



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

**Efeito da aplicação de elicitores no desempenho agronómico
do Trigo**

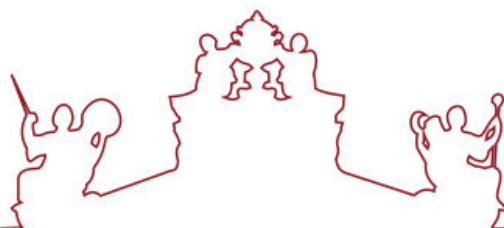
Ana Sofia Veríssimo Trindade

Orientador(es) | **Maria do Rosário Félix**

José Francisco Barros

Évora 2025





Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

**Efeito da aplicação de elicitores no desempenho agronómico
do Trigo**

Ana Sofia Veríssimo Trindade

Orientador(es) | Maria do Rosário Félix
José Francisco Barros

Évora 2025



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Carlos Manuel Rodrigues (Universidade de Évora)

Vogais | José Francisco Barros (Universidade de Évora) (Orientador)
Maria Doroteia Campos (Universidade de Évora) (Arguente)

Agradecimentos

Começo por agradecer aos meus orientadores Professora Maria do Rosário Félix e Professor José Francisco Calado Barros por terem aceitado fazer parte deste trabalho, por todo o apoio, disponibilidade e conhecimento que me proporcionaram durante todo o meu percurso académico e agora na realização deste trabalho.

Deixar mais uma palavra de agradecimento à Professora Maria do Rosário Félix por toda a amizade, por me motivar e fazer acreditar nas minhas capacidades.

Ao Professor José Francisco Calado Barros pela sua paciência e dedicação.

Deixar uma palavra de apreço à Engenheira Manuela Fernandes, pela amizade e por tudo o que fez para que este ensaio fosse possível e ao Sr. Orlando por todo o trabalho de campo.

À Engenheira Filipa Santos e ao Engenheiro Manuel Figo, pelo apoio na colheita do ensaio.

Ao Doutor André Albuquerque por todo o apoio e paciência, assim como a todo o pessoal do Laboratório de Virologia Vegetal.

Ao Eng. João Figueiredo, na qualidade de proprietário da Herdade da Lagoa por me ter possibilitado a realização dos ensaios.

Aos meus pais e irmã, por estarem sempre ao meu lado e serem o meu suporte. Sem vocês nada disto seria possível.

Ao André, que esteve sempre ao meu lado e me apoia em tudo.

A toda a família e amigos que tiveram sempre uma palavra de conforto e alento.

À minha avó Feliciano e ao meu avô Tomé, que fazem parte dos meus pilares e irão ver do céu a conclusão desta etapa.

Por fim, deixar um agradecimento sincero a todos os que de forma direta ou indireta contribuíram para este trabalho e para a conclusão desta etapa.

Resumo

O presente trabalho realizou-se no ano agrícola 2023/2024, numa herdade privada (Herdade da Lagoa) da região Alentejo (Évora), no sul de Portugal. O principal objetivo, foi estudar o efeito da aplicação de dois elicitores, *Ascophyllum nodosum* e quitosano, na produtividade e expressão de genes de defesa do trigo mole (*Triticum aestivum* L.) em condições de sequeiro e de regadio. Estudaram-se diferentes doses dos elicitores, em comparação com uma testemunha. Embora não se tenham observado diferenças significativas na produtividade, a análise da expressão génica revelou a ativação dos genes *APX8* e *GPXI*, associados ao sistema de defesa da planta do trigo contra o stress oxidativo. Os resultados demonstram que os elicitores podem contribuir para a tolerância da cultura a “stresses” bióticos e abióticos, reforçando o potencial destas substâncias como alternativas sustentáveis aos produtos de síntese química e alinhadas com as metas da agricultura sustentável e de baixo impacto ambiental.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.; *Ascophyllum nodosum*; Quitosano; Desempenho; Reforço do Sistema Imunitário

Effect of the application of elicitors on the agronomic performance of Wheat

Abstract

This study was conducted in the 2023/2024 agricultural year on a private farm (Herdade da Lagoa) in the Alentejo region (Évora), southern Portugal. The main objective was to study the effect of applying two elicitors, *Ascophyllum nodosum* and chitosan, on the productivity and expression of defense genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) under rainfed and irrigated conditions. Different doses of the elicitors were compared with a control. Although no significant differences in productivity were observed, gene expression analysis revealed activation of the *APX8* and *GPXI* genes, associated with the wheat plant's defense system against oxidative stress. The results demonstrate that elicitors can contribute to crop tolerance to biotic and abiotic stresses, reinforcing the potential of these substances as sustainable alternatives to chemically synthesized products and aligned with the goals of sustainable agriculture and low environmental impact.

Key words: *Triticum aestivum* L.; *Ascophyllum nodosum*; Chitosan; Performance; Immune System Boost

Índice Geral

1.	Introdução.....	1
2.	Revisão Bibliográfica.....	4
2.1.	A Cultura do Trigo.....	5
2.2.	A Produção de Trigo em Portugal	6
2.3.	Caracterização Botânica do Trigo Mole	11
2.3.1.	Taxonomia.....	11
2.3.2.	Morfologia.....	11
2.3.3.	Raiz.....	11
2.3.4.	Caule e folhas	12
2.3.5.	Inflorescência	13
2.3.6.	Grão	14
2.4.	Fases de Desenvolvimento do Trigo.....	15
2.5.	Espécies e Cultivares de Trigo.....	20
2.6.	Relação entre a Produção de Grão e os Componentes da Produção no Trigo .	21
2.7.	Elicitores	22
2.7.1.	Algas Marinhas	23
2.7.2.	Extratos de Plantas	25
2.7.3.	Hidrolisados de Proteínas.....	25
2.7.4.	Substâncias Húmicas.....	26
2.7.5.	Compostos Inorgânicos	26
2.7.6.	Microrganismos.....	26
2.7.7.	Outros Bioestimulantes	27
2.7.8.	Relação entre a Aplicação de Elicitores e a Produtividade.....	28
2.7.9.	Relação entre a Aplicação de Elicitores e a Resposta Génica das Plantas....	30
3.	Materiais e Métodos	31
3.1.	Descrição dos Ensaiois	32

