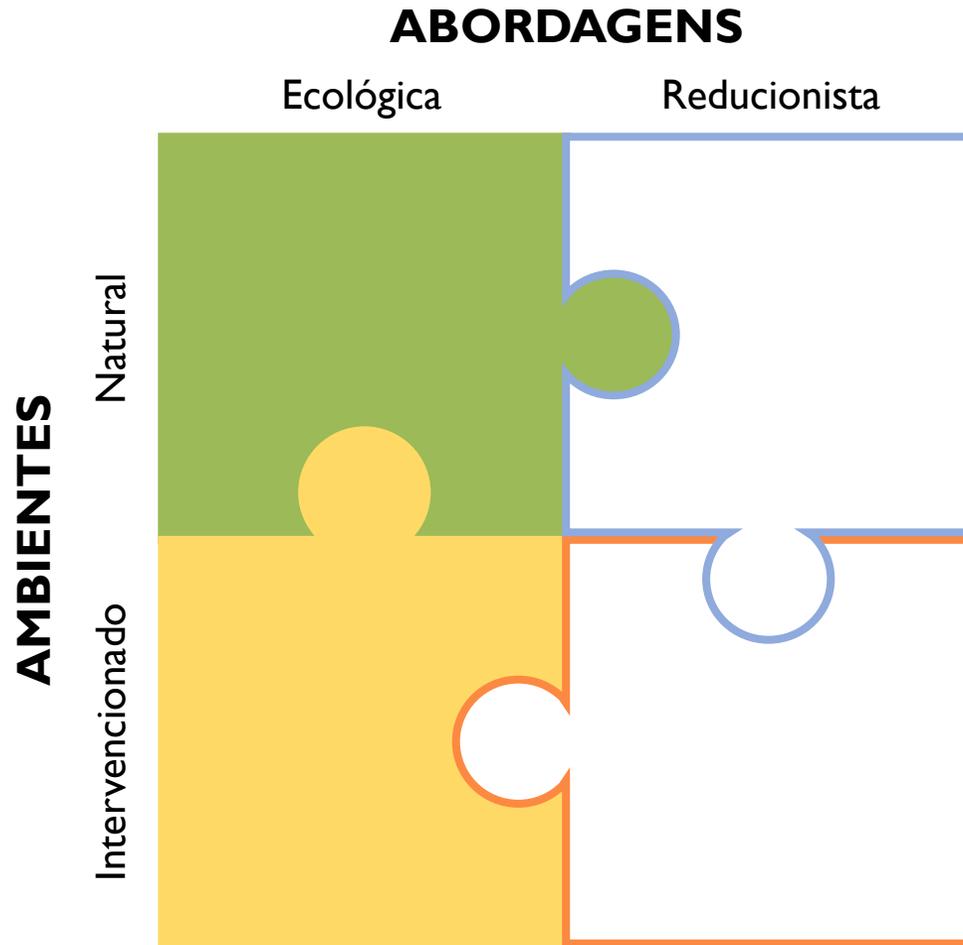


- Ectomycorrhizal Partnerships
- Photosynthetic N-Use Efficiency
- Biological N Fixation
- Δ Plant-Soil Cover (2007-2013)

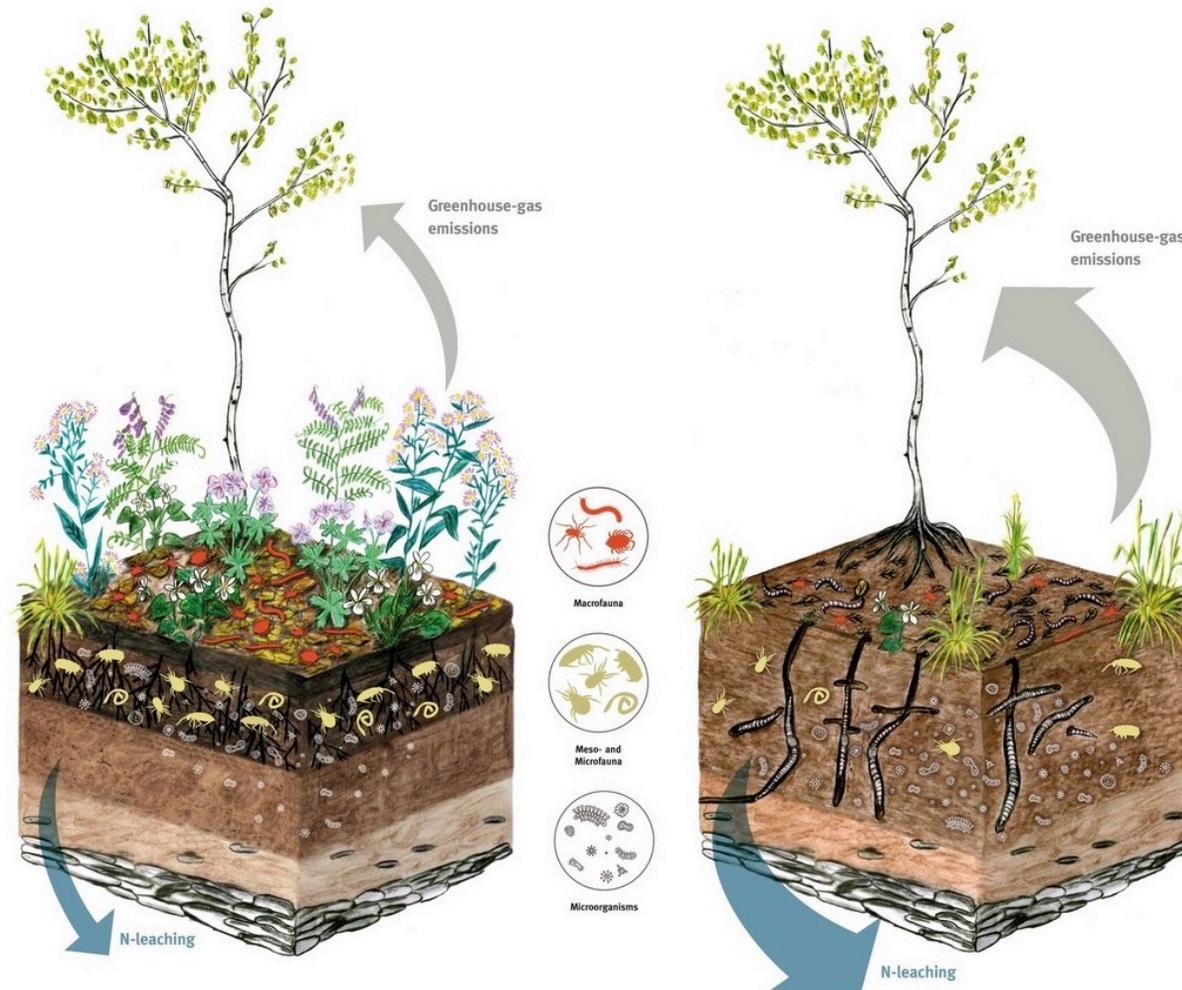
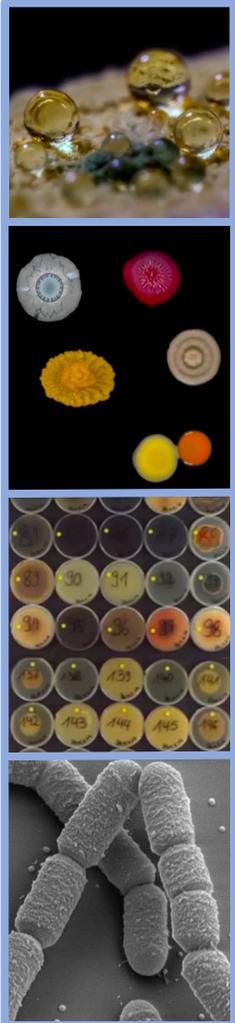
Análise de redundância (RDA) sugere que apenas a dose mais alta de NH_4^+ afetou a eficiência fotossintética do uso do N, parcerias ecológicas planta-cobertura do solo e funcionamento do ecossistema. As variáveis explicativas representaram 80,3% da variação.

Dias et al, 2017. LDD.

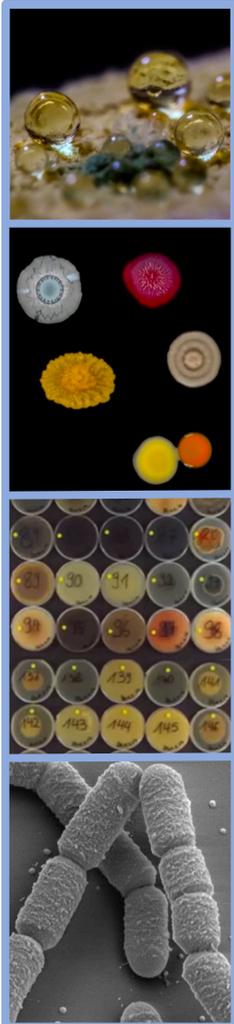
IMPACTOS LOCAIS DO AUMENTO DA DISPONIBILIDADE DE N



A RELEVÂNCIA DO MICROBIOMA DO SOLO E DA PLANTA



A NUTRIÇÃO VEGETAL EM PERSPETIVA



Aristoteles 384-322 BC
Roots absorb **humus**
and transform it into
plant substance

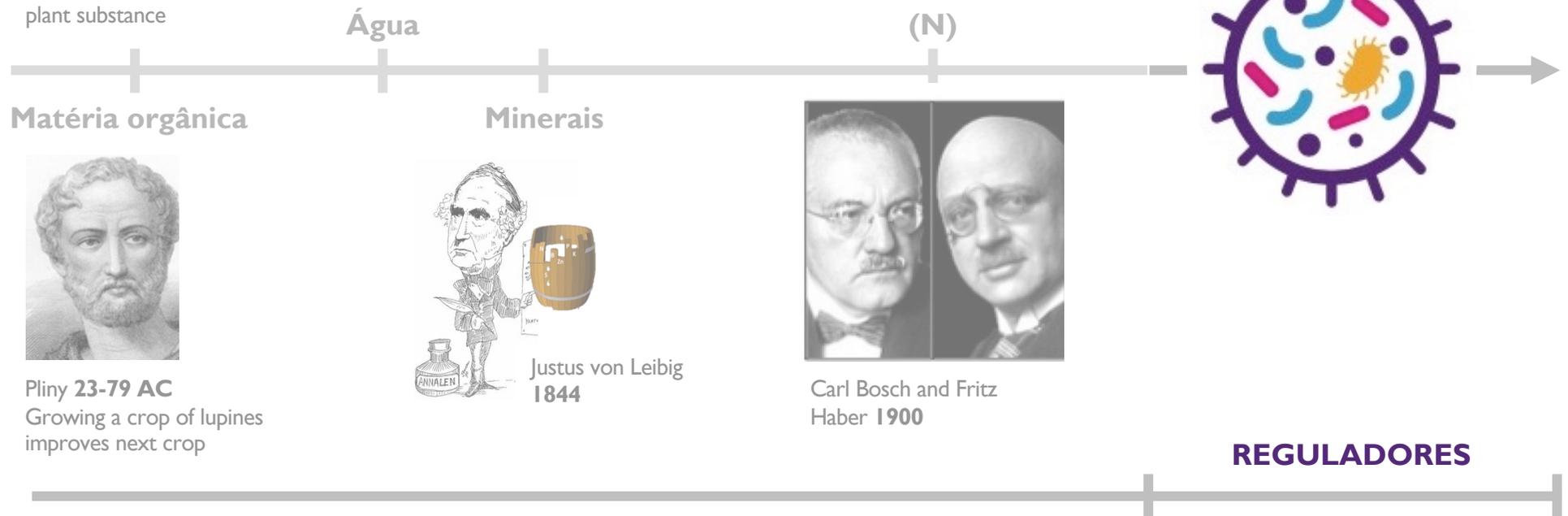
Rejection of the
humus theory



Carl Sprengel
1838



1888 Hellriegel and Wilfarth



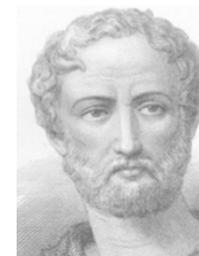
Materia orgânica

Água

Minerais

(N)

