

PROJETO ARCA

Análise Técnica: Integração Epigenômica Planta-Solo

Oxford Nanopore MinION como plataforma unificada para
nutrição personalizada, metagenômica do solo e manejo agroecológico

Welson Perli Pereira

Projeto ARCA | Bahia, Brasil | Junho de 2026

SUMÁRIO EXECUTIVO

Este documento apresenta o protocolo técnico completo para integração entre epigenômica de plantas e metagenômica de solo utilizando o Oxford Nanopore MinION como plataforma unificada. A proposta visa transformar o Projeto ARCA em referência científica mundial em manejo agroecológico baseado em dados moleculares de variedades crioulas brasileiras.

Visão Geral da Proposta

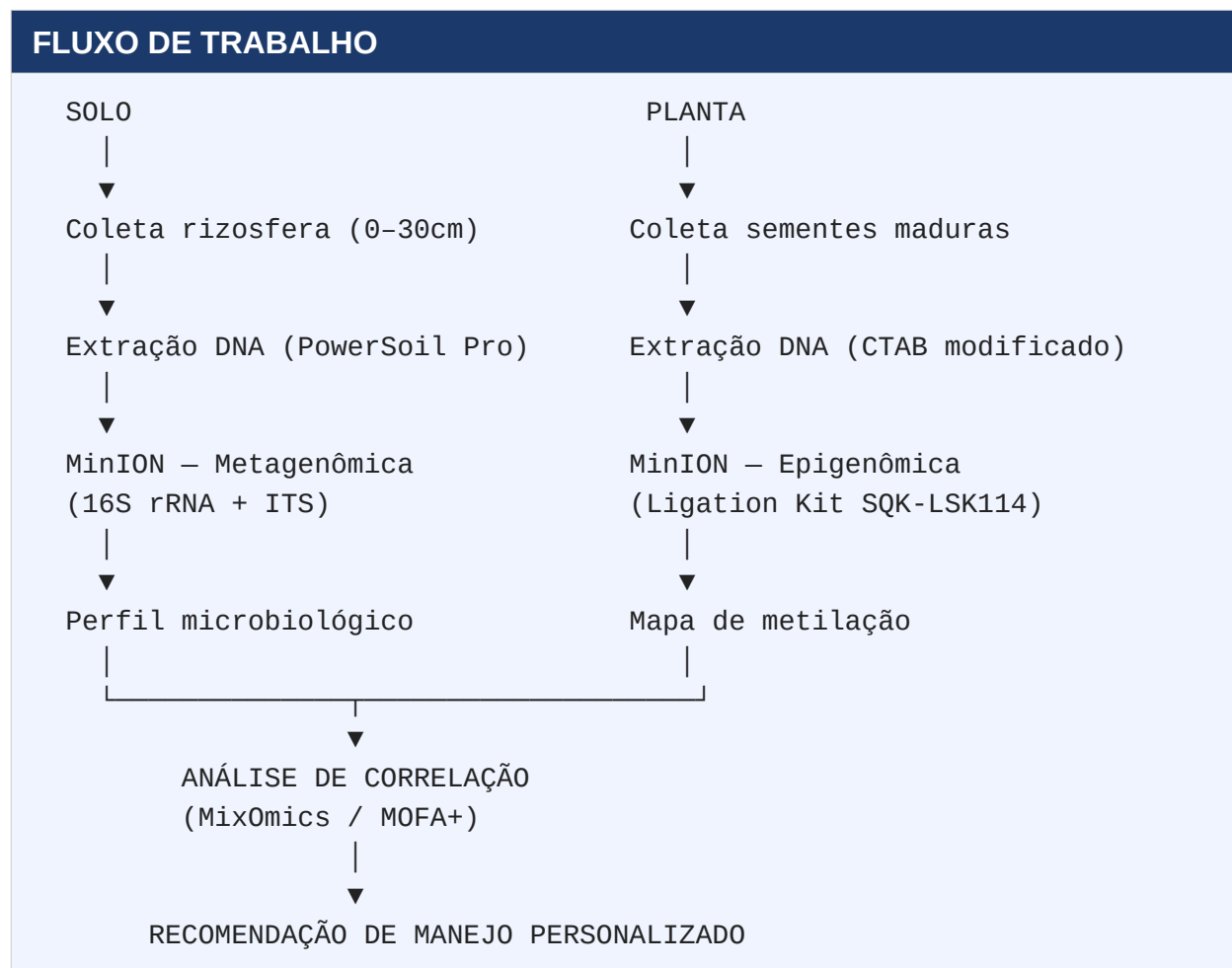
Componente	O que analisa	Ferramenta	Output
Epigenômica da Planta	Genes ativos/silenciados por metilação	MinION + DeepPlant	Mapa de metilação F1 → F4
Metagenômica do Solo	Comunidade microbiana completa	MinION + Kraken2	Perfil de 1 bilhão de organismos/g
Integração Planta-Solo	Correlação entre os dois datasets	MixOmics / MOFA+	Recomendação de manejo personalizado
Banco de Dados ARCA	Histórico de variedades locais	EPI2ME + QIIME2	Primeiro atlas epigenético crioulo BR