3.2.	Caracterização Edafo-Climática das Parcelas dos Ensaios.....	33
3.2.1.	Caracterização Climática.....	33
3.2.2.	Caracterização Edáfica	35
3.2.3.	Análise de Solo	36
3.2.4.	Técnicas Culturais Utilizadas	37
3.3.	Tratamentos e Delineamento Experimental.....	39
3.4.	Observações e Determinações	40
3.4.1.	Produção de Grão por Unidade de Área.....	40
3.4.2.	Peso de 1000 grãos	41
3.4.3.	Número de grãos por unidade de área	42
3.4.4.	Índice de Colheita.....	42
3.4.5.	Matéria seca total por unidade de área	42
3.4.6.	Número de espigas por unidade de área	42
3.4.7.	Número de grãos por espiga	43
3.5.	Análise da Expressão de Genes	43
3.5.1.	Recolha das amostras.....	43
3.5.2.	Extração do RNA do material vegetal e síntese do DNA complementar.....	44
3.5.3.	Síntese do DNA complementar (cDNA).....	44
3.5.4.	Amplificação por PCR quantitativo (qPCR)	44
3.5.5.	Primers específicos	45
3.5.6.	Avaliação da Estabilidade da Expressão dos Genes.....	47
3.6.	Análise do Microbioma do Solo	47
3.6.1.	Extração de DNA do Solo	47
3.6.2.	Análise Metagenómica	47
3.7.	Análise Estatística.....	48
3.7.1.	Dos Parâmetros Agronómicos	48
3.7.2.	Da Expressão dos Genes.....	48

4. Análise e Discussão dos Resultados.....	49
4.1. Estudo da Componente Agronómica da Cultura do Trigo.....	50
4.1.1. Relação entre os Componentes da Produção, a Matéria Seca Total, o Índice de Colheita e a Produção de Grão	51
4.2. Estudos Genéticos Relacionados com a Cultura do Trigo.....	57
4.2.1. Análise Metagenómica	57
4.2.2. Análise de Expressão de Genes Relacionados com os “Stresses” Bióticos e Abióticos.....	61
5. Conclusão Geral	68
6. Perspetivas Futuras.....	70
7. Referências Bibliográficas	72
8. Anexos.....	86

Índice de Figuras

Figura 2.1. Importações líquidas de trigo para Portugal (média 2012-2021).....	7
Figura 2.2. Evolução da produção de trigo em Portugal desde a década de 1960 até 2022	8
Figura 2.3. Evolução da produtividade do trigo na Irlanda e em Portugal desde a década de 1960 até 2020.....	8
Figura 2.4. Precipitação (Prec) e temperaturas médias das mínimas (Tmin) e médias das máximas (Tmax) mensais em Évora.	10
Figura 2.5. Precipitação (Prec) e temperaturas médias das mínimas (Tmin) e médias das máximas (Tmax) mensais em Dublin.....	10
Figura 2.6. Raízes de trigo.....	12
Figura 2.7. Caule e folhas do trigo	13
Figura 2.8. Esquema de uma espiga e de uma espigueta de trigo	14
Figura 2.9. Esquema de um grão de trigo.....	15
Figura 2.10. Fases de desenvolvimento do trigo (Escala de Zadoks)	16
Figura 2.11. Germinação e emergência do trigo	17
Figura 2.12. Afilhamento do trigo	17
Figura 2.13. Espigamento e emborrachamento do trigo.....	18
Figura 2.14. Trigo em maturação técnica	19
Figura 3.1. Aspeto geral do ensaio de trigo de sequeiro	32
Figura 3.2. Clima de Portugal Continental, segundo a classificação de Köppen.....	34
Figura 3.3. Esquema dos ensaios desenhado em blocos com cada uma das repetições	40
Figura 3.4. Debulhadora fixa.....	41
Figura 3.5. Congelação de amostras de folhas em azoto líquido	43
Figura 4.1. Relação entre o número de grãos m-2 e a produção de grão no ensaio de sequeiro.....	53
Figura 4.2. Relação entre o número de espigas m-2 e a produção de grão no ensaio de sequeiro.....	53
Figura 4.3. Relação entre a produção de matéria seca total e a produção de grão no ensaio de sequeiro.....	54
Figura 4.4. Relação entre o número de grãos m-2 e a produção de grão no ensaio de regadio	55

Figura 4.5. Relação entre o número de espigas m-2 e a produção de grão no ensaio de regadio	55
Figura 4.6. Relação entre a produção de matéria seca total e a produção de grão no ensaio de regadio	56
Figura 4.7. Expressão do gene <i>APX</i> aos tratamentos com os elicitores	62
Figura 4.8. Expressão do gene <i>SOD1</i> aos tratamentos com os elicitores.....	63
Figura 4.9. Expressão do gene <i>TXN</i> aos tratamentos com os elicitores	64
Figura 4.10. Expressão do gene <i>APX8</i> ao tratamento com os elicitores	65
Figura 4.11. Expressão do gene <i>GPXI</i> aos tratamentos com os Elicitores	66

Índice de Quadros

Quadro 3.1. Dados climáticos no período de 1981 a 2010 (Estação Meteorológica de Évora)	34
Quadro 3.2. Dados climáticos no ano agrícola 2023/2024 (Estação Meteorológica de Évora)	35
Quadro 3.3. Algumas características físicas, químicas e analíticas do solo Pmg (Solos Mediterrâneos Pardos, de Materiais Não Calcários, Normais, de quartzodioritos)	36
Quadro 3.4. Calendário das operações culturais e aplicação de elicitores efetuadas nos dois ensaios (sequeiro e regadio), no ano agrícola de 2023/2024.	39
Quadro 3.5. Tratamentos efetuados com os elicitores	39
Quadro 3.6. Genes de referência com o tamanho dos amplicões. Pb: pares de bases ..	45
Quadro 3.7. Genes alvo e tamanho dos amplicões. pb: pares de bases.....	46
Quadro 4.1. Produção de grão (g m ⁻²) no ensaio de sequeiro	50
Quadro 4.2. Produção de grão (g m ⁻²) no ensaio de regadio.....	51
Quadro 4.3. Efeito dos diferentes tratamentos nos componentes da produção, na matéria seca total e no índice de colheita, no ensaio de sequeiro.....	52
Quadro 4.4. Efeito dos diferentes tratamentos nos componentes da produção, na matéria seca total e no índice de colheita, no ensaio de regadio	52

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrônimos

‰: Percentagem

°C: graus Celsius

a.C: Antes de Cristo

AAA-superfamily of ATPases: Cell division control protein

ANOVA: Análise de variância

APX4: Ascorbato peroxidase 4

APX8: Ascorbato peroxidase 8

CaO: Óxido de cálcio

CAT: Catalase

Cycle Threshold (Ct)