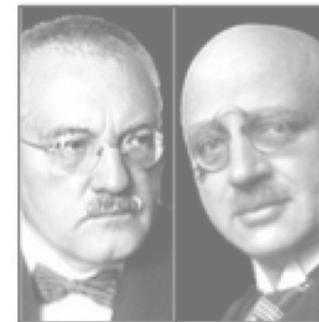
BIOFERTILIZANTES



Pliny 23-79 AC
Growing a crop of lupines
improves next crop



Justus von Leibig
1844



Carl Bosch and Fritz
Haber 1900

REGULADORES

> 2000 anos - BALANÇO DE MASSAS

AMF



Cyanobacteria



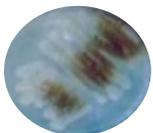
Azolla



PSM



Azospirillum
Azotobacter



Rhizobium



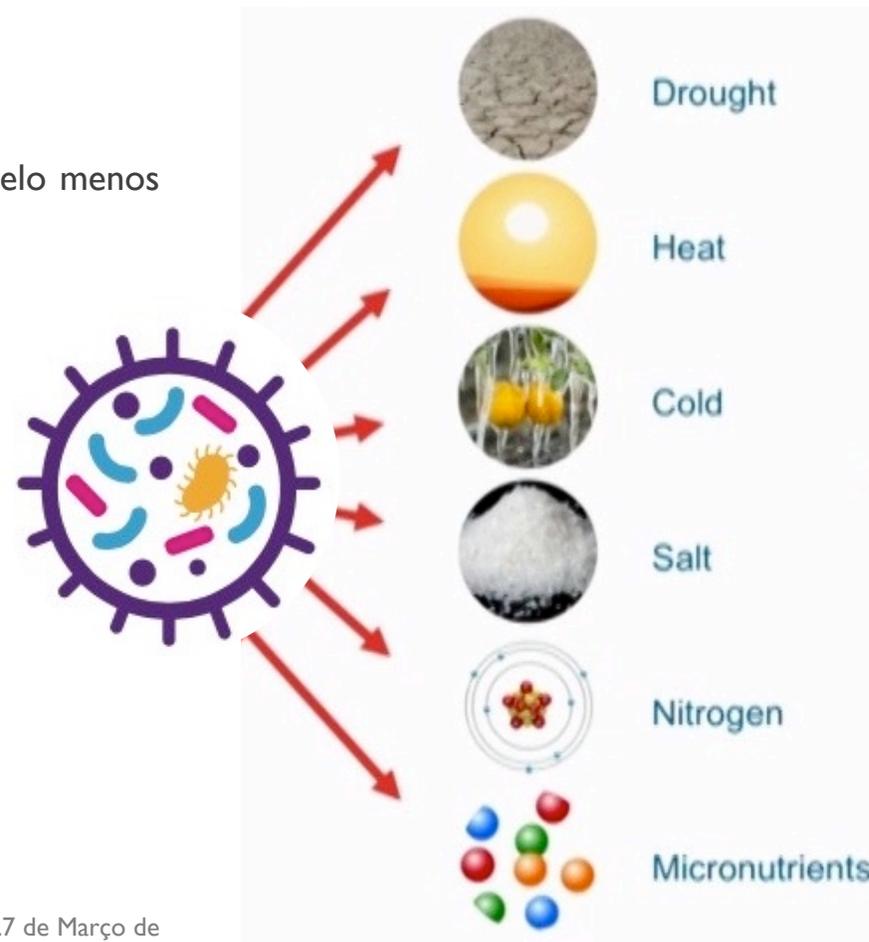
O QUE É UM BIOFERTILIZANTE?

UE - Bioestimulante estimula a nutrição das plantas, e melhora (pelo menos uma):

- Eficiência na utilização de nutrientes
- Tolerância ao stress abiótico
- Características de qualidade do produto
- Disponibilidade de nutrientes no solo ou na rizosfera

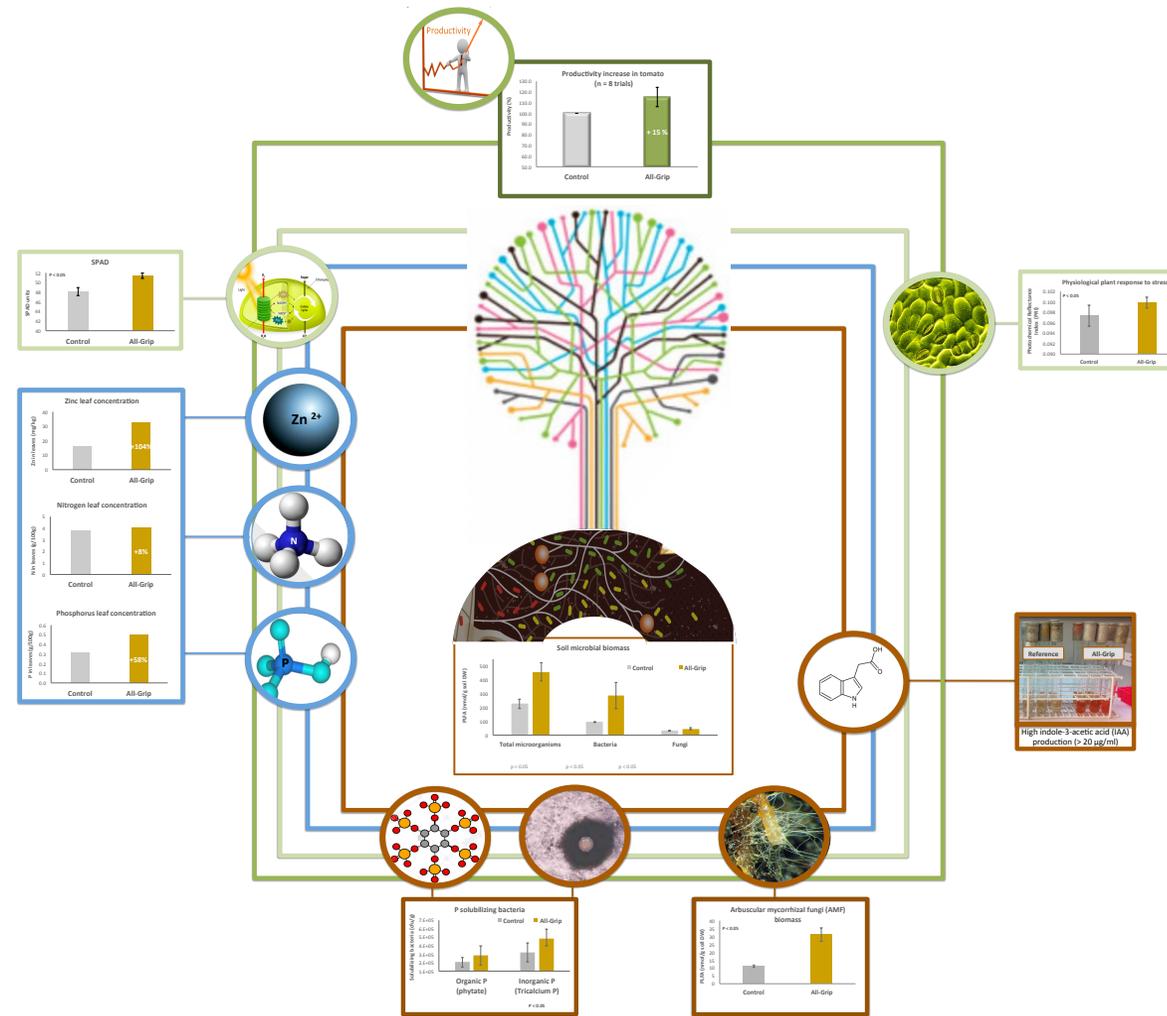
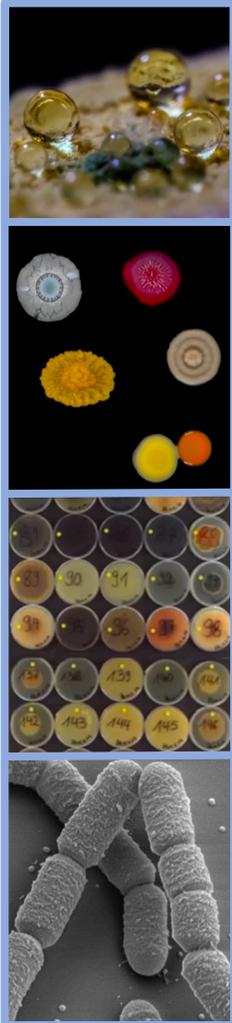
Pode ser:

- microbiano (com células ou não)
- não microbiano

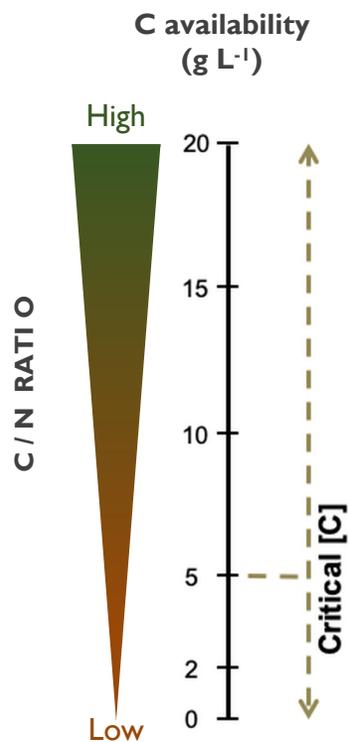
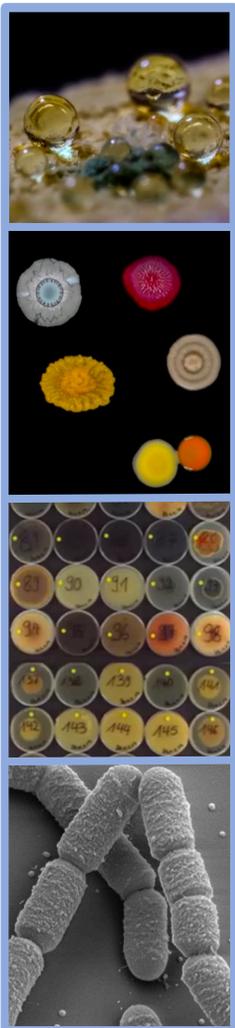


Regulamento sobre produtos fertilizantes (Resolução legislativa do Parlamento Europeu de 27 de Março de 2019) a entrar em vigor a 2022, Regulamento 2019/1009 (e substitui o 2003/2003)

INTERAÇÃO SOLO – PLANTA - MICRORGANISMO



INTERAÇÃO PLANTA - MICRORGANISMO



Free-living stage fungal phenotypes

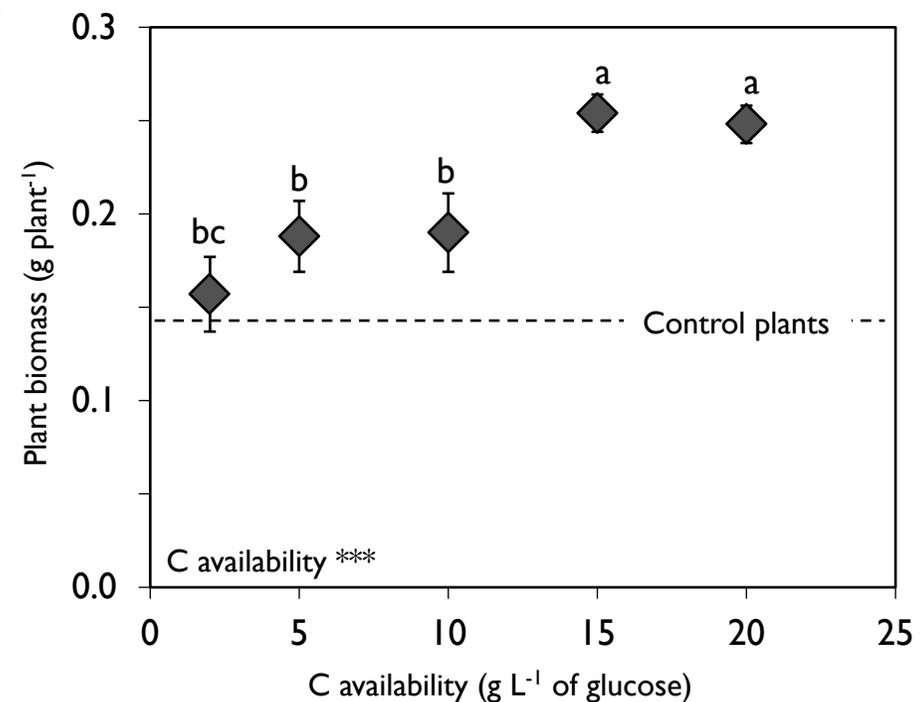


- Glucose/sucrose is the main C source; casein and yeast extract are also the N sources
- N and P scavenging