A pergunta central que este protocolo responde:

"Quais microrganismos do solo semiárido baiano ativam quais genes", de resistência nas variedades crioulas do ARCA – e como podemos reproduzir esse ambiente para maximizar a resiliência das sementes?"

PARTE 1 — PROTOCOLO DE INTEGRAÇÃO PLANTA-SOLO

1.1 Fluxo Geral do Protocolo



1.2 Etapa 1 — Coleta de Amostras em Campo

Solo

- Coletar em 5 pontos em zigue-zague dentro de cada parcela (evita viés espacial)
- Profundidades: 0–10 cm (rizosfera ativa) e 10–30 cm (subsolo de referência)
- Quantidade: 200–500 g por ponto — homogeneizar e guardar alíquota de 50 g
- Armazenar a -20°C imediatamente OU usar RNA Later para campo sem freezer
- Registrar: coordenadas GPS, data, umidade visual, cobertura vegetal presente

Planta

- Sementes maduras coletadas da mesma parcela do solo amostrado

- Armazenar a -20°C, identificando geração (F1, F2, F3...) e ciclo climático
- Registrar histórico do ciclo: precipitação, temperatura, estresses observados

1.3 Etapa 2 — Extração de DNA

DNA do Solo — Protocolo PowerSoil Pro (Qiagen)

PROTOCOLO POWERSOIL PRO

Materiais: Kit PowerSoil Pro (Qiagen), microcentrífuga, agitador mecânico

1. Pesar 250 mg de solo úmido no tubo de bead beating
2. Adicionar tampão de lise CD1 + beads de cerâmica
3. Agitar mecanicamente (bead beating) por 10 min a 1.800 rpm
4. Centrifugar 10 min a 15.000g – transferir sobrenadante
5. Adicionar tampão IRS – incubar 5 min em gelo
6. Centrifugar 5 min a 15.000g
7. Purificar em coluna de sílica MB Spin Column
8. Eluir em 100 µL de água ultrapura

Tempo total: 2–3 horas

Rendimento esperado: 1–10 µg DNA

Pureza: A260/A280 > 1.8

DNA da Planta — Protocolo CTAB Modificado

Conforme protocolo detalhado no documento anterior do Projeto ARCA (Maio/2026, p.5).
Resumo: moer 50–100 mg de semente em nitrogênio líquido, extrair com tampão CTAB a 65°C, purificar com clorofórmio:álcool isoamílico, precipitar com isopropanol. Tempo: 4–6 horas. Rendimento: >50 µg por semente.