DNA: Ácido desoxirribonucleico

FMA: Fungos Micorrízicos Arbusculares

FNRII: ferredoxin-NADP(H) oxidoreductase

g ha⁻¹: gramas por hectare

g L⁻¹: gramas por litro

g.sa. ha⁻¹: gramas de substância ativa por hectare

g: grama

GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

GLU: Glutamato-amónia ligase

GPX1: Peroxidase de Glutathione 1

GPX4: Peroxidase de Glutathione 4

ha: hectares

INE: Instituto Nacional de Estatística

ITS1: Internal transcribed spacer 1

kg ha⁻¹: quilogramas por hectare

kg: kilogramas

L ha⁻¹: Litros por hectare

m: metros

m²: metro quadrado

mg: miligramas

ml: mililitro

mm: milímetro

ng ng: microlitro por nano grama

°C/s: Graus por segundo

p/p: peso por peso

PCR: ‘Polymerase Chain Reaction’

PGPRs- Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

Pmg - Solos Mediterrâneos Pardos, de Materiais Não Calcários, Normais, de quartzodioritos

qPCR: ‘Real-time quantitative polymerase chain reaction’

RNA: Ácido ribonucleico

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio

rpm: rotações por minuto

rRNA: Ácido ribonucleico ribossômico

Si: Silício

SO₃: Trióxido de enxofre

SOD - Mn: Superóxido dismutase envolvida na formação do manganês mitocondrial

SOD1: Superoxido dismutase 1

sp.: Espécie

spp.: Espécies

Trx: Thioredoxin

UTO: Unidades Taxonómicas Operacionais

μL: microlitro

1. Introdução

A discussão cada vez mais atual, no âmbito das estratégias “Farm to Fork” e “Green Deal” definidas pela União Europeia, relativamente ao fim da autorização de várias substâncias ativas, principalmente as que apresentam maior toxicidade para o homem, animais e para o próprio ambiente, tornou necessária a procura de novas soluções. Começaram, nos últimos anos, a surgir no mercado alternativas à base de substâncias naturais ou que não sofram processos de síntese. Assim, tem crescido a investigação de biomoléculas que promovem a indução da resistência vegetal, tendo determinadas substâncias naturais, as quais desencadeiam variadas respostas fisiológicas nas plantas, sido alvo de pesquisas nos últimos anos. Determinadas substâncias, influenciam o metabolismo de algumas espécies, podendo estar envolvidas na resposta de defesa pela produção de compostos secundários (Silva *et al.*, 2015). Segundo os mesmos autores, muitas vezes, os compostos produzidos pela planta, apresentam concentrações diferentes das encontradas na sua constituição, quando submetido à aplicação de elicitores, podendo esta informação evidenciar que determinadas vias de síntese bioquímicas podem ser fortemente influenciadas pela aplicação exógena de determinadas moléculas. Ainda, segundo Silva *et al.*, (2015), a utilização destas moléculas na agricultura tem como principal finalidade, garantir o desenvolvimento e a produtividade das culturas, reduzindo custos, danos à saúde e ao ambiente. Deste modo, os elicitores podem constituir uma ferramenta importante para a ativação da resistência sistémica adquirida, podendo fornecer informações fisiológicas das vias envolvidas na indução de defesa, em culturas que apresentam grande interesse económico. Portanto, o recurso a substâncias com propriedades elicitoras, como alternativa à utilização de alguns tratamentos fitossanitários comuns e melhoria da performance agronómica das culturas, tornou-se um objetivo pertinente para que consigamos produzir de forma mais sustentável e sem resíduos de produtos de síntese química, nas nossas culturas.

Desta forma, o presente trabalho, visa o estudo do efeito de dois elicitores, *Ascophyllum nodosum* e cloridrato de quitosano, na produtividade e expressão de genes de defesa do trigo mole (*Triticum aestivum* L.). Os elicitores são compostos orgânicos naturais que ativam o sistema imunitário da planta e desta forma auxiliam contra pragas, doenças, melhoram o desempenho agronómico e mitigam também o stress oxidativo, ROS.

Na análise de expressão de genes selecionaram-se como genes de referência *GAPDH* (*Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*), *Actina*, *FNR1* (*ferredoxin-*

NADP(H) oxidoreductase) e Cell division control protein (AAA-superfamily of ATPases) e genes alvo a estudar, Superóxido Dismutase Dependente de Manganês (SOD- Mn), Ascorbato Peroxidase 4 (APX4), Ascorbato Peroxidase 8 (APX8), Glutathione Peroxidase 1 (GPX1), Glutathione Peroxidase 4 (GPX4), Superóxido Dismutase 1 (SOD1), Thioredoxin (Trx), Catalase (CAT).

Assim, foi objetivo do presente trabalho, estudar o efeito de elicitores, como alternativa às soluções de síntese química, para que seja possível considerar-se um leque mais alargado de soluções atendendo às estratégias impostas.

2.Revisão Bibliográfica

2.1. A Cultura do Trigo

O trigo é uma gramínea da família Poaceae e género *Triticum* spp. sendo as espécies *Triticum aestivum* L. (trigo mole) e *Triticum turgidum* subsp. *durum* L. (trigo duro) as mais cultivadas em todo o mundo, ocupando uma área superior à cultura do arroz e inferior à cultura do milho sendo também, as mais consumidas na dieta mediterrânica (Vicente *et al.*, 2024). O trigo mole (planta hexaplóide) é utilizado para a produção de pão, bolachas e farinha de uso geral, enquanto o trigo duro (planta tetraploide) é utilizado principalmente, para a produção de massas alimentícias. A caracterização de trigo duro e trigo mole é aferida com base na resistência da semente, quando esmagada (Uthayakumaran & Wrigle, 2017). Pensa-se, que o trigo (planta C3) tenha sido originado de gramíneas silvestres, cujo centro de origem e domesticação é o chamado “Centro médio-oriental”, mais precisamente entre os rios Eufrates e Tigre no “crescente fértil”, na antiga Mesopotâmia (Baptistella, 2022). Para o mesmo autor, os primeiros relatos existentes de domesticação do trigo, datam de 9500 a.C. No entanto, os primeiros registos encontrados, datam do ano de 550 a.C., o que pode pronunciar, que o trigo seja já cultivado há mais de 2000 anos. Há igualmente registos, de que o trigo tenha sido cultivado na China, Palestina e Egito e no império Romano, o qual ficou conhecido como império do trigo, onde este era alimento destinado apenas às pessoas com alto poder de compra, pois aos mais pobres, só poderiam consumir cevada. A partir do mediterrâneo, o trigo foi transportado para toda a Europa chegando à América com Cristóvão Colombo, na época dos descobrimentos, em 1493.

Nomeados inicialmente de trigo Einkorn (*Triticum monococcum*) e trigo Emmer (*Triticum dicoccum*), são os trigos considerados como ancestrais do trigo atual, pensando-se que as espécies atuais deste, foram obtidas da hibridação das gramíneas selvagens destes dois ancestrais. O trigo Emmer, foi fruto do desenvolvimento genético, considerando-se um híbrido natural entre duas espécies *Triticum urartu* x *Triticum Aegilops*, com uma relação ancestral com o trigo Einkorn, fruto de espécies diploides. O Trigo *Durum* desenvolveu-se por meio de hibridação natural, tal como o trigo Emmer (Yara Portugal, 2025). Segundo Baptistella (2022), apesar de ainda ser cultivado em determinadas regiões específicas do mundo, o trigo Einkorn (*Triticum monococcum* L.) tem despertado interesse pelo facto de produzir um glúten menos alergénico, sendo uma alternativa para as pessoas celíacas.