- Peptone is the main C and N source
- C scavenging

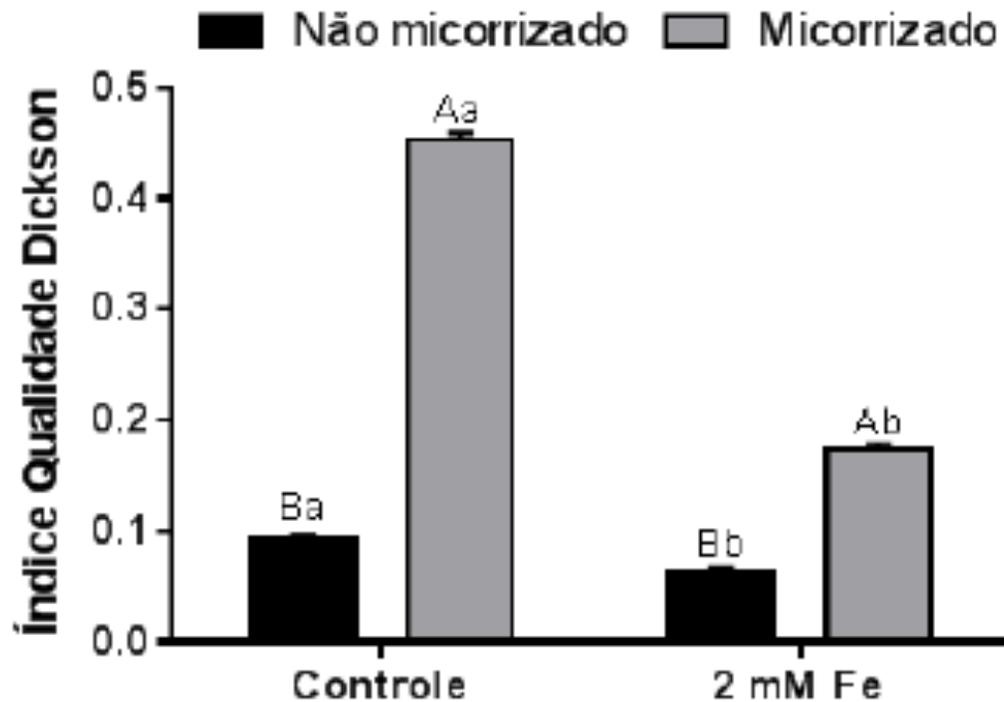
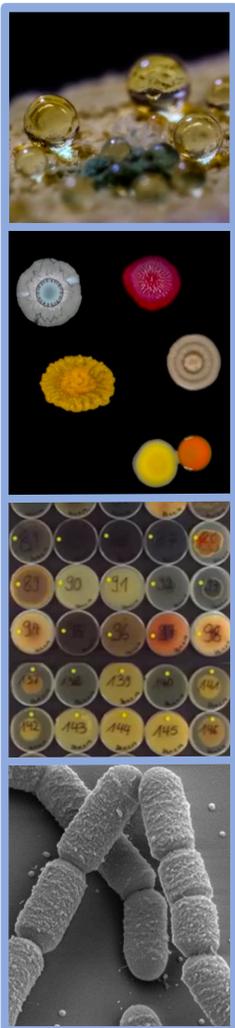
Symbiosis stage phenotypes



Ensaio de vaso com trigo (*Triticum aestivum*) inoculado ou não com *Serendipita indica* (n=12)

Dias, under review. *Front Microbiol.*

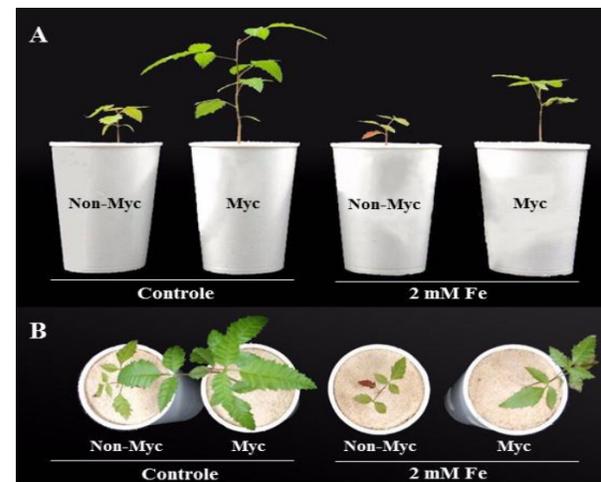
BIOFERTILIZANTES | NA RECUPERAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM FERRO



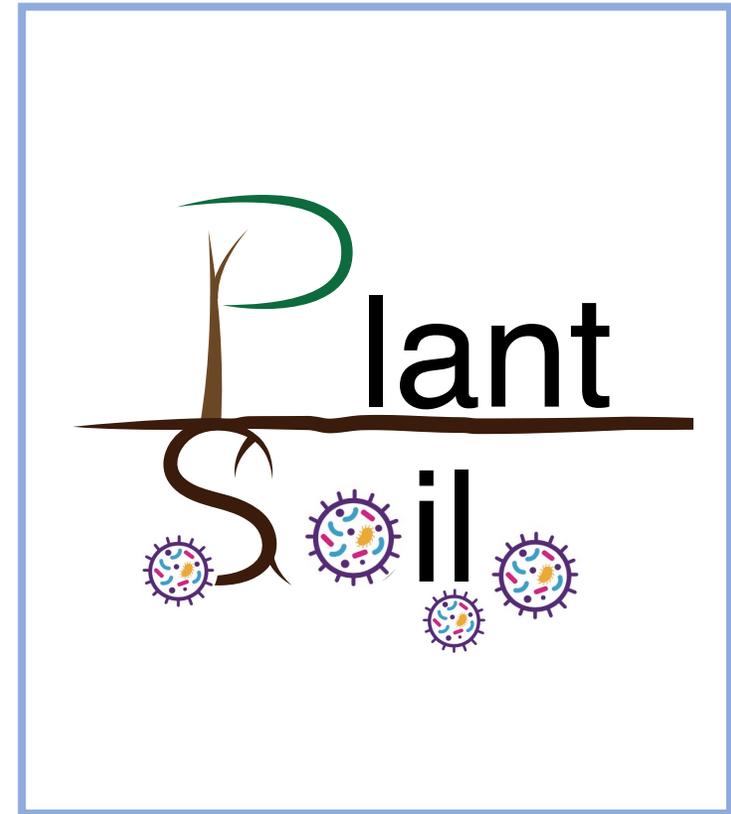
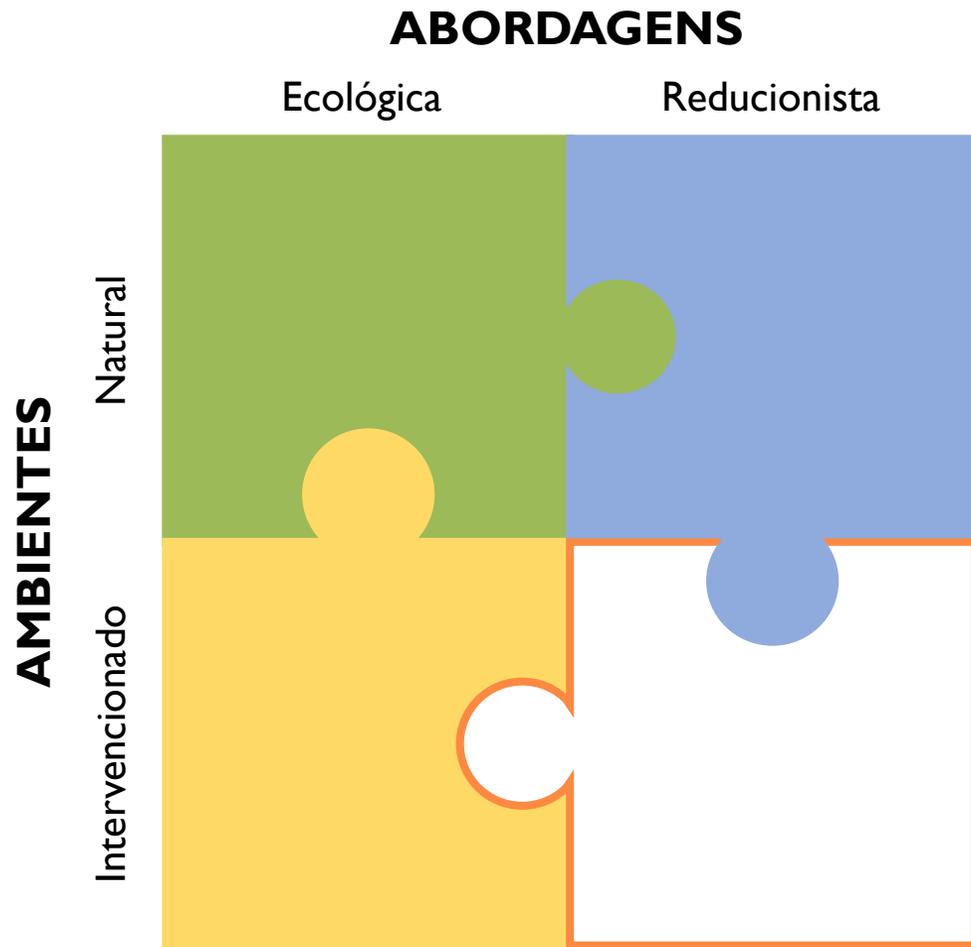
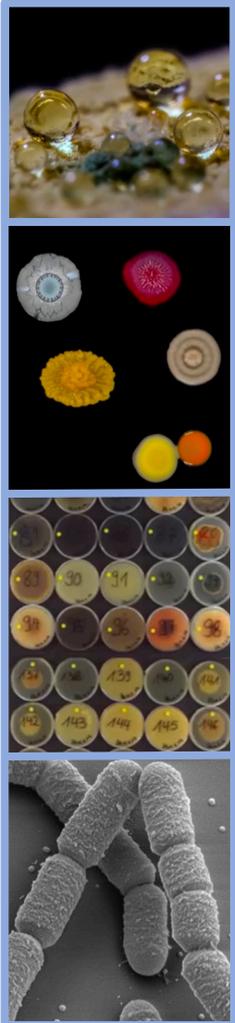
Contaminação da água e do solo com ferro ao longo do rio Paraopeba (Brasil). Índice de Qualidade de Dickson (IQD) de plântulas da *Schinus terebinthifolius* 90 dias após a inoculação (n=16). *Claroideoglossum etunicatum* (AMF).

