

***Wheatbiome*: desvendar as interações entre solo, microbioma e planta para uma produção de trigo mais sustentável**

***Wheatbiome*: unrevealing soil, plant and microbiome interactions for sustainable wheat production**

Rute Duarte^{1,2,*}, Anabela Cachada^{3,4}, João Oliveira-Pacheco^{1,2}, Antoine H.P. America⁵, Jesus Lopez⁶, Ruud Timmer⁵, Susana M.P. Carvalho^{1,3} & Ruth Pereira^{1,2}

¹GreenUPorto - Centro de Investigação em Produção Agroalimentar Sustentável / Inov4Agro, Campus de Vairão, Rua da Agrária 747, 4485-646 Vairão, Portugal

²Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre s/n, 4169-007 Porto, Portugal

³DGAOT, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre s/n, 4169-007 Porto, Portugal

⁴CIIMAR, Novo Edifício do Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, Avenida General Norton de Matos, S/N, 4450-208 Matosinhos, Portugal

⁵Plant Sciences Group, Wageningen University & Research, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen, Netherlands

⁶Editorial Agrícola Española S.A., C/ Caballero de Gracia 24, 3º Izda 28013, Madrid, Spain

(*E-mail: ruth.crespo97@gmail.com)

<https://doi.org/10.19084/rca.38941>

Recebido/received: 2024.08.31

Aceite/accepted: 2024.10.25

R E S U M O

A produção de trigo enfrenta crescentes desafios devido à degradação do solo, com repercussão nos microrganismos do solo e no crescimento das plantas. O trabalho apresentado visa avaliar as interações entre propriedades físico-químicas do solo, microbioma do solo, práticas agrícolas e cultivares de trigo, para a colheita de 2023. Foram estabelecidos dois casos de estudos, no contexto do projeto *Wheatbiome*: Países Baixos (NL) para avaliar o efeito da cultivar e do tipo de solo; Espanha (SP) para avaliar o impacto das práticas sequeiro/regadio e orgânico/convenção na produção de trigo. O perfil fisiológico a nível comunitário (PFNC) do microbioma do solo foi verificado por *BiologTM Ecoplates*. Em NL, as propriedades do solo não refletiram o efeito da cultivar, obtendo-se apenas diferenças entre os tipos de solo, particularmente para o campo turfo-arenoso. O PFNC obtido para NL não indicou diferenças para os fatores em estudo. Em SP, o efeito das práticas agrícolas sobre as propriedades do solo e o PFNC foi inconclusivo, devido a diferenças entre os solos encontrados nos campos de amostragem. O campo de prática agrícola convencional de sequeiro destacou-se na sua textura, pH e PFNC, apresentando menor número de substratos utilizados, apesar da diversidade fisiológica comparável entre campos.

Palavras-chave: Diversidade funcional, *BiologTM Ecoplates*, microbioma do solo, *Triticum aestivum*.

A B S T R A C T

Wheat production, one of the most important cereal crops in the world, is facing rising challenges due to rapid soil degradation with repercussions on soil microorganisms and plant growth. This work aims to evaluate the interactions of soil physical-chemical properties, soil microbiome, agronomic practices, and wheat cultivars, for the 2023 harvest. Two case studies were established within the *Wheatbiome* project: The Netherlands (NL) to assess the effects of wheat cultivars and of distinct soil types; and Spain (SP) to examine the impact of irrigated *vs.* non-irrigated and organic *vs.* conventional practices on wheat production. The community-level physiological profile (CLPP) of the soil microbial community was accessed through *BiologTM Ecoplates*. In NL case study, the soil properties show no effect of the wheat cultivar, only reflecting the different soil types, particularly for the peatsand field. Also, CLPP indicated no differences overall for the factors in study. In SP, the effect of agricultural practices on soil properties and CLPP were inconclusive, due to distinct soil types encountered in sampling fields. Conventional non-irrigated field exhibited differences when compared to the others, particularly on its texture and pH. CLPP revealed a reduced number of substrates used for the same field, despite comparable physiological diversity.