Os trigos primitivos tinham espigas muito frágeis, as quais se partiam com relativa facilidade, quando atingiam a maturação técnica (maturação própria para a colheita). Para se conseguirem os tipos de trigo atuais, foram necessários muitos anos de investigação e melhoramento genético. Na verdade, o trigo desempenhou um papel de extrema importância e até preponderante nos avanços do melhoramento genético, durante a revolução verde, a qual teve lugar na década de 60. Nesta época, incorporou-se no genoma do trigo, genes relacionados com o tamanho da planta e o fotoperíodo (número de horas de luz), o que permitiu a obtenção de plantas de menor estatura, com vantagem numa menor propensão à acama (quebra da planta por exposição a agentes atmosféricos, como vento forte, granizo, etc.) e um menor tempo de floração, favorecendo assim, o aumento de produtividade da cultura. Deste modo, durante a revolução verde, a produção global anual de trigo, cresceu cerca de 400 % (Baptistella, 2022). Além das características anteriormente referidas, outras foram também, melhoradas no trigo, tais como sejam: resistência às principais doenças (ferrugens, oídio, septoriose ou mancha da gluma, etc.) tolerância à acidez do solo, o que será muito importante, pois a maioria dos solos portugueses são ácidos, qualidade tecnológica de grãos para diferentes utilizações, ciclo mais precoce, principalmente na fase de enchimento do grão e folhas mais eretas, o que irá aumentar a seletividade dos herbicidas aplicados em pós-emergência. Desde aí até à atualidade, o melhoramento do trigo tem avançado bastante, através do uso de marcadores moleculares, sequenciação, seleção genómica, transgénica e edição génica.

2.2. A Produção de Trigo em Portugal

Entre os cereais mais consumidos na dieta mediterrânica, está o trigo, o qual representa cerca de 20 % do total de proteínas consumidas (Vicente *et al.*, 2024). Em Portugal, cada habitante consome em média anualmente, cerca de 105 kg de trigo, mas apenas 5 % provém da produção nacional (INE, 2021), uma tendência que se alterou significativamente, quando comparada com os 39 % registados no início da década de 90.

Na verdade, ao longo das últimas décadas, Portugal tem-se tornado cada vez mais dependente da importação de trigo, o que representa um risco cada vez maior para a segurança alimentar do país. Portugal importa uma parte bastante significativa dos

bens alimentares que consome, sendo o setor dos cereais paradigmático disso mesmo, com o grau de autoaprovisionamento de trigo a estar próximo dos 5 % (INE, 2021), tal como referido anteriormente. A Figura 2.1, mostra as importações líquidas de trigo para Portugal (média 2012-2021).

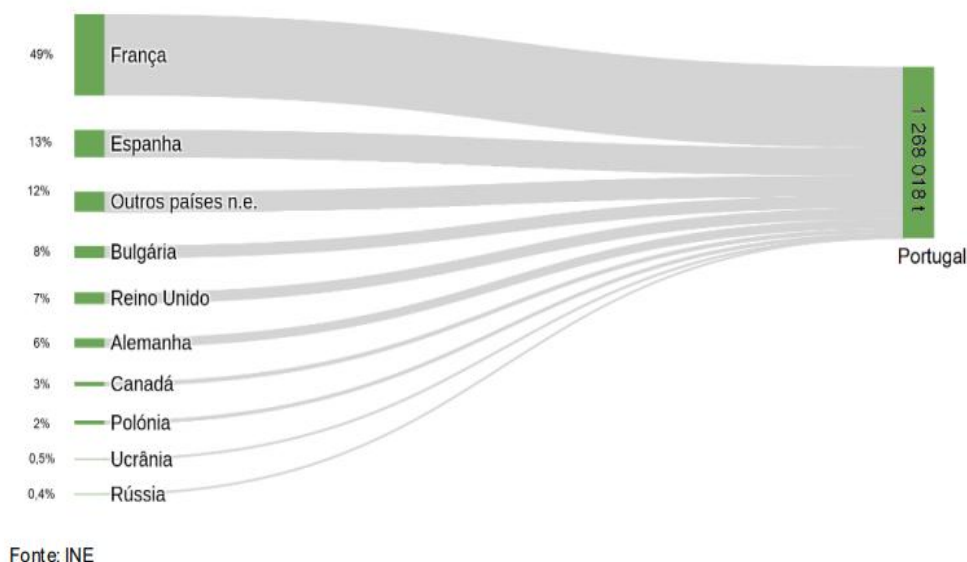


Figura 2.1. Importações líquidas de trigo para Portugal (média 2012-2021)

Fonte: INE, 2021

As razões para o acentuado e significativo decréscimo da produção de trigo (Figura 2.2) e dos cereais de outono-inverno no geral em Portugal, são as produtividades por unidade de área muito baixas, quando comparadas com outros países concorrentes, como por exemplo a Irlanda (Figura 2.3). Também, outras razões muito importantes para o desequilíbrio entre o trigo consumido e o produzido, são uma contínua diminuição da área cultivada ocorrida nas últimas décadas, como consequência de mudanças nas políticas agrícolas e, ainda, na preferência dos agricultores por outras culturas economicamente mais rentáveis, como o olival ou o amendoal (Vicente *et al.*, 2024).

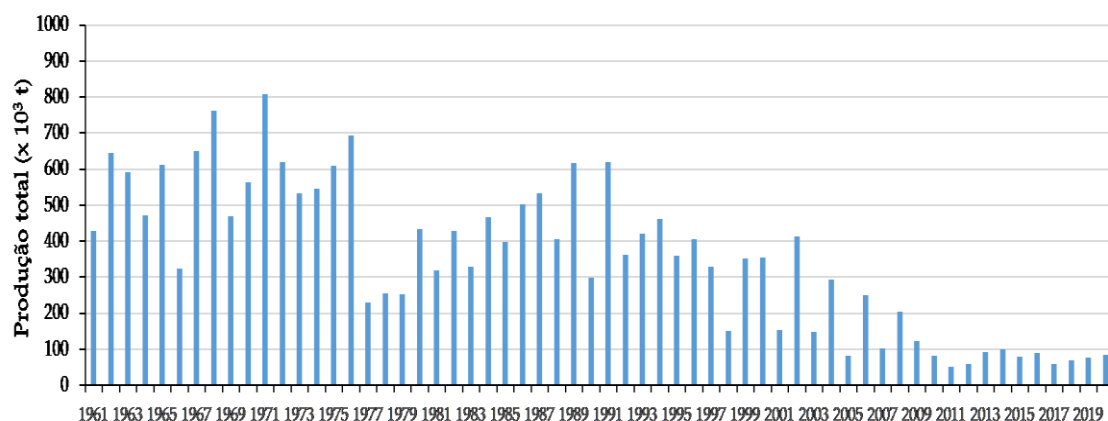


Figura 2.2. Evolução da produção de trigo em Portugal desde a década de 1960 até 2022