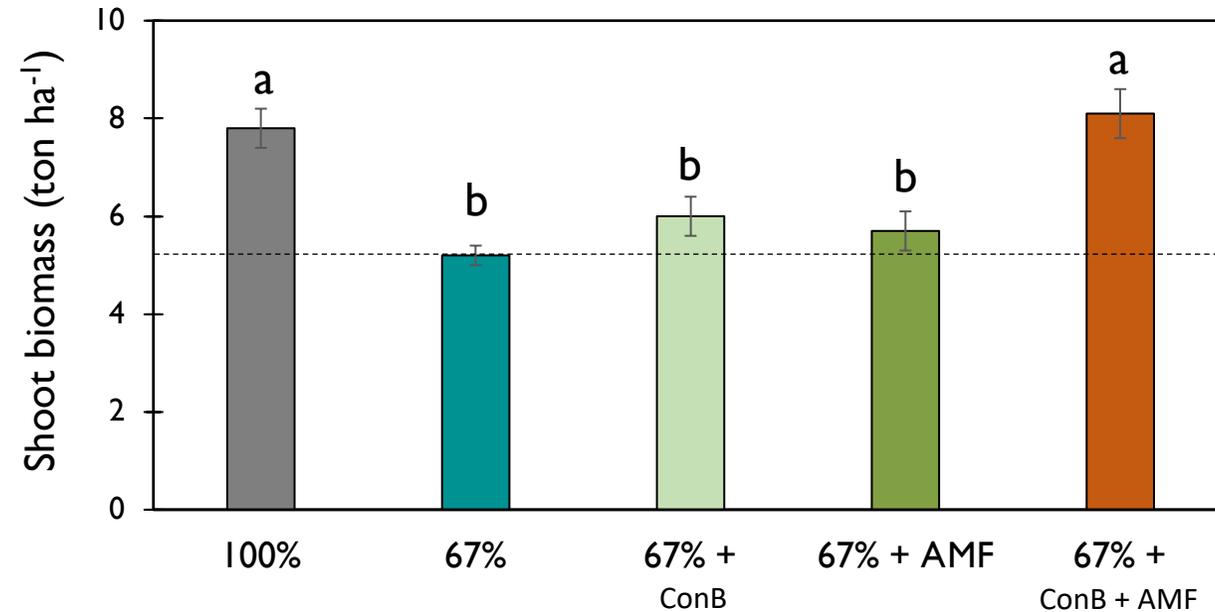
Plantação de 100 ha.

Colodete, 2019. Tese de Doutorado



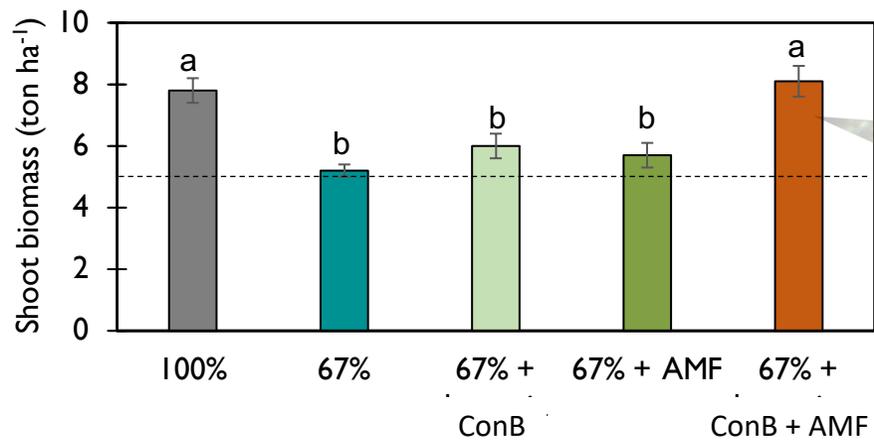
INTERAÇÃO SOLO-PLANTA-MICRORGANISMO





Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos. As barras representam a média \pm desvio padrão (n=3). 100% - adição da dose de fertilizante mineral recomendada; 67% - adição de 67% da dose de fertilizante mineral recomendada. ConB: Consórcio bacteriano com *Bacillus megaterium*; *Bacillus pumillus*; *Bacillus licheniformis*; *Rhizobium loti*; *Azospirillum brasiliense*; *Azotobacter chroococcus*. AMF: *Rhizophagus intraradices*.

NUTRIÇÃO VEGETAL | BIOFERTILIZANTES



20-23% > Zn in the grain

Soil degradation leads to the loss of soil micro and macronutrients

Nutrient-poor soils are unable to produce healthy food with all the necessary nutrients for a healthy person

Over 2 billion people suffer from micronutrient deficiencies

Over 2 billion people suffer from micronutrient deficiencies

Sustainable soil management for healthy soils, healthy food and healthy people

Ensure crop rotation

Reduce erosion

Keep soil surface covered

Increase soil organic matter content

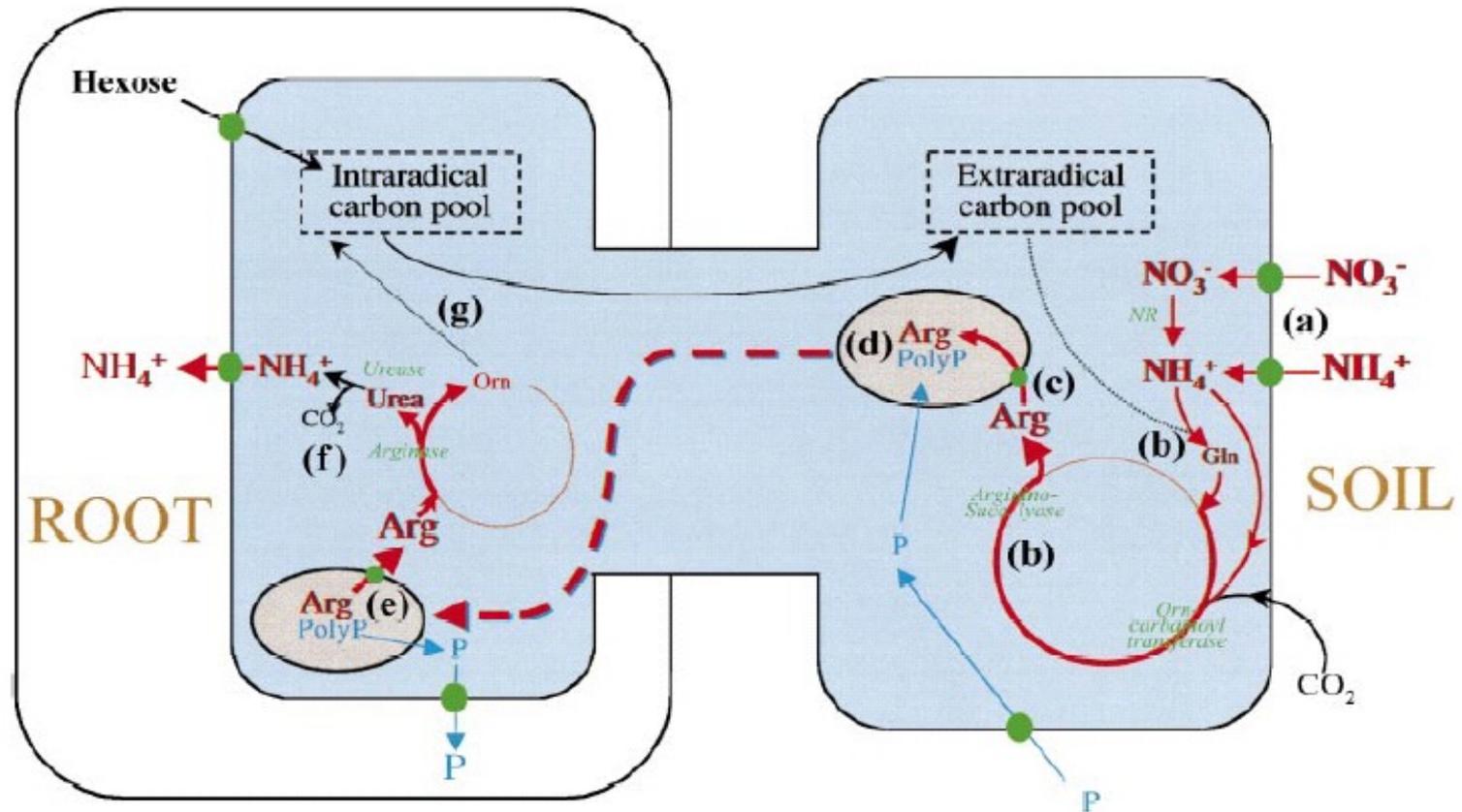
Minimize tillage



INTERAÇÃO PLANTA AMF



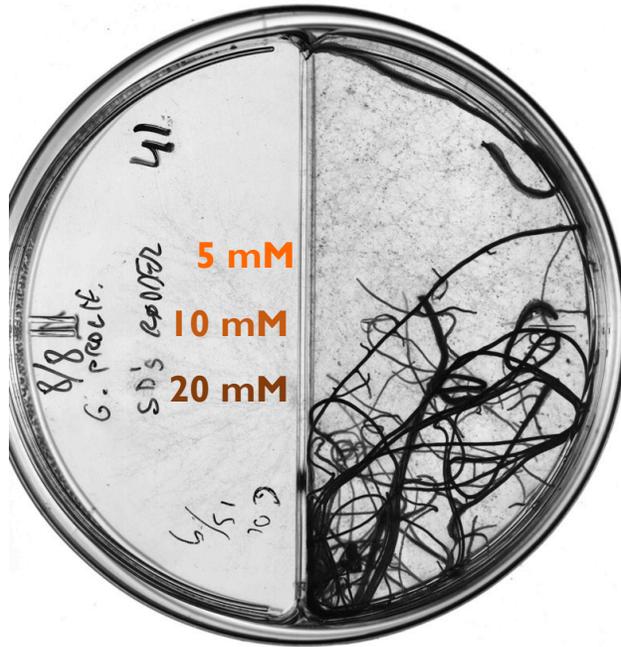
INTERAÇÃO PLANTA - AMF



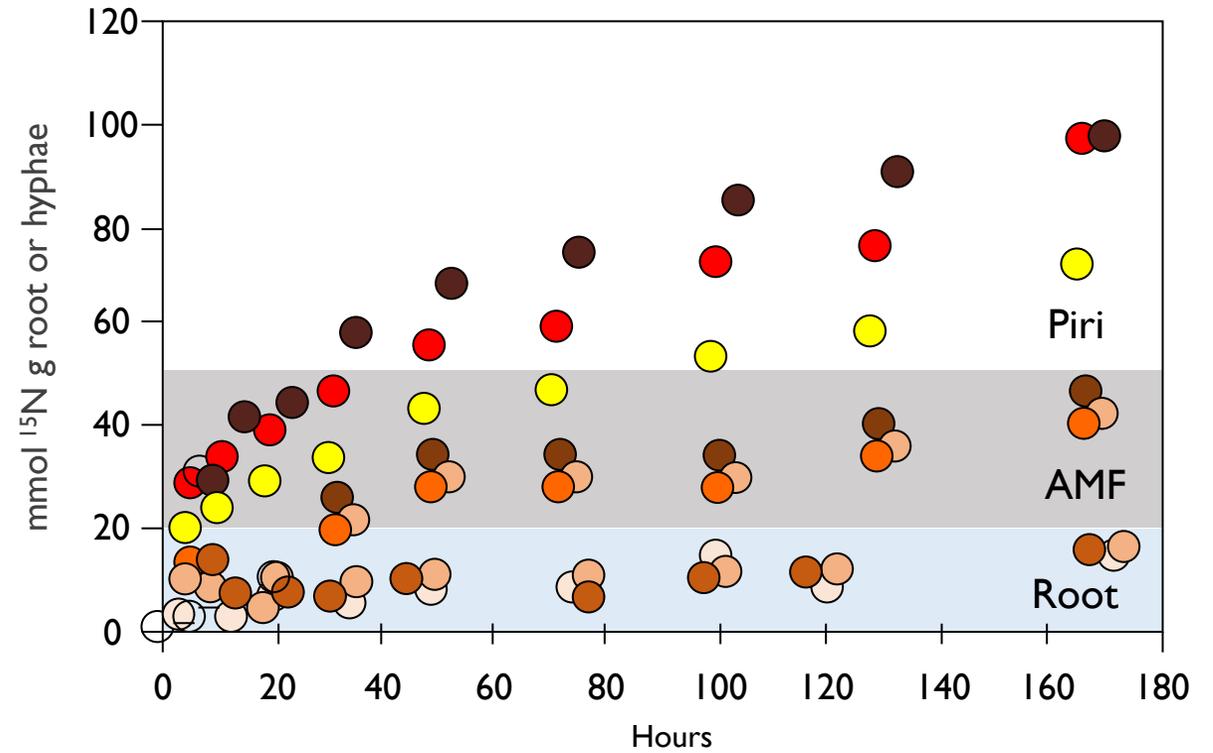
Mecanismo explicativo para a aquisição de N e P pelos fungos micorrizicos arbusculares

Cruz et al, 2007. Plant Physiol.