Keywords: BIOLOG Ecoplates, functional diversity, soil microbiome, *Triticum aestivum*

INTRODUÇÃO

O trigo desempenha um papel fundamental na agricultura global, sendo o cereal mais produzido na Europa e o segundo a nível mundial (EC, 2024). Contudo, a FAO prevê a necessidade do aumento da sua produção em 11% até 2026, para satisfazer o crescimento populacional. A Comissão Europeia assume que 65% dos solos atuais (UE) estão danificados pelo uso prolongado e incorreto de práticas agrícolas, como a fertilização e a mecanização, responsáveis pela degradação dos solos, perda de biodiversidade e consequentemente, com efeitos negativos no rendimento das culturas (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2020; Wan *et al.*, 2021). O sucesso da produção de trigo depende de fatores genéticos e ambientais, das práticas agrícolas e propriedades inerentes do solo, que moldam a composição da planta e do microbioma da rizosfera e são fundamentais para promover a saúde das plantas, aumentar o rendimento e o conteúdo nutricional (Verdi *et al.*, 2022; Albahri *et al.*, 2023). Portanto, é essencial desbloquear todo o potencial do microbioma do solo e das plantas, já que até ao momento apenas 1% dos microrganismos conhecidos são cultiváveis (Chen *et al.*, 2020). Neste contexto, surge o projeto europeu *Wheatbiome*, que tem como objetivo contribuir para o conhecimento do papel do microbioma na produção de trigo sustentável, alinhando-se à Estratégia do Prado ao Prato. O projeto, iniciado em janeiro de 2023, é composto por um consórcio de 13 parceiros de 6 países (Portugal, Espanha, Polónia, Países Baixos, Lituânia e Hungria), com colaborações entre academia, indústria, intervenientes do sistema alimentar e autoridades governamentais. Como ponto de partida, foram estabelecidos dois casos de estudos: (1) Países Baixos (NL) para avaliar o efeito da cultivar de trigo e o tipo de solo; (2) em Espanha (SP) para avaliar o impacto de diferentes práticas agrícolas (sequeiro/regadio e orgânico/convencional) na produção de trigo. Os principais objetivos do projeto passam por compreender o efeito dos fatores bióticos/abióticos no desempenho das plantas, no microbioma do solo e na qualidade global do trigo, mas também o papel do microbioma indígena do trigo na fermentação e na qualidade alimentar (humana e animal) considerando a libertação de peptídeos relacionados à doença celíaca e compostos bioativos, na procura de baixo potencial imunogénico. Os objetivos finais são obter culturas de trigo mais nutritivas e

resilientes, de forma a validar as melhores práticas agrícolas sustentáveis e as comunidades microbianas correspondentes. A compreensão dos efeitos entre as propriedades do solo, as práticas agrícolas e o genótipo do trigo são o primeiro passo em direção ao objetivo final, sendo este o foco do presente trabalho. Para tal, realizou-se a caracterização física e química do solo e a análise da diversidade funcional da comunidade microbiana do solo, para os dois estudos de caso, nos Países Baixos (NL) e em Espanha (SP) para os dados obtidos para a primeira campanha de amostragem de solo, em 2023.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho Experimental

Os campos escolhidos para amostragem (nos Países Baixos e Espanha) tiveram por base informações essenciais como práticas de cultivo utilizadas e tipos de solo. Foram recolhidas amostras compostas de solo de 3 pontos de amostragem, à profundidade de 0-15 cm, em cada parcela selecionada, e armazenadas em gelo ou temperatura ambiente. No caso de estudo NL, localizado na região noroeste da Europa com clima oceânico, a amostragem foi realizada em diferentes campos da Universidade de Wageningen (WUR) de localização distinta, para obter 4 tipos de solo: medianamente argiloso (NL1), argiloso (NL2), turfo-arenoso (NL3) e muito argiloso (NL4) (Figura 1) para posterior análise do efeito do tipo de solo através da caracterização físico-química e análise BIOLOG. O campo Lelystad (WUR), composto por quadrantes com várias cultivares de trigo, tem como objetivo avaliar o efeito destas cultivares, sendo estas referidas como C1, C2, C3, C4 e C5 (desenho experimental de 5 cultivares x 2 parcelas do campo). O caso de estudo SP localiza-se em quintas comerciais de trigo na região de Zamora, a sul de Espanha e com clima mediterrâneo. Para o objetivo de avaliar a influência das práticas agrícolas, ou seja, o efeito dos sistemas de cultivo e das práticas de irrigação, foram selecionados três campos: convencional de regadio (F1); convencional de sequeiro (F2); orgânico de sequeiro (F3) (Figura 2). Três parcelas por campo foram selecionadas aleatoriamente, sendo recolhidas amostras compostas de solo, em três pontos de amostragem de cada parcela para a caracterização físico-química e ensaio BIOLOG.