Fonte: FAOSTAT, 2022

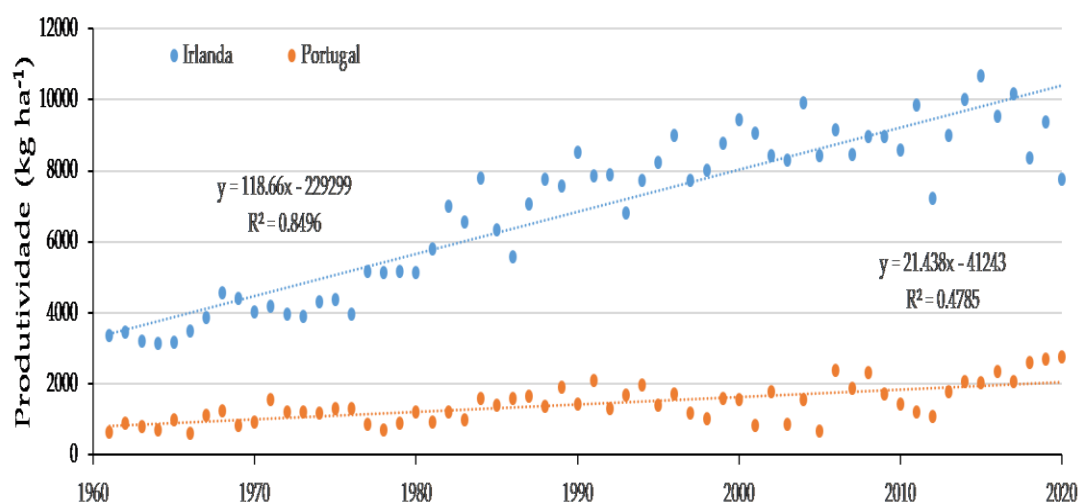


Figura 2.3. Evolução da produtividade do trigo na Irlanda e em Portugal desde a década de 1960 até 2020

Fonte: FAOSTAT, 2022

Verifica-se, que na Irlanda o acréscimo da produtividade ultrapassou largamente 100 kg ha^{-1} , enquanto em Portugal aumentou um pouco mais que 20 kg ha^{-1} , mesmo tendo em conta que, nos anos mais recentes, em algumas áreas, o trigo tem vindo a ser regado.

Nas últimas décadas e principalmente após a entrada na Comunidade Europeia, Portugal tem vindo a investir cada vez mais na agricultura, usando presentemente tecnologia e fatores de produção em nível idêntico aos dos outros países europeus. As

baixas produtividades da cultura do trigo, em Portugal estão relacionadas com o tipo de solo, mas principalmente com o clima e com as tecnologias como sejam: o potencial genético da semente, a adaptação das espécies e variedades às condições locais e as técnicas de cultivo, no geral (Burgess *et al.*, 2022). Sendo o trigo em Portugal tradicionalmente cultivado em condições de sequeiro, as produtividades são baixas quando comparadas com o que ocorre em latitudes mais elevadas, consequência principal da ação de variáveis ambientais, ou seja, em Portugal o clima não possibilita que se obtenham produtividades de trigo, semelhantes às da Irlanda, por exemplo (FAOSTAT, 2022).

Os principais constrangimentos aos cereais cultivados em sequeiro em Portugal, são as reduzidas precipitações e temperaturas muito elevadas que se registam a partir do mês de maio, inclusive (Figura 2.4), às quais se associam baixa humidade atmosférica e radiação excessiva. Estes fatores, provocam deficiência hídrica acentuada no solo, numa fase crucial do desenvolvimento destas culturas, que é a fase de enchimento do grão. Desse modo, não haverá água no solo suficiente para translocar os assimilados para o grão, ficando este pequeno, ou seja, pouco pesado.

Também, os cereais de outono-inverno são plantas de metabolismo C3, nas quais a fotossíntese líquida diminui rapidamente à medida que aumenta a temperatura, devido ao aumento da fotorrespiração, há necessidade de as plantas fecharem os estomas e de aumentar a respiração celular. As temperaturas ótimas para estes cereais nos quais se inclui o trigo, nas fases de grande expansão vegetativa, floração e enchimento do grão, situam-se entre 15 e 20 °C, como sucede na Irlanda (Figura 2.5), valores muito inferiores às temperaturas que se registam em Portugal a partir do mês de maio (Figura 2.4). Com temperatura elevada e humidade atmosférica baixa, aumenta a evaporação de água a partir do solo e a transpiração da planta, reduzindo a eficiência de uso da água. Em resumo, na Irlanda há mais água disponível (precipitação) e as plantas utilizam-na de forma mais eficiente (maior produtividade da água), o que origina uma enorme diferença na produtividade final da planta, relativamente a Portugal.

Tendo em conta que a estrutura de custos dos cereais, nomeadamente do trigo, é equivalente nos diferentes países, produtividades tão baixas como as que se obtêm em Portugal, reduzem drasticamente a receita dos produtores e originam o abandono da atividade (OERN, 2022).

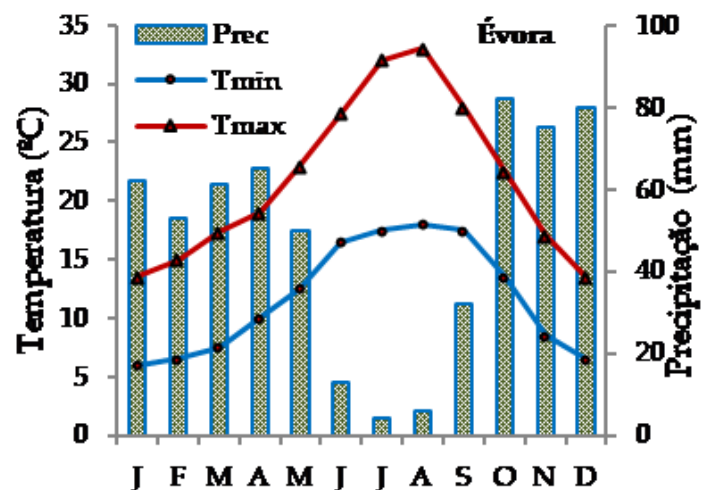


Figura 2.4. Precipitação (Prec) e temperaturas médias das mínimas (Tmin) e médias das máximas (Tmax) mensais em Évora.