INTERAÇÃO PLANTA - AMF



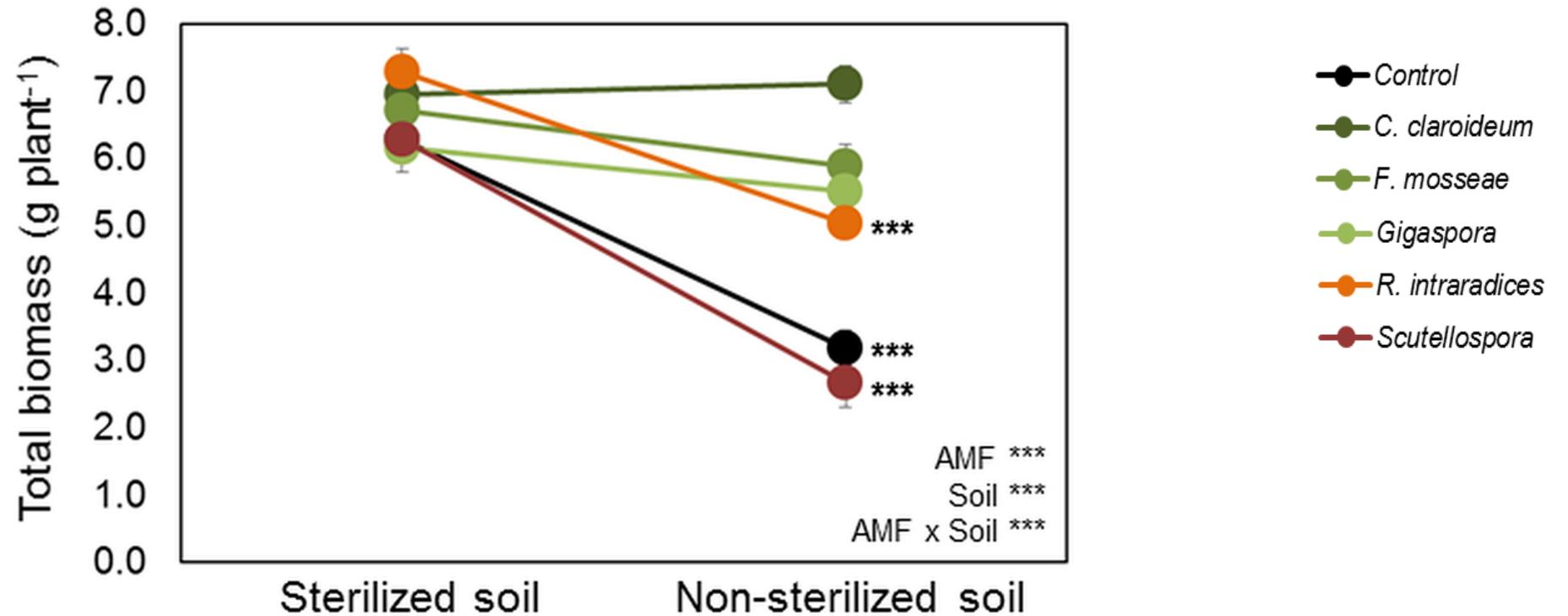
$(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
82% ^{15}N enrichment
Sequential harvests



Raízes transformadas de cenoura (*Daucus carota*) com *Agrobacterium rhizogenes* colonizadas por *Rhizophagus irregularis* (AMF) ou *Serendipita indica* (Piri).

Cruz et al, 2018. *Mycobiont*.

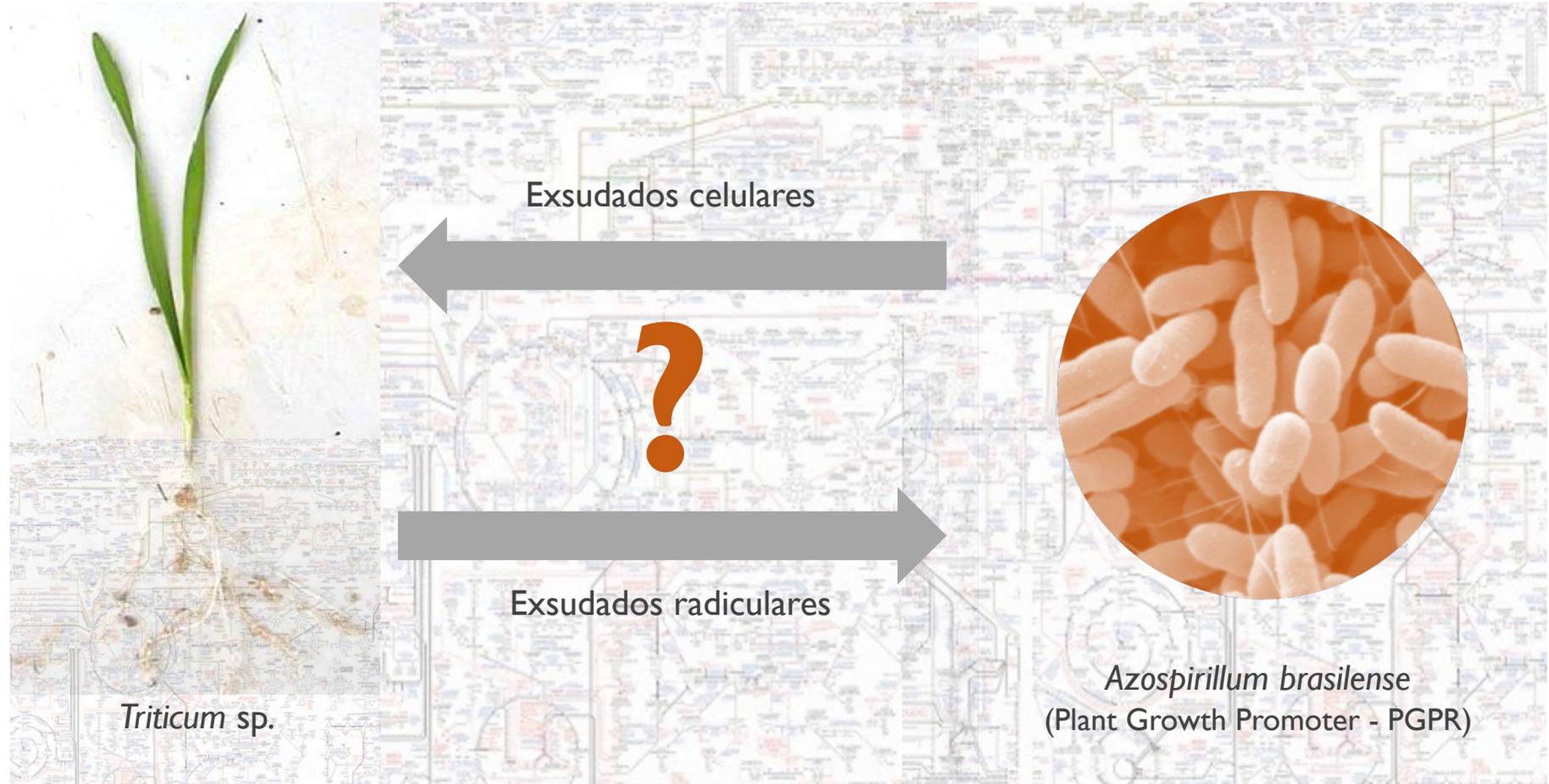
INTERAÇÃO PLANTA - AMF | OUTROS MICRORGANISMOS



Ensaio de vaso. *** significativo a 0,01%.
Os símbolos são a média \pm erro padrão (n = 6)