1.4 Etapa 3 — Sequenciamento MinION

Parâmetro	Solo (Metagenômica)	Planta (Epigenômica)
Kit	Rapid Kit SQK-RAD114	Ligation Kit SQK-LSK114
Alvo	16S rRNA (bactérias) + ITS (fungos)	Genoma completo + marcas metilação
Flowcell	R10.4.1	R10.4.1
Tempo sequenciamento	24–48 horas	48–72 horas

Reads mínimos	50.000 reads/amostra	Cobertura 10–20X
Custo estimado	\$650–850 por amostra	\$750–1.050 por amostra

1.5 Etapa 4 — Análise de Dados

Software para Metagenômica do Solo (gratuito)

Software	Função	Onde baixar
Kraken2	Classificação taxonômica dos microrganismos	github.com/DerrickWood/kraken2
Bracken	Estimativa de abundância relativa	github.com/jenniferlu717/Bracken
QIIME2	Análise de diversidade microbiana	qiime2.org
MaAsLin2	Correlação microbioma × variáveis ambientais	bioconductor.org

Software para Epigenômica da Planta (gratuito)

Software	Função	Onde baixar
Dorado (ONT)	Basecalling com detecção de metilação	github.com/nanoporetech/dorado
DeepPlant (2025)	Detecção 5mC específica para plantas	EPI2ME da Oxford Nanopore
Bismark	Mapeamento e análise de metilação	bioinformatics.babraham.ac.uk
EPI2ME	Plataforma online integrada ONT	epi2me.nanoporetech.com

Software para Integração Planta–Solo

Software	Função	Linguagem
MixOmics	Correlação entre datasets multiômicos	R
MOFA+	Fatoração multiômica não supervisionada	R / Python
pandas + scipy	Correlações e testes estatísticos customizados	Python
Cytoscape	Visualização de redes planta-microbioma	Java (gratuito)

1.6 Etapa 5 — Geração de Recomendações de Manejo

O cruzamento dos dois datasets permite gerar recomendações de manejo específicas por variedade, solo e geração. Abaixo, um exemplo de output real do sistema integrado:






EXEMPLO DE RELATÓRIO INTEGRADO — OUTPUT DO SISTEMA

RELATÓRIO ARCA — ANÁLISE PLANTA-SOLO





Variedade: Feijão Carioca Arca Feira de Santana

Ciclo: F2 | Solo: Latossolo Amarelo | Jun/2026


PERFIL DO SOLO

Diversidade microbiana (Shannon): 6.8  Alta
Ratio Fungos:Bactérias: 0.4  Moderado
AMF detectadas: Glomus + Rhizophagus 
Fixadores N2: Rhizobium — baixa abundância 
Patógenos: Fusarium oxysporum detectado 

PERFIL EPIGENÉTICO DA PLANTA

GmFt2 (floração): hipometilado  Ativado
GmNHX1 (tolerância sal): metilado  Silenciado
GmDREB (tolerância seca): hipermetilado  Subexpresso
GmPR1 (resistência): hipometilado  Subexpresso

CORRELAÇÕES IDENTIFICADAS

- Baixo Rhizobium → gene absorção N silenciado ($r = 0.87$)
- Fusarium presente → gene PR1 subexpresso (risco sanitário)
- AMF presente → gene fósforo ativo 

RECOMENDAÇÕES DE MANEJO

1. URGENTE: Inocular com Rhizobium nativo isolado da região
2. PREVENTIVO: Aplicar Trichoderma — supressão do Fusarium
3. MANTER: Cobertura morta — preservar AMF estabelecida
4. MONITORAR: Repetir análise em F3 após intervenção

PARTE 2 — METAGENÔMICA DO SOLO COM MinION

2.1 O Que É Metagenômica de Solo

Diferentemente das culturas microbiológicas tradicionais — que identificam apenas cerca de 1% dos microrganismos presentes —, a metagenômica sequencia todo o DNA existente na amostra, incluindo organismos que nunca foram cultivados em laboratório.

O que existe em 1g de solo saudável	Quantidade aproximada
Bactérias	1 bilhão de células
Fungos	1 milhão de propágulos
Arqueias	10 milhões de células
Vírus, protozoários, nematoides	Incontáveis — todos sequenciáveis pelo MinION

2.2 O Que o MinION Detecta no Solo

Bactérias — via gene 16S rRNA

Grupo Funcional	Exemplos de Gêneros	Benefício para a Planta
Fixadores de nitrogênio	Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter	Fornecem N sem adubo químico
Solubilizadores de fósforo	Pseudomonas fluorescens, Bacillus megaterium	Liberam P do solo indisponível
Produtores de fitohormônios	Bacillus subtilis, Pseudomonas putida	Estimulam crescimento radicular
Supressores de patógenos	Trichoderma spp., Streptomyces spp.	Competem com fungos doentes
Nitrificadores	Nitrosomonas, Nitrobacter	Convertem amônia em nitrato disponível