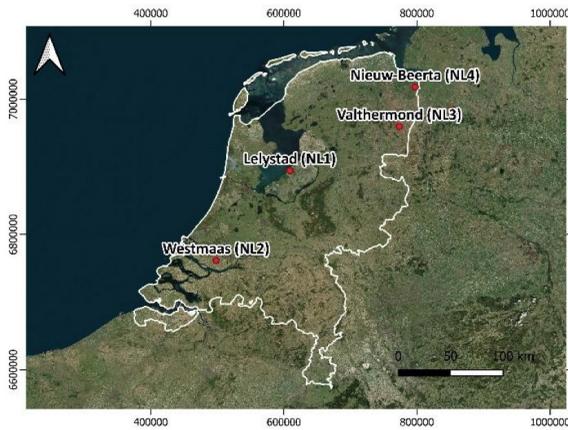


Figura 1 - Localização dos quatro campos amostrados no caso de estudo nos Países Baixos.

pelo método de perda por ignição (ignição a 550°C, 2 horas) (EN-15935, 2021), capacidade de retenção de água (CRA) (anexo E, ISO 11268:2023), azoto total (NT), carbono total (CT) pelo método por combustão via seca (LECO® CN828) pelas ISO 13878:1998 e ISO 10694:1995, teor de macro e micronutrientes extraíveis do solo (Mg, K, Ca, Zn, Fe, Cu) pelo método de extração Mehlich-3 (Mehlich, 1984) e determinado por espectroscopia de absorção atômica (GBC® Avanta S). O fósforo extraível foi determinado usando o método azul de molibdénio por espectrofotometria a 882 nm (Multiskan SkyHigh ThermoScientific™ A51119700), após o método de extração pelos métodos Olsen (GLOSOLAN-SOP-10, 2021) e Mehlich-3. A análise de elementos residuais, capacidade

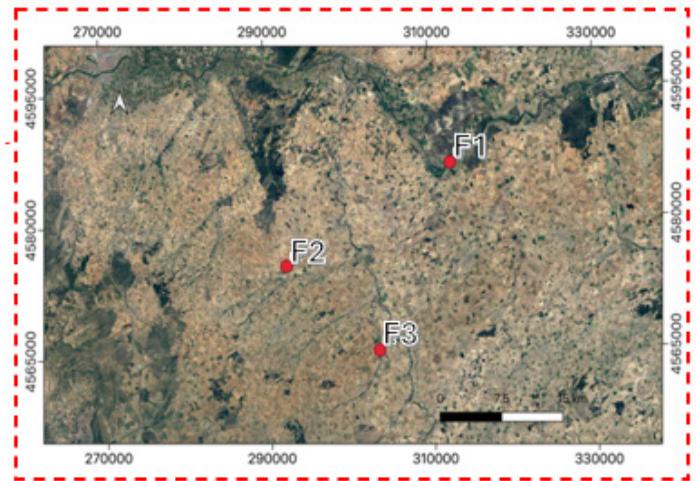


Figura 2 - Localização dos três campos amostrados no caso de estudo em Espanha.

Caracterização física e química do solo

Para a análise físico-química, o solo foi seco à temperatura ambiente e depois peneirado até à fração inferior a 2 mm. Foram selecionados vários parâmetros a avaliar, seguindo protocolos padrão sempre que possível: pH em solo:água (pHa) e solo:KCl (pHK) (1M) a 1:5 m/v (ISO 10390:2021) (Edge®, Hanna Instruments); condutividade elétrica (CE) analisada na mesma suspensão solo:água que a utilizada na medição do pH (Glosolan-SOP-07, 2021) (Edge®, Hanna Instruments); teor de matéria orgânica (MO)

de troca catiónica, a distribuição de partículas do solo e resíduos de pesticidas serão posteriormente analisados.