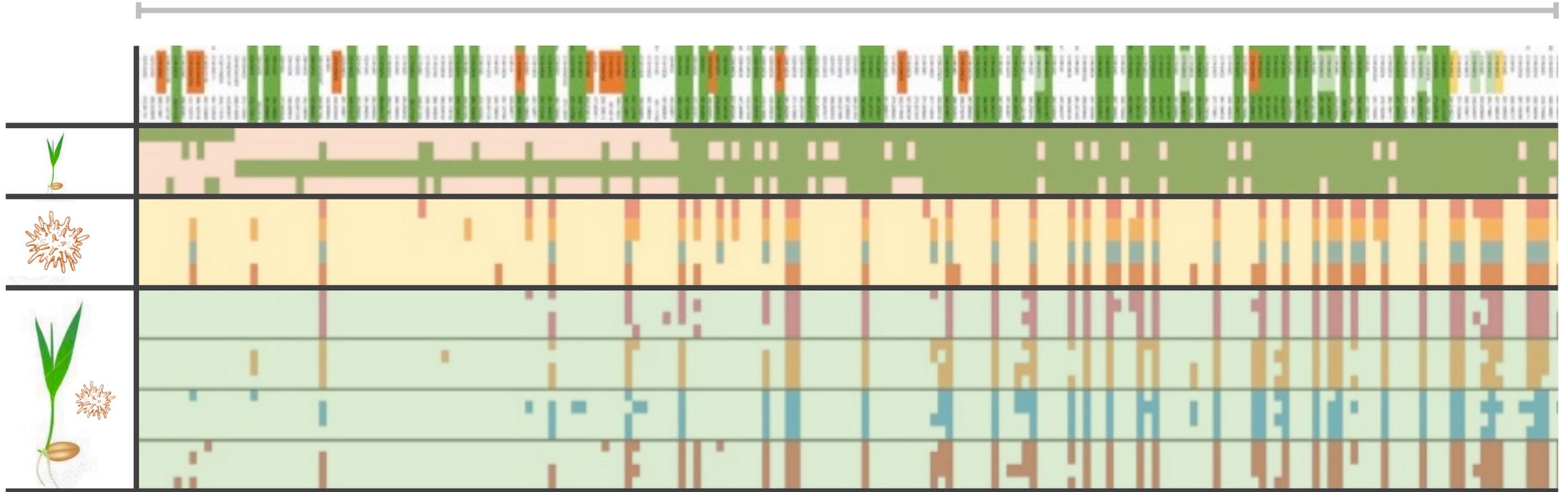
Dias et al, 2018. *Appl Soil Ecol.*

COMUNICAÇÃO ENTRE PLANTAS E MICRORGANISMOS



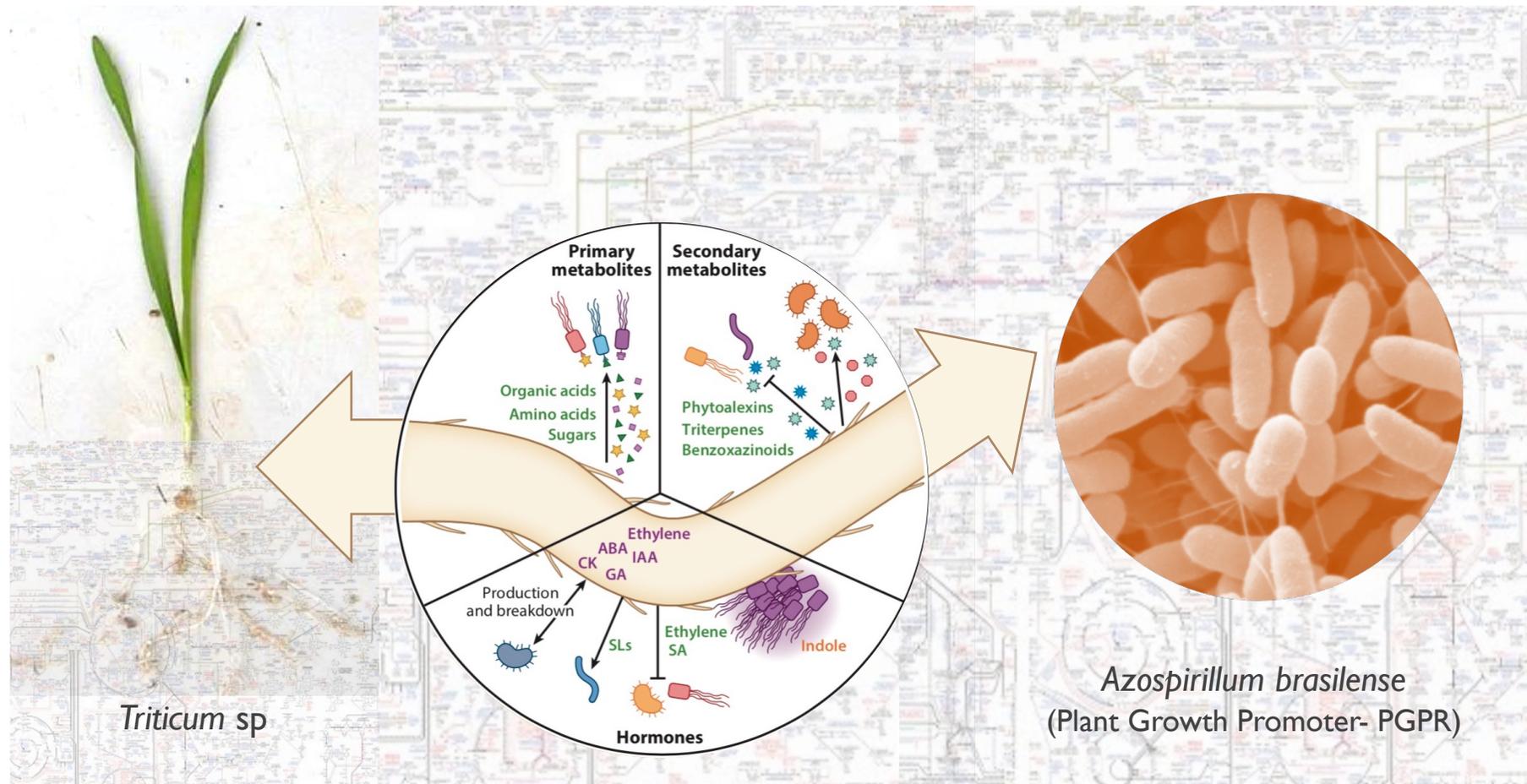
COMUNICAÇÃO ENTRE PLANTAS E MICRORGANISMOS | ANÁLISE METABOLÓMICA

867 compostos identificados

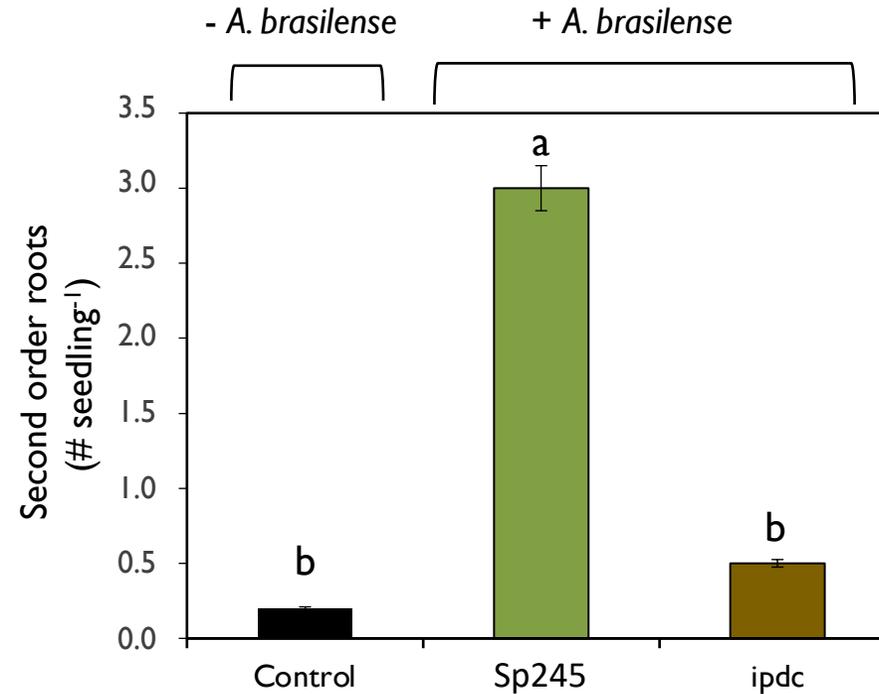
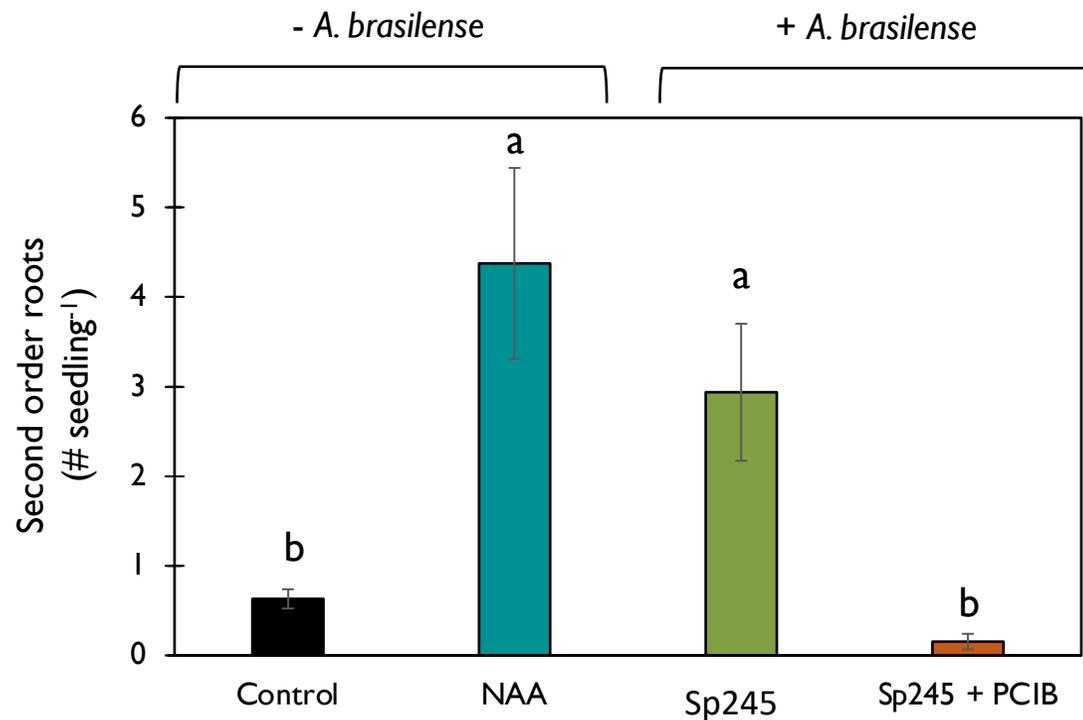


FTICR-MS – Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry

COMUNICAÇÃO ENTRE PLANTAS E MICRORGANISMOS | ANÁLISE METABOLÓMICA



A estimulação da produção de raízes secundárias por *A. brasilense* é mediada pela produção de auxina