Fonte: FAOSTAT, 2022

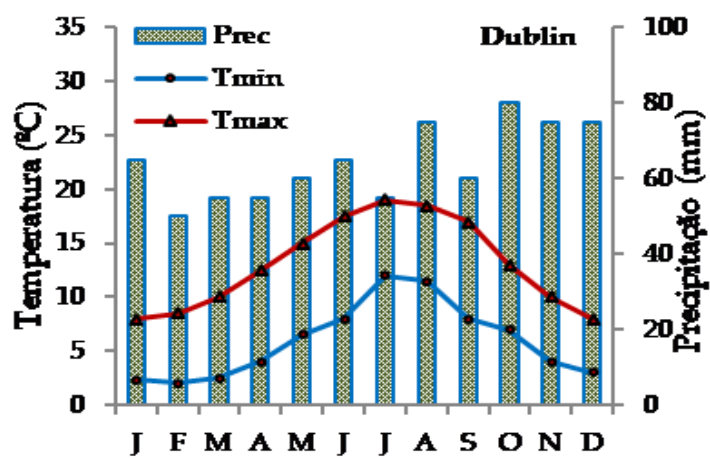


Figura 2.5. Precipitação (Prec) e temperaturas médias das mínimas (Tmin) e médias das máximas (Tmax) mensais em Dublin.

Fonte: FAOSTAT, 2022

2.3. Caracterização Botânica do Trigo Mole

2.3.1. Taxonomia

O trigo mole, conhecido cientificamente como *Triticum aestivum* (L.), pertence à classe das Monocotiledóneas, ordem Poales, família Poaceae, subfamília Pooideae, tribo Triticeae e subtribo Triticinae. Esta espécie é hexaplóide ($2n = 42$), sendo a consequência de uma hibridação natural entre uma espécie tetraploide (*Triticum turgidum*, $2n = 28$) e uma gramínea selvagem (*Aegilops squarrosa*, $2n = 14$). (Feldman, 1976).

2.3.2. Morfologia

2.3.3. Raiz

As monocotiledóneas, da qual faz parte o trigo, dispõem de um tipo de raiz fasciculada, vulgarmente denominada raiz em cabeleira (Figura 2.6) pois, devido à ausência de raiz principal, existem muitas raízes, todas com a mesma grossura e comprimento. Segundo Scheeren *et al.*, (2015), o sistema radicular do trigo é constituído por três classes de raízes: raízes seminais, raízes permanentes e raízes adventícias. As seminais, também designadas embrionárias, porque têm origem na semente, são as primeiras a surgir, sendo responsáveis pela primeira fase de estabelecimento da planta no solo. A seguir, aparecem as raízes permanentes, igualmente denominadas de coroa, que se desenvolvem lentamente durante o crescimento e, por último, aparecem as raízes adventícias, que emergem acima do solo em forma de escoras, ajudando a planta adulta a ancorar no solo. As raízes do trigo podem atingir até 1,5 m de comprimento.



Figura 2.6. Raízes de trigo

Fonte: <https://news.uq.edu.au/2017-12-04-crop-gene-discovery-gets-root-food-security>

2.3.4. Caule e folhas

O caule do trigo é classificado como colmo, com formato cilíndrico, sendo ereto e com a sua parte interna, oca. Tem comprimento variável (0,5 a 2 m) e apresenta o mesmo diâmetro em toda a sua extensão, tendo 4 a 7 entrenós. Durante a fase de afilamento, a planta emite novos colmos (filhos) e após essa fase de desenvolvimento, o colmo alonga-se de forma acelerada, pois a base de cada entrenó é constituída por uma camada de células meristemáticas, as quais promovem o crescimento (Scheeren *et al.*, 2015). Os filhos são ramos laterais, com uma morfologia semelhante ao colmo principal e que se desenvolvem a partir dos golos axilares dos nós, que se encontram abaixo da superfície do solo, sendo capazes de formar o seu próprio sistema radicular, os nós, os entrenós e as espigas (Pionner, 2005). Estes, têm grande importância no trigo, pelo fato de garantirem um maior enchimento do grão, devido à transferência dos nutrientes, mas também à maior adaptabilidade às condições climáticas adversas (Scheeren *et al.*, 2015).

A formação de folhas é paralela à base e o seu número depende do número de nós, possuindo as plantas entre 5 e 6 folhas, quando atingem o final do ciclo. As mesmas compõem-se de bainha, lâmina, lígula e um par de aurículas pilosas na base da lâmina (Figura 2.7). São estreitas, planas e compridas, possuindo uma disposição

alternada e formando um ângulo de 180°. O tamanho, a posição, a forma e a cerosidade são fatores importantes na caracterização da cultivar de trigo (Scheeren *et al.*, 2015).

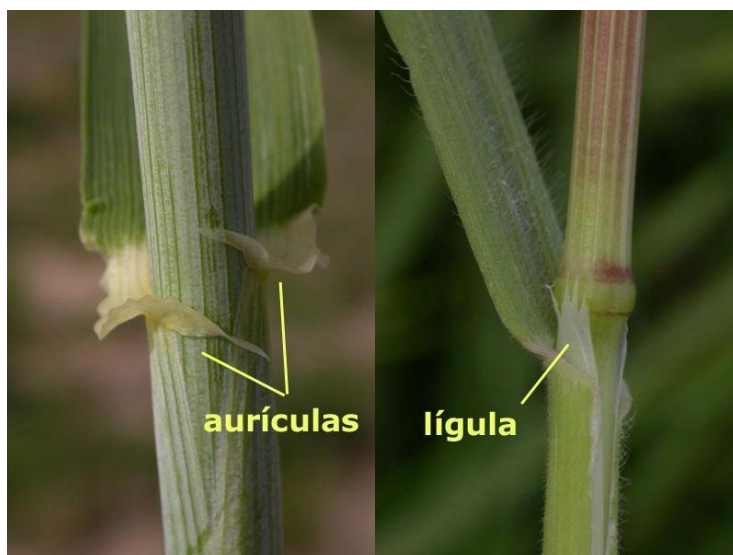


Figura 2.7. Caule e folhas do trigo

Fonte: Silva, 2021

2.3.5. Inflorescência

A inflorescência do trigo é uma espiga constituída por 15 a 20 espiguetas multifloras (Figura 2.8), dispostas alternadamente ao longo da ráquis. Cada espiguetas contém entre 2 e 9 flores, embora nem todas venham a formar grão. Na base existem duas brácteas denominadas glumas, cuja função é proteger as flores. Cada uma das flores é formada por uma lema, que pode ou não ser aristada e uma pálea, sendo também, ambas estruturas protetoras da flor. Entre a lema e a pálea, estão o gineceu (constituído pelo ovário, estilete e estigma), e o androceu (constituído por três estames, ou seja, três filetes e três anteras. A formação dos grãos, acontece após a antese onde ocorre a abertura das flores e exposição das anteras (Scheeren *et al.*, 2015). A espiga pode ser aristada ou mútica conforme as aristas estejam presentes ou ausentes. Neste último caso, a arista está inserida na glumela superior. As aristas não são mais do que folhas modificadas com adaptação xeromórfica (adaptação a condições de deficiência de água). As variedades de trigo que apresentam aristas são normalmente mais produtivas, porque as aristas continuam a realizar fotossíntese a taxas normais, mesmo quando as plantas se encontrem sujeitas a condições de “stress”. Desempenham