Perfil fisiológico a nível comunitário (PFNC)

A análise do perfil fisiológico da comunidade microbiana do solo foi realizada utilizando placas *Biolog™ Ecoplates*. O método permite obter informação acerca da diversidade funcional da comunidade

microbiana, através da metabolização de fontes de carbono, ao longo do tempo e espaço. O solo foi armazenado a 4°C e rapidamente analisado, de forma a evitar alteração no perfil funcional dos microrganismos. O pré-tratamento das amostras consistiu na adição de 5 g de solo a 45 ml de água destilada estéril, seguidos de 1 hora de agitação e 30 minutos de repouso. Após uma diluição de 10⁻², cada placa foi preenchida com volume de 150 µl por cada poço, num total de 96 poços (contendo 31 fontes de carbono e 1 controlo, juntamente com corante redox tetrazólio e em triplicado). O ensaio decorreu durante 96 horas (25 °C). A atividade da comunidade determinada por espectrofotometria a 590 nm (Multiskan SkyHigh ThermoScientific™ A51119700), a cada 24 horas, de forma a registar a redução do corante tetrazólio em proporção ao metabolismo da fonte de carbono contida nos poços, permitindo obter o desenvolvimento médio da cor do poço (DMCP) e três índices de diversidade: Shannon-Wiener, Equabilidade e Riqueza de espécies (Hao *et al.*, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No caso de estudo 1 (NL), para diferentes tipos de solo, foram observadas diferenças entre campos, nomeadamente no campo NL3 (turfo-arenoso), com valores significativamente mais baixos de pH_a, pH_K e EC, concomitantemente observado com a MO, o conteúdo total de C e N significativamente mais altos, quando comparado com os outros solos. Para o teor de nutrientes disponíveis, os

resultados apenas se destacam, mais uma vez para o campo NL3 com valor mais alto de Zn e valores mais baixos de Fe e Ca. O campo NL4 (solo muito argiloso) destacou-se com os valores mais altos de Mg e K. A comparação entre amostras de solo das 5 cultivares distintas, no mesmo campo (NL1) não revelou efeito significativo da cultivar de trigo nas propriedades do solo. Ao analisar o impacto de diferentes solos no perfil funcional da comunidade microbiana (PFNC), não foram encontradas diferenças significativas nos quatro campos em relação à atividade metabólica da comunidade, ao comparar o desenvolvimento médio da cor do poço (DMCP) entre os campos (Figura 3). Da mesma forma, não foram evidenciadas diferenças na diversidade fisiológica (pelo índice Shannon-Wiener), número de substratos de carbono utilizados (Riqueza de espécies) e sua uniformidade de atividades metabólicas em todos os substratos (Equabilidade).

No caso de estudo 2 (SP), para avaliar o efeito de diferentes práticas agrícolas, o campo convencional de sequeiro (F2) apresentou valores significativamente mais baixos de pH_a, pH_K e CE, quando comparado com os outros campos. Enquanto o campo F3 (orgânico de sequeiro), apresentou um teor de MO significativamente mais alto, CT e NT, bem como CRA. Quanto ao teor de nutrientes do solo, F2 exibiu os valores mais baixos de K, Mg, Ca, Zn e Cu, enquanto F3 exibiu os valores mais altos desses macro e micronutrientes do solo. No entanto, diferenças encontradas entre solos, dificultam a comparação direta e conclusões possíveis de retirar sobre o efeito das práticas agronómicas.

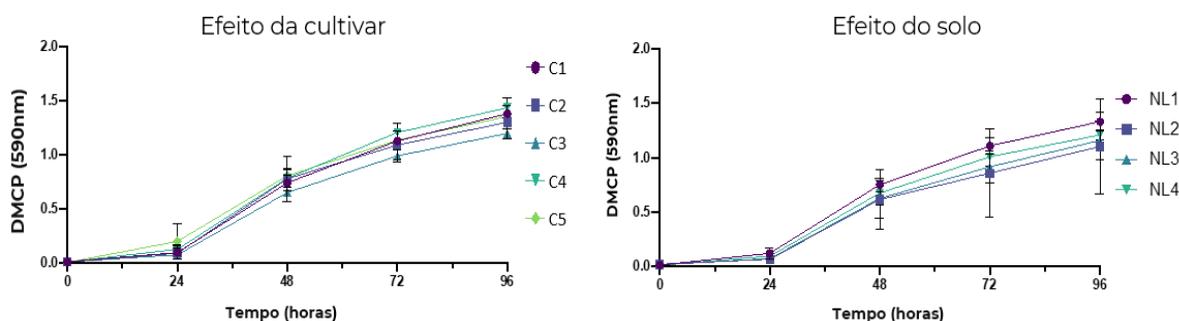


Figura 3 - Desenvolvimento médio da coloração dos poços (DMCP) Biolog™ Ecoplates, no caso de estudo 1 (PB): para o efeito de cultivar (cultivares C1, C2, C3, C4, C5) e efeito do tipo de solo (medianamente argiloso (PB1), argiloso (PB2), turfo-arenoso (PB3) e muito argila (PB4)). Não foram encontradas diferenças significativas de acordo com o teste não paramétrico *Friedman* e respetivas comparações com o *post-hoc Nemenyi*, ao longo das 96 h de ensaio.