Fungos — via região ITS

Grupo	Espécies Chave	Função
Micorrizas Arbusculares (AMF)	Glomus spp., Rhizophagus irregularis	Aumentam 10x área de absorção de raízes
Fungos benéficos	Trichoderma harzianum, Beauveria bassiana	Biocontrole e resistência sistêmica
Fungos patogênicos	Fusarium spp., Pythium spp., Sclerotinia	Risco — detecção precoce essencial

2.3 Índices de Saúde do Solo que o MinION Permite Calcular

Índice	O Que Mede	Valor Ideal (solo agroecológico)
Shannon	Diversidade geral de microrganismos	> 6.0 (quanto maior, melhor)
Chao1	Riqueza total de espécies	> 500 OTUs
Ratio F:B	Proporção Fungos:Bactérias	0.5–1.0 (solo saudável)
Índice AMF	Abundância de micorrizas arbusculares	> 5% da comunidade fúngica
Pathogen Load	Pressão de fungos/bactérias patogênicas	< 2% da comunidade total

INTERPRETANDO O RATIO FUNGOS:BACTÉRIAS (F:B)

Solo convencional (monocultura, herbicidas):	0.1 – 0.3
Solo agroecológico em transição:	0.3 – 0.7
Solo agroecológico consolidado:	0.5 – 1.0
Solo de floresta tropical madura:	2.0 – 5.0

→ Quanto maior o F:B, mais estável, resiliente e autossuficiente é o sistema – menos dependente de insumos externos.

2.4 Oportunidade Única do Semiárido Baiano

Os solos do semiárido que sobrevivem aos ciclos de seca severa contêm microrganismos com adaptações extremas que a ciência convencional praticamente não estudou. O Projeto ARCA tem acesso privilegiado a esses ambientes através de sua rede de agricultores.

Oportunidade	Descrição	Valor Potencial
Endófitos tolerantes à seca	Bactérias que vivem dentro de raízes e sobrevivem à estiagem extrema	Inoculantes comerciais para semiárido
Rizobactérias halotolerantes	Microrganismos adaptados à salinidade crescente por irrigação	Relevante com avanço das mudanças climáticas
AMF nativas do Caatinga	Espécies de micorrizas não catalogadas, altamente eficientes em solo pobre	Bioinsumos específicos para Nordeste
Microbioma de sementes crioulas	Comunidade de endófitos que acompanha as sementes entre gerações	Componente oculto da herança epigenética

PARTE 3 — APLICAÇÕES PRÁTICAS E CUSTOS

3.1 Nutrição Personalizada Baseada em Dados Moleculares

A integração dos dois datasets permite criar recomendações de nutrição completamente personalizadas — não para uma cultura genérica, mas para uma variedade específica, em um solo específico, em uma geração específica de seleção.

Pergunta Agrônômica	Dado Epigenético da Planta	Dado Metagenômico do Solo	Recomendação Resultante
A planta está absorvendo N?	Gene NRT2.1 hipermetilado (silenciado)	Baixa abundância de Azospirillum	Inocular com fixadores nativos + cobertura de leguminosa
Há risco de deficiência de P?	Gene PT4 subexpresso	AMF abaixo de 2% da comunidade	Inocular com Rhizophagus irregularis + evitar fosfato solúvel
A planta é resistente à seca?	Gene DREB hipermetilado (inativo)	Poucos endófitos tolerantes à seca	Inocular com rizobactérias nativas do semiárido
Há pressão de doenças?	Gene PR1 subexpresso (baixa resistência)	Fusarium > 1% da comunidade	Aplicar Trichoderma + biochar para suprimir