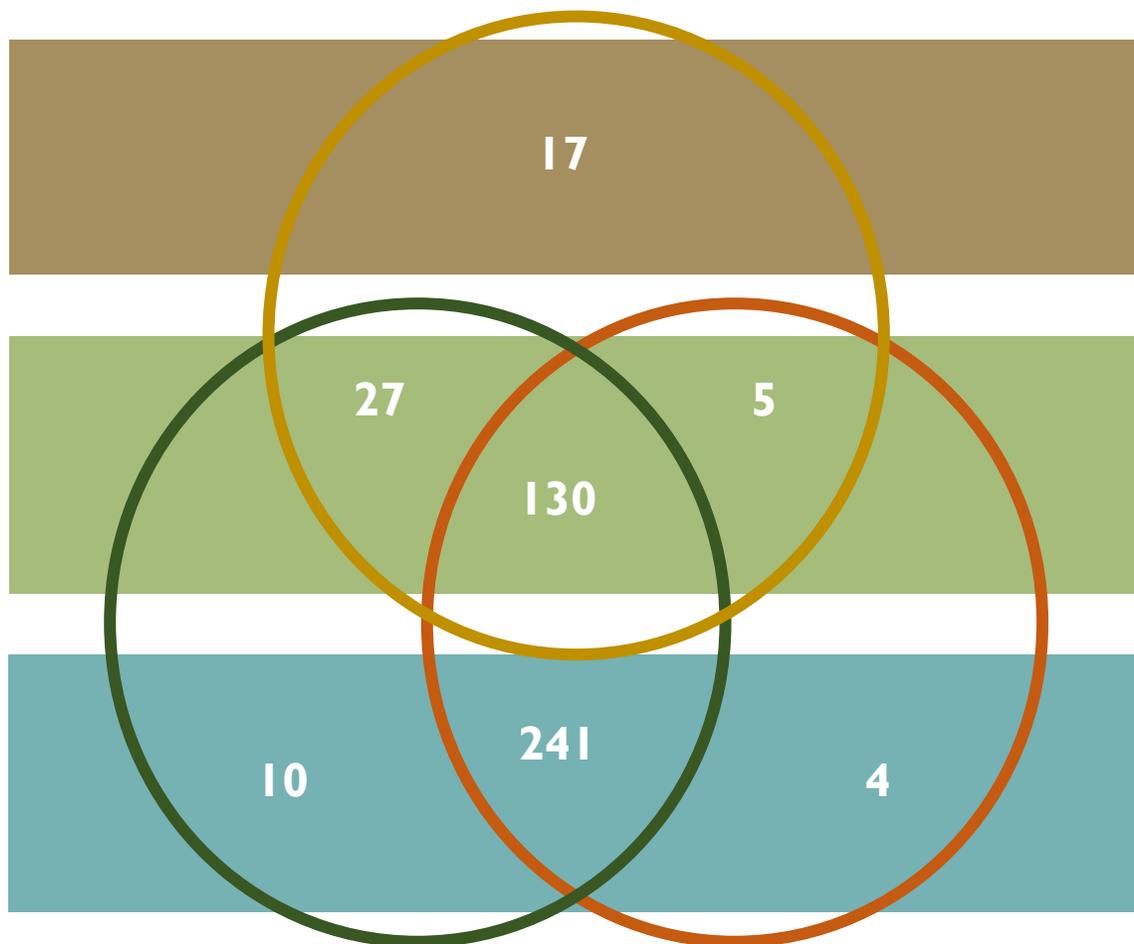
A auxina sintética - NAA

Sequestrador de auxina - PCIB

Ferreira et al, Submitted. Front Microbiol

EFEITO DAS AUXINAS NA TRANSCRIÇÃO EM *Azospirillum brasilense*

A análise da transcriptômica de *Azospirillum brasilense*



439 genes diferencialmente expressos

255 ≈ 60%

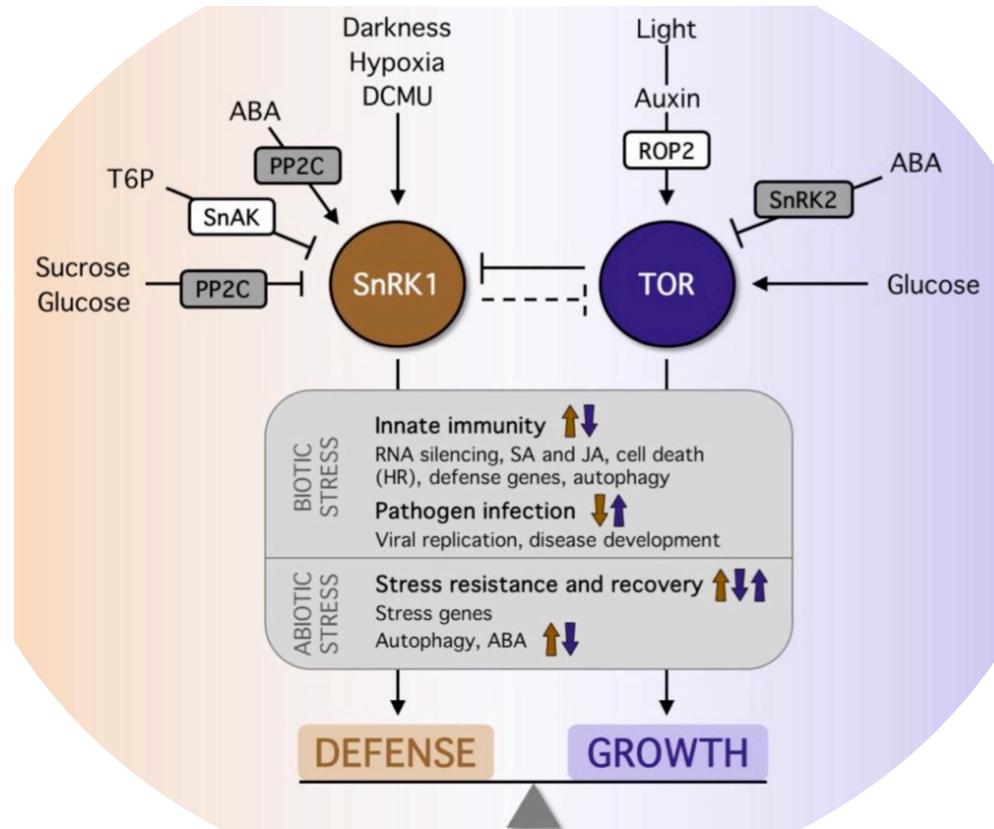
respondem diretamente à presença de

auxina

Comparação dos genes expressos por Sp245 e o mutante ipdC. Genes com expressão alterada por adição de IAA ao Sp245.

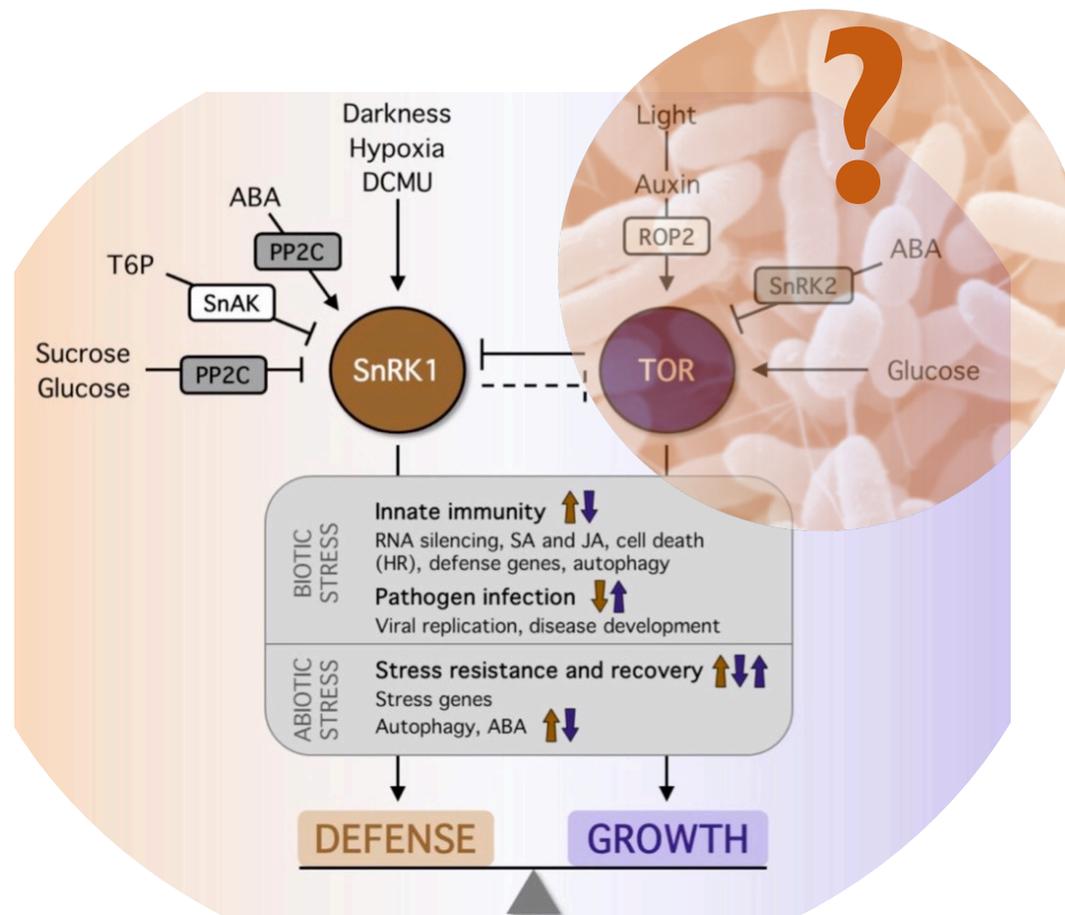
Genes com expressão alterada por adição de IAA ao mutante ipdC.

RESPOSTA DA PLANTA À PRODUÇÃO DE AUXINAS POR *Azospirillum brasilense*



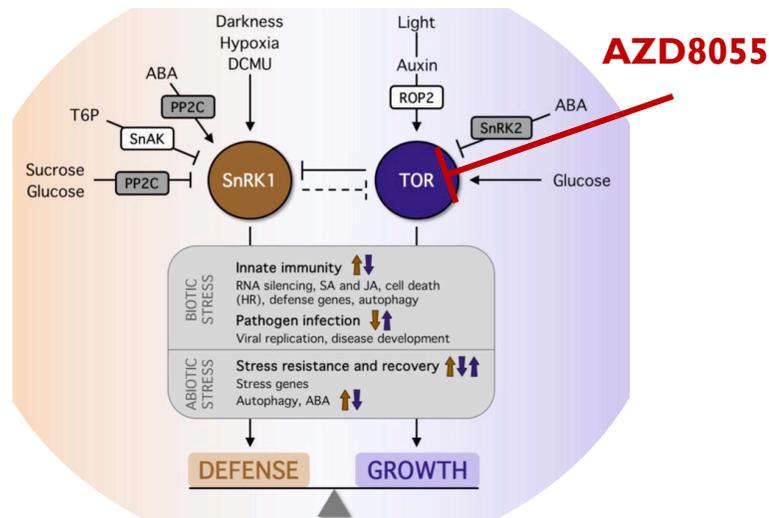
Margalha et al 2019; J Exp Bot

RESPOSTA DA PLANTA À PRODUÇÃO DE AUXINAS POR *Azospirillum brasilense*



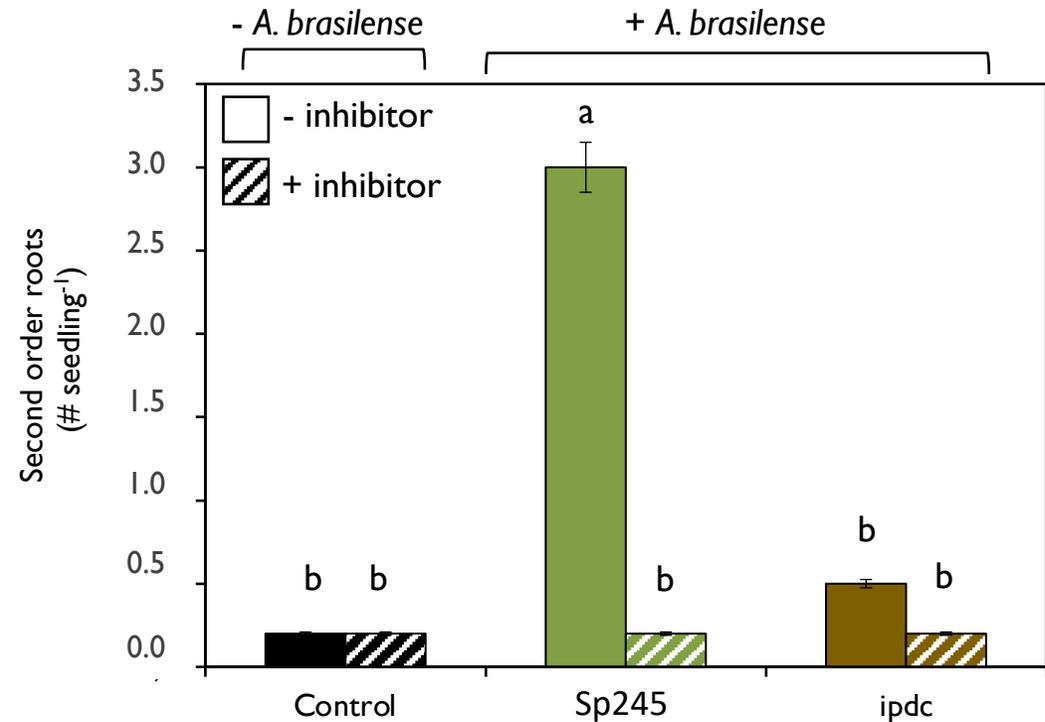
Margalha et al 2019; J Exp Bot

RESPOSTA DA PLANTA À PRODUÇÃO DE AUXINAS POR *Azospirillum brasilense*



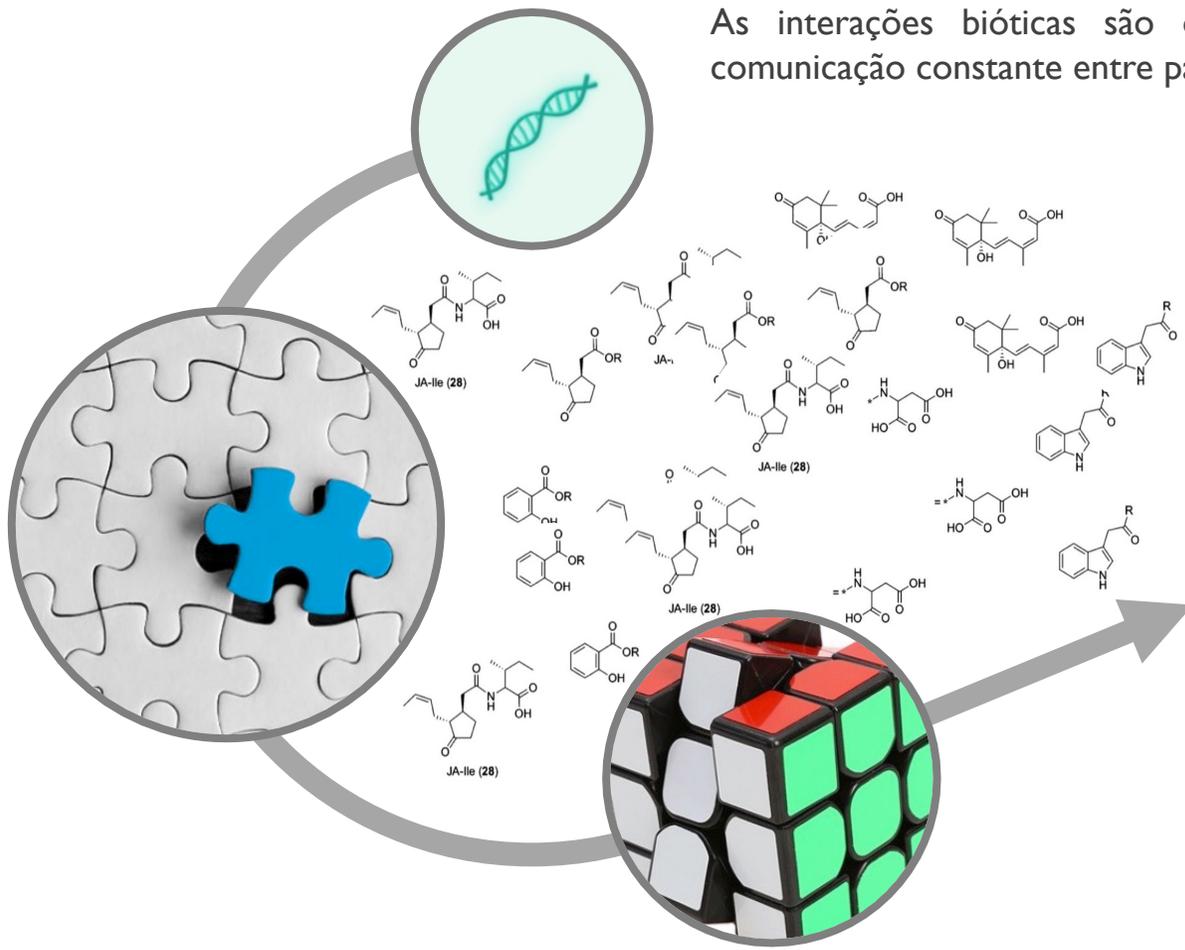
Reguladores da atividade do TORC em células de mamíferos e de plantas.