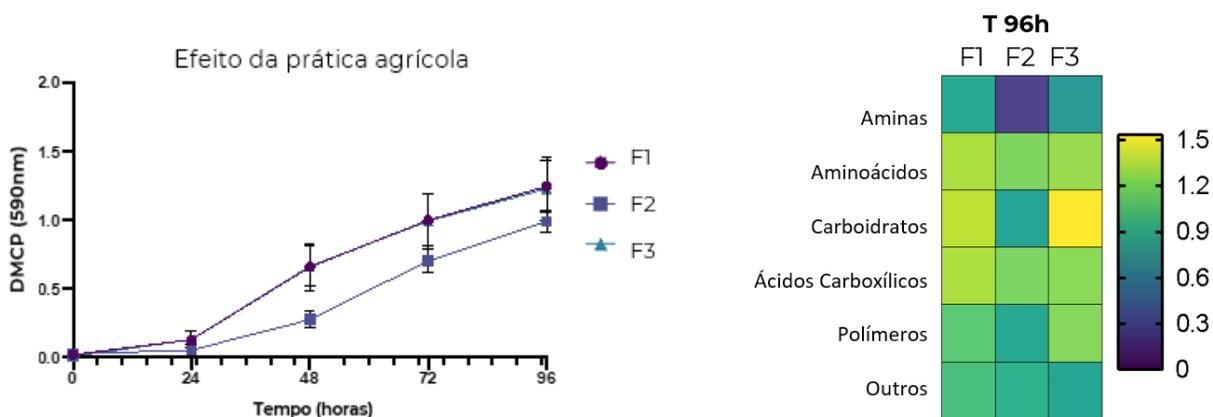


Figura 4 - Desenvolvimento médio da cor (DMCP) (esquerda) obtido nas placas Biolog™ Ecoplates no caso de estudo 2 (ES) para o efeito das práticas agrícolas nos três campos: convencional de regadio (F1), convencional de sequeiro (F2) e biológico de sequeiro (F3). Sem diferenças estatísticas encontradas ao longo das 96h de ensaio, após o teste não paramétrico *Friedman*, seguido do *post-hoc Nemenyi*. O mapa de calor (direita) obtido dos tratamentos acima referidos (após 96 h), revela baixa metabolização do grupo das aminas, dentro do total de seis grupos de substratos de carbono, com valor próximo de 0.

O PFNC para as práticas agrícolas revelou que as comunidades microbianas nos campos F3 e F1 (convencional de regadio) exibiram níveis semelhantes de atividade metabólica durante o ensaio. Em contraste, a comunidade microbiana no campo F2 apresentou atividade metabólica significativamente mais baixa (Figura 4). O índice de Shannon-Wiener revelou diferenças não significativas entre os campos para a diversidade fisiológica das comunidades microbianas, tal como para a abundância de uso de substrato de carbono, dada pelo índice de Equabilidade. No entanto, a comunidade microbiana em F2 demonstrou uma utilização geral mais baixa de fontes de carbono do que os outros campos (índice de Riqueza), particularmente fontes de carbono baseadas em aminas, como visível no gráfico com as 31 fontes de carbono agrupadas em 6 categorias. (gráfico à esquerda na Figura 4).