também, um papel de proteção contra os pássaros. A flor é hermafrodita e predomina a autofecundação.

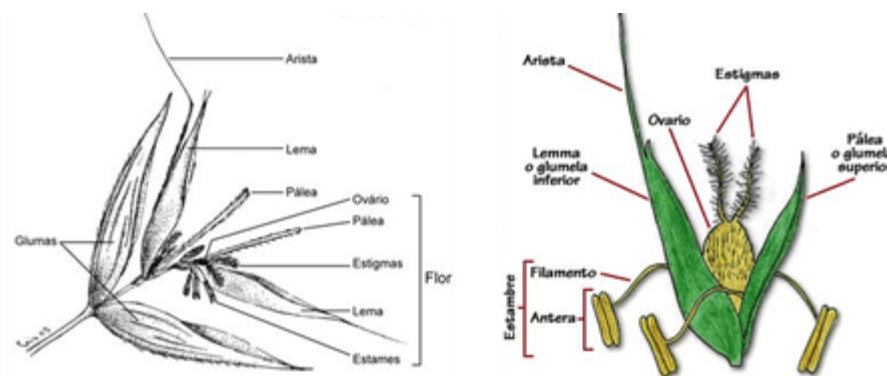


Figura 2.8. Esquema de uma espiga e de uma espiguetas de trigo

Fonte: Silva, 2021

2.3.6. Grão

O grão de trigo (Figura 2.9) tal como o de outras gramíneas, denomina-se cariopse. Tem um formato variável, mas é normalmente longo e estreito, com tamanho médio entre 5 e 7 mm, sendo o seu peso também variável. É constituído por gérmen, pericarpo vulgarmente denominado de casca e endosperma. O embrião ou gérmen, como também é conhecido e que constitui 2,5 a 3 % do grão, fica aderido ao endosperma, onde se encontram as suas reservas nutritivas para a germinação. Uma camada fina, denominada aleurona recobre esse conjunto (Embrapa, 2006 e Scheeren *et al.*, 2015). O gérmen é frequentemente removido, pois o seu teor de gordura é prejudicial para a conservação da farinha, sendo por este motivo vendido de forma separada. O endosperma representa entre 80 e 83 % do grão, é fundamentalmente constituído por amido e proteína, contendo igualmente hidrocarbonetos, ferro e vitaminas do complexo B. É do endosperma que se extrai a farinha de trigo, tornando-o o componente mais relevante do grão. O pericarpo ou casca, constitui cerca 14 a 18 % do grão de trigo.

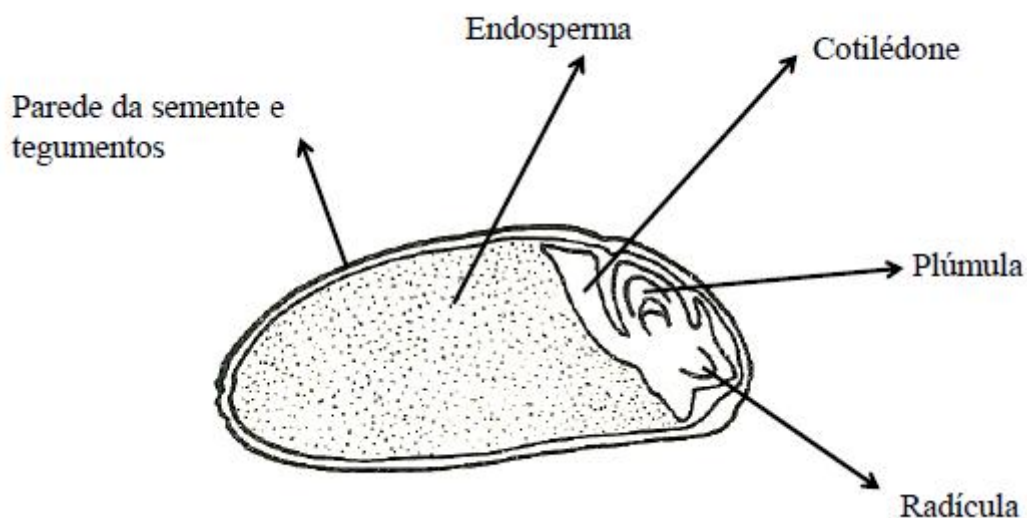


Figura 2.9. Esquema de um grão de trigo

Fonte: <https://elevagro.com/processo-de-germinacao-de-cereais-de-inverno/>

2.4. Fases de Desenvolvimento do Trigo

O ciclo de desenvolvimento do trigo pode ser dividido em três fases: vegetativa, reprodutiva e enchimento do grão e, de um modo geral, a fenologia do trigo é dividida em cinco etapas: germinação/crescimento da plântula, afilhamento, alongamento, espigamento e maturação fisiológica. A escala que melhor descreve e por isso a mais recomendada para a descrição dos estádios fenológicos de desenvolvimento do trigo é a de Zadoks (Figura 2.10), por considerar conjuntamente as fases vegetativas e reprodutivas. A escala de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974) é constituída por dois dígitos, sendo que o primeiro corresponde ao estágio principal de desenvolvimento, iniciando com a fase de germinação (estádio 0) e finalizando com a fase de maturação do grão (estádio 9) e, o segundo, formado pela subdivisão do estágio principal.