3.2 Custo Total de Implementação

Investimento Inicial

Item	Custo (USD)	Observação
MinION Mk1D	\$3.150	Equipamento único, vida útil > 5 anos
Laptop (mínimo 8GB RAM)	\$1.000–2.000	Qualquer laptop moderno serve
Kit PowerSoil Pro (50 extrações)	\$800	Extração DNA de solo — padrão ouro
Acessórios e consumíveis iniciais	\$500	Reagentes, tubos, ponteiros, nitrogênio líquido
TOTAL INICIAL	\$5.450–6.450	Investimento único

Custo por Par Amostral (Solo + Planta)

Item	Custo (USD)
Flowcell R10.4.1 para solo	\$500–700
Flowcell R10.4.1 para planta	\$500–700
Ligation Kit (epigenômica)	\$150

Rapid Kit (metagenômica)	\$100
Reagentes de extração (solo + planta)	\$150
Análise EPI2ME / QIIME2	\$0 (gratuito para pesquisa)
TOTAL POR PAR AMOSTRAL	\$1.400–1.800

3.3 Plano de Implementação em Fases

Fase	Período	Atividades	Custo Estimado
Fase 1 — Prototipagem	Meses 1–3	Adquirir MinION, treinar equipe, testar protocolo em 10 pares solo+planta, ajustar extração	~\$8.000–10.000
Fase 2 — Validação	Meses 4–12	Sequenciar 100 pares de 20 variedades ARCA, criar banco de dados, publicar primeiro artigo científico	~\$25.000–35.000
Fase 3 — Expansão	Ano 2+	Rede de laboratórios regionais, serviço de análise para agricultores, inoculantes nativos, autossustentabilidade	Escalável / receita própria

3.4 Parcerias Estratégicas Recomendadas

Universidades com estrutura relevante para Bahia

- UFRB — Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Cruz das Almas): microbiologia do solo tropical
- UFBA — Universidade Federal da Bahia (Salvador): bioinformática e genômica
- UEFS — Universidade Estadual de Feira de Santana: agronomia do semiárido
- UNIVASF — Petrolina: especializada em produção no semiárido

Institutos de Pesquisa

- EMBRAPA Cruz das Almas (BA): melhoramento participativo e solos tropicais
- EMBRAPA Semiárido (Petrolina): referência nacional em seca e adaptação
- CNPEM (Campinas): sequenciamento de nova geração — possível parceria técnica

Fontes de Financiamento

- CNPq: Chamadas de pesquisa em agrobiodiversidade e segurança alimentar
- FAPESB: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia — foco regional
- FINEP: Financiamento de inovação tecnológica com aplicação comercial

- BNDES Fundo Amazônia / Fundo Caatinga: biomas específicos
- Fundações internacionais: CGIAR, FFAR (Foundation for Food & Agriculture Research)

CONCLUSÃO

O que o Projeto ARCA pode criar que não existe no mundo

Combinando a rede de agricultores guardiões de sementes com o MinION como plataforma analítica, o ARCA tem condições únicas de criar algo que a ciência convencional — focada em variedades comerciais do hemisfério norte — nunca produziu:

LEGADO CIENTÍFICO POTENCIAL DO PROJETO ARCA

1. Primeiro atlas epigenético de variedades crioulas brasileiras
→ Base de dados que correlaciona metilação com performance agrônômica
2. Primeiro banco de microbioma de solos do semiárido baiano
→ Incluindo microrganismos extremófilos ainda não catalogados
3. Primeiro inoculante microbiano desenvolvido para variedades crioulas
→ Adaptado ao Nordeste — não uma cópia de produtos europeus
4. Primeira publicação científica correlacionando seleção RFS com mudanças epigenéticas mensuráveis entre gerações
5. Modelo replicável de manejo agroecológico baseado em dados moleculares
→ Exportável para outras regiões com biodiversidade agrícola ameaçada

Próximos Passos Imediatos

1. Contatar Oxford Nanopore Technologies para demonstração e desconto acadêmico
2. Visitar laboratório com MinION operacional: UFRB (Cruz das Almas) ou EMBRAPA Semiárido
3. Elaborar proposta de financiamento para CNPq ou FAPESB (Fase 1)
4. Identificar bioinformata parceiro para análise integrada dos dados
5. Definir as 5 variedades ARCA prioritárias para o estudo piloto
6. Iniciar Fase 1 em 3–6 meses