Margalha et al 2019; J Exp Bot

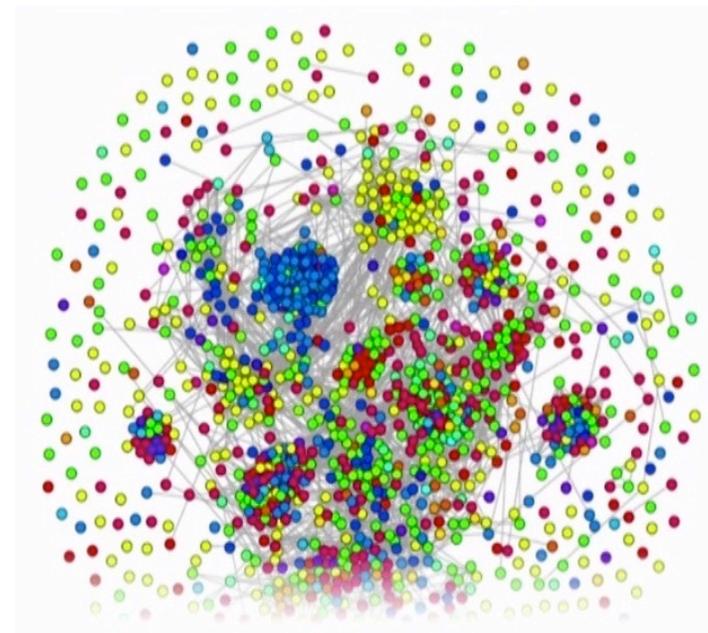


Formação de raízes de segunda ordem em plântulas de trigo não inoculadas (controlo) e inoculadas com *Azospirillum brasilense* WT (Sp245) ou mutante deficiente na produção de ácido indol-acético (ipdc).

Garcia – Mina et al 2020; submitted.



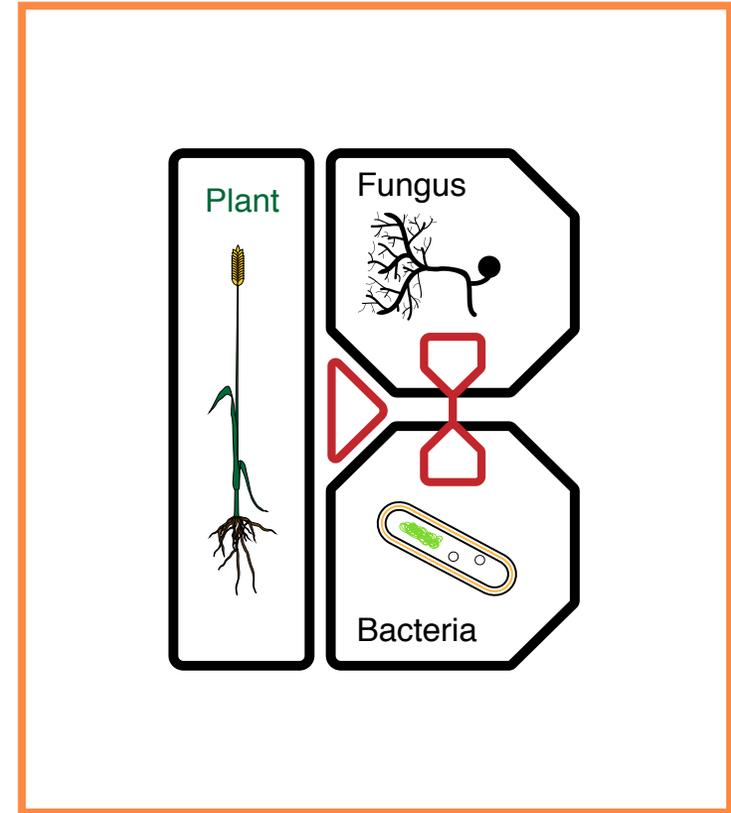
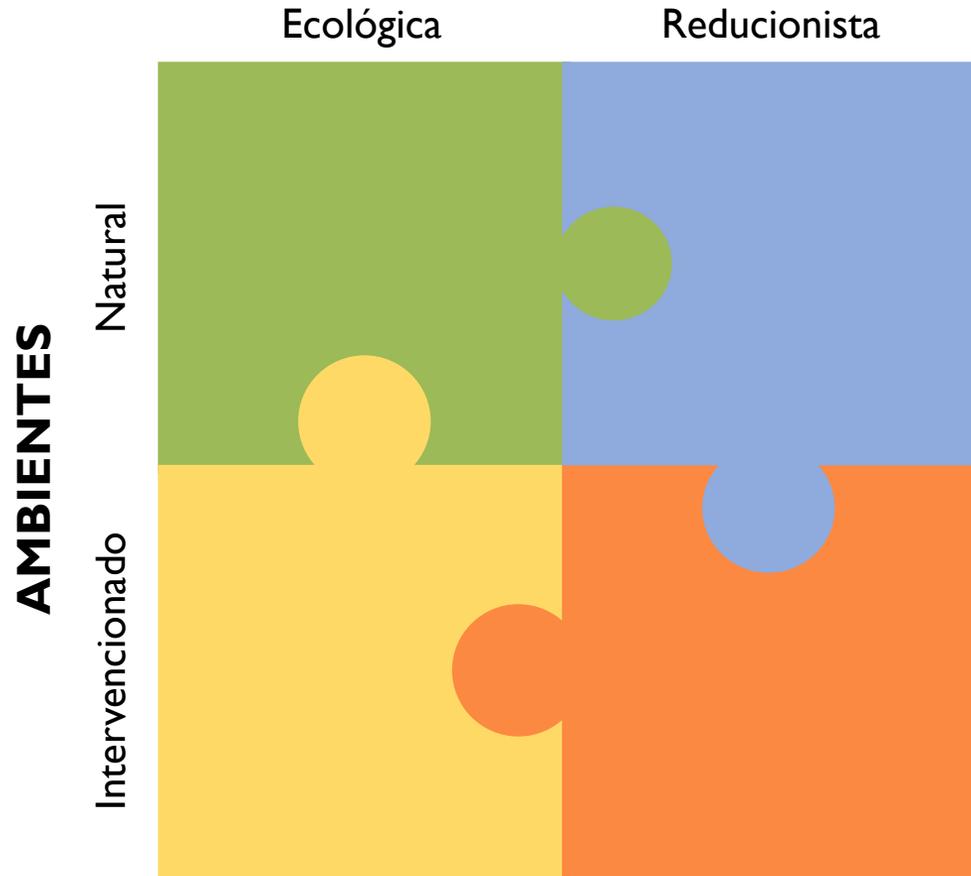
As interações bióticas são otimizadas por uma comunicação constante entre parceiros



As fito-hormonas são parte integrante dessa linguagem comum

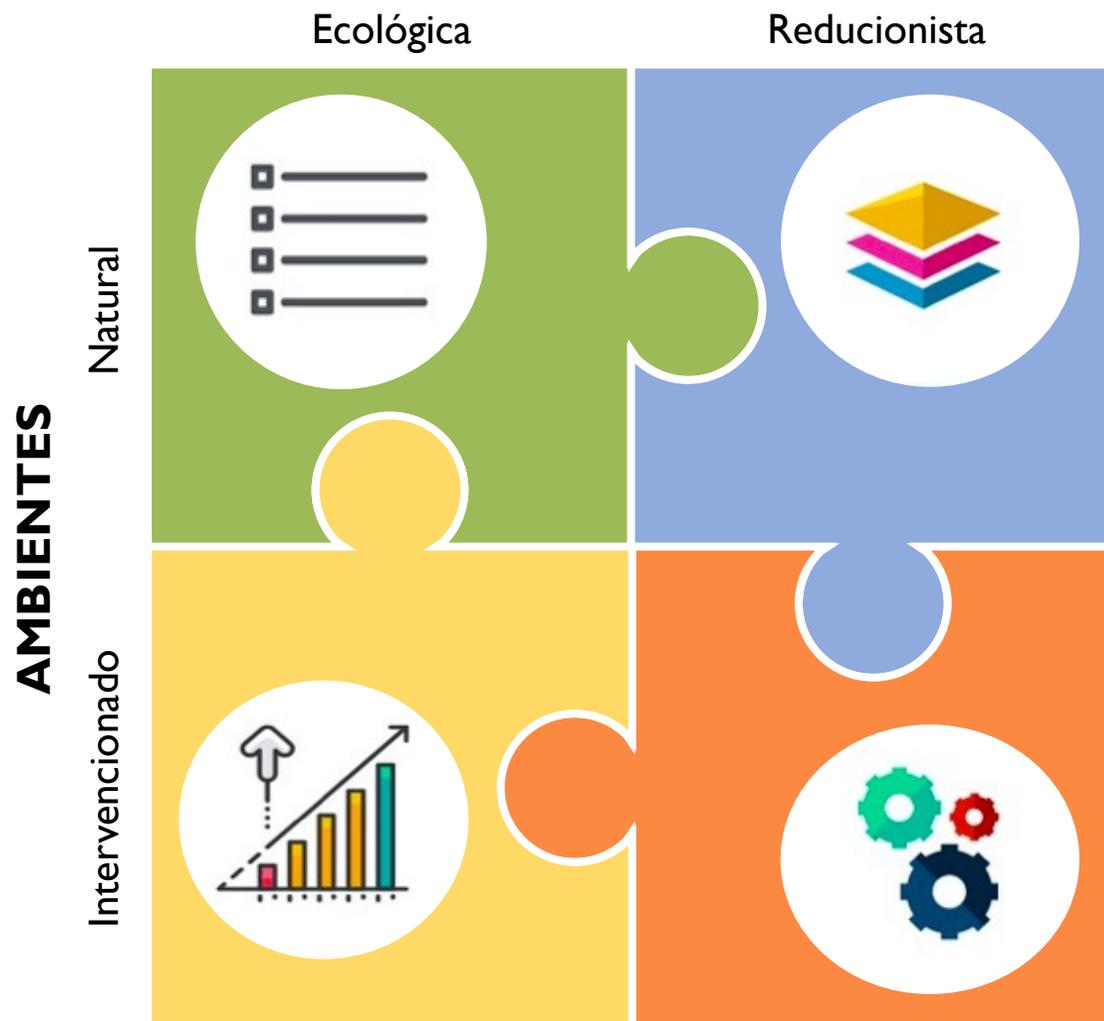


ABORDAGENS



MELHORES RESPOSTAS ÀS ALTERAÇÕES GLOBAIS

ABORDAGENS



Universalidade dos mecanismos em contextos biológicos emergentes

Vínculos entre microbioma e saúde das plantas e do ecossistema



Melhores respostas às Alterações Globais