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados fazem parte de um estudo mais amplo, que em última análise, visa ajudar os agricultores de trigo a transitar em direção a práticas agrícolas mais sustentáveis. Na primeira análise, os resultados não demonstram efeito entre as propriedades do solo e a cultivar de trigo, nas diferentes tipologias de solo no caso de estudo nos Países Baixos. No caso de estudo em Espanha, para

o efeito de práticas agrícolas, a prática convencional de sequeiro exibiu diferenças em comparação com as restantes, podendo a prática de sequeiro explicar as diferenças na atividade metabólica e no perfil funcional (fontes de carbono utilizadas) da comunidade microbiana do solo. No entanto, diferenças no tipo de solo entre os campos não permitem apoiar esta hipótese. Análises mais aprofundadas, abrangendo o período de colheita de três anos (2023 a 2025) irão integrar dados da estrutura microbiana (análise metabarcoding) e isolados microbianos encontrados em amostras de solo, rizosfera, planta e grão, permitindo explorar as complexas interações entre os fatores bióticos e abióticos que moldam a saúde do solo e a produtividade agrícola.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi suportado pelo financiamento do projeto *Wheatbiome*- Programa Horizonte Europa (Nº 101084344), e pela FCT através dos fundos estratégicos obtidos UIDB/05748/2020 e UIDP/05748/2020 (referência DOI: 10.54499/UIDB/05748/2020 e 10.54499/UIDP/05748/2020) pela Unidade de Investigação, bem como pelo financiamento pessoal a Anabela Cachada (CEECIND/00058/2017, <https://doi.org/10.54499/CEECIND/00058/2017/CP1420/CT0001>).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albahri, G.; Alyamani, A.A.; Badran, A.; Hijazi, A.; Nasser, M.; Maresca, M. & Baydoun, E. (2023) - Enhancing Essential Grains Yield for Sustainable Food Security and Bio-Safe Agriculture through Latest Innovative Approaches. *Agronomy*, vol. 13, n. 7, art. 1709. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071709>
- Chen, Q.-L.; Ding, J.; Zhu, D.; Hu, H.-W.; Delgado-Baquerizo, M.; Ma, Y.-B.; He, J.-Z. & Zhu, Y.-G. (2020) - Rare microbial taxa as the major drivers of ecosystem multifunctionality in long-term fertilized soils. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 141, art.. 107686. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107686>
- Delgado-Baquerizo, M.; Reich, P.B.; Trivedi, C.; Eldridge, D.J.; Abades, S.; Alfaro, F.D.; Bastida, F.; Berhe, A.A.; Cutler, N.A.; Gallardo, A.; García-Velázquez, L.; Hart, S.C.; Hayes, P.E.; He, J.-I.; Hseu, Z.-Y.; Hu, H.-W.; Kirchmair, M.; Neuhauser, S.; Pérez, C.A.; Reed, S.C.; Santos, F.; Sullivan, B.W.; Trivedi, P.; Wang, J.-T.; Weber-Grullon, L.; Williams, M.A. & Singh, B. K. (2020) - Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology and Evolution*, vol. 4, p. 210–220. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1084-y>
- EC (2024) – *Cereals, oilseeds, protein crops and rice*. Agriculture and rural development. European Commission, Brussels [cit. 2024.08.10]. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/crop-productions-and-plant-based-products/cereals_en
- EN-15935 (2021) - *Soil, waste, treated biowaste and sludge. Determination of loss on ignition*. The European Committee for Standardization, 2021.
- GLOSOLAN (2021) - *GLOSOLAN-SOP-07: Network Standard operating procedure for soil electrical conductivity soil/water, 1:5*. Global Soil Laboratory.
- GLOSOLAN (2021) - *Standard operating procedure for soil available phosphorus - Olsen method*. GLOSOLAN-SOP-10. Global Soil Laboratory.
- Hao, M.; Hu, H.; Liu, Z.; Dong, Q.; Sun, K.; Feng, Y.; Li, G. & Ning, T. (2019) - Shifts in microbial community and carbon sequestration in farmland soil under long-term conservation tillage and straw returning. *Applied Soil Ecology*, vol. 136, p. 43-54. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00962>
- Mehlich, A. (1984) - Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, vol. 15, n. 12, p. 1409-1416. <https://doi.org/10.1080/00103628409367568>
- Verdi, L.; Marta, A. D.; Falconi, F.; Orlandini, S. & Mancini, M. (2022) - Comparison between organic and conventional farming systems using Life Cycle Assessment (LCA): A case study with an ancient wheat variety. *European Journal of Agronomy*, vol. 141, art. 126638. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126638>
- Wan, X.; Chen, X.; Huang, Z. & Chen, H.Y. (2021) - Global soil microbial biomass decreases with aridity and land-use intensification. *Global Ecology and Biogeography*, vol. 30, n. 5, p. 1056-1069. <https://doi.org/10.1111/geb.13282>