Escala de Zadoks

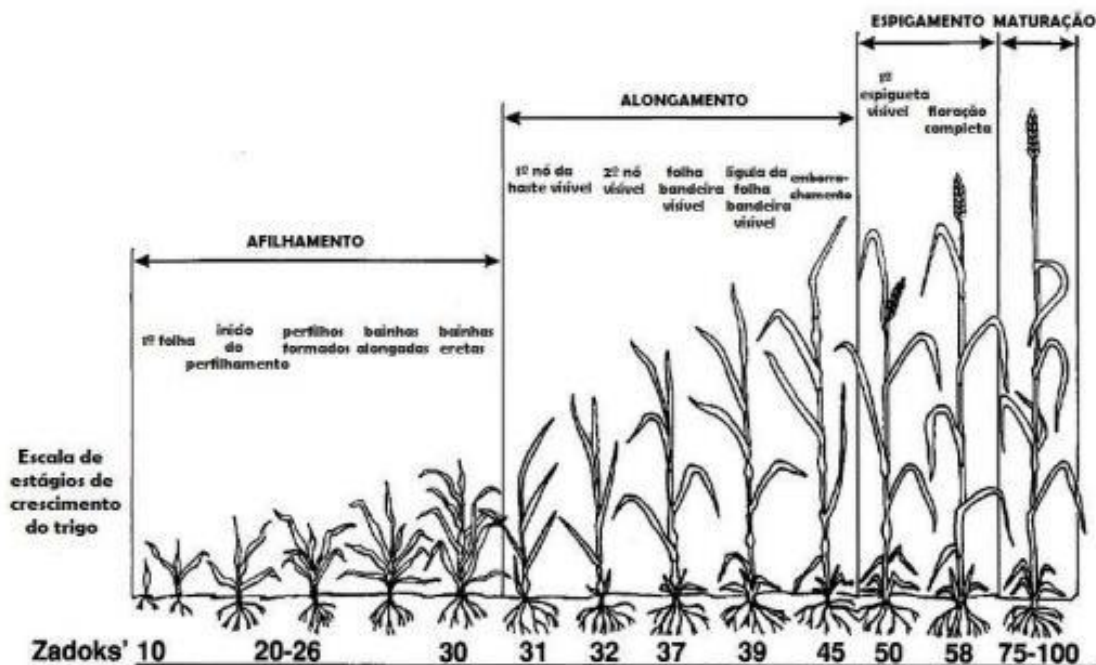


Figura 2.10. Fases de desenvolvimento do trigo (Escala de Zadoks)

Fonte: <https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2022/02/14/a-escala-fenologica-da-cultura-do-trigo>

0 - Germinação – compreende o período desde que a semente se encontra seca no solo, até que se dá o aparecimento da radícula e do coleóptilo (Figura 2.11).

1 - Emergência - compreende a saída da primeira folha fora do coleóptilo surgindo-se à superfície do solo, até à saída de nove ou dez folhas (Figura 2.11).



Figura 2.11. Germinação e emergência do trigo

Fonte: <https://news.osalim.com.br/agronegocio/clima-favorece-germinacao-do-trigo-em-areas-produtoras-do-rs-e-do-pr?uid=118579>

2 - Afilhamento – Compreende o aparecimento de filhos primários no colmo (caule) principal, estes darão origem a filhos secundários, que por sua vez poderão continuar a emitir filhos, pois esta quantidade difere tendo em contar a espécie (Figura 2.12).



Figura 2.12. Afilhamento do trigo

Fonte: <https://www.yara.pt/nutricao-de-plantas/trigo/nutriente-fases-desenvolvimento/>

3 - Alongamento do caule – corresponde ao alongamento dos entrenós, iniciando-se a contagem dos nós visíveis. Esta fase termina com a lígula da folha superior visível e tem uma duração média de 15 a 18 dias.

4 - Emborrachamento –nesta fase dá-se a extensão da bainha da folha bandeira, início do engrossamento da inflorescência, e termina com primeiras aristas visíveis (Figura 2.13)

5 - Espigamento – Inicia-se com a espiguetas da inflorescência visível, terminando com a inflorescência completamente visível (Figura 2.13).

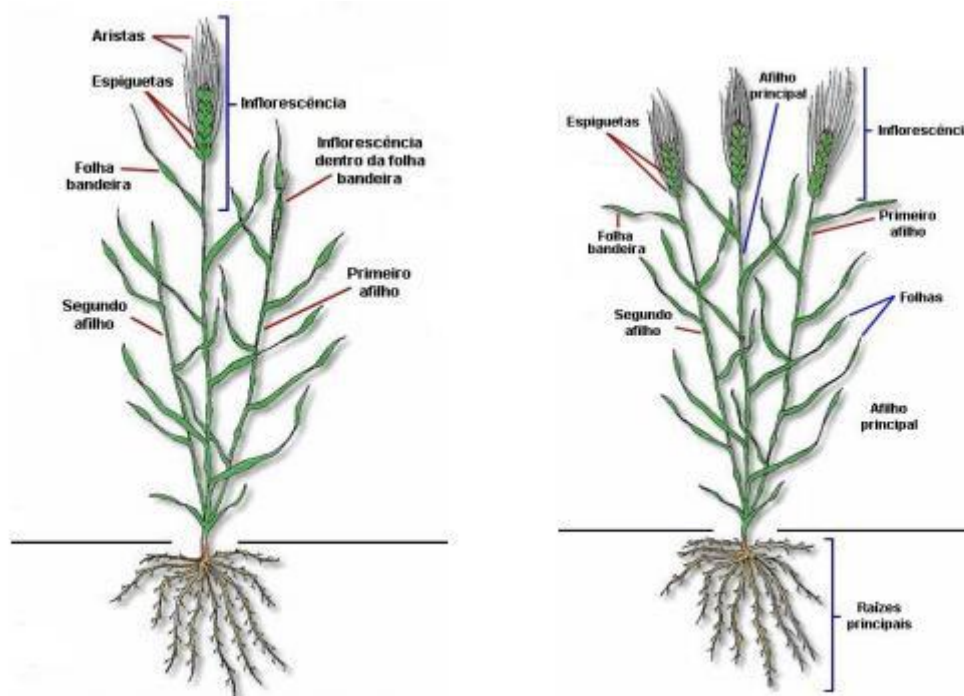


Figura 2.13. Espigamento e emborrachamento do trigo

Fonte: <https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2022/02/14/a-escala-fenologica-da-cultura-do-trigo>

6 – Floração – caracteriza-se pela observação das anteras emergidas, até à plena floração.

7 – Grão Leiteiro – fase em que se desenvolve o amido no grão, passando do estágio de grão leitoso a grão pastoso.

8 – Enchimento do grão – O grão começa por ser aquoso, passando a leitoso e posteriormente a pastoso. Esta fase termina, quando a fase pastosa é espessa (a impressão de uma unha permanece e a inflorescência perde clorofila).

9 – Maturação – Denomina-se de maturação fisiológica, quando a planta atinge o final de todas as funções vitais (respiração, transpiração, fotossíntese, etc.). A seguir à maturação fisiológica, a cultura deverá permanecer no solo o tempo suficiente para atingir a maturação técnica, a qual é atingida quando a cariopse (grão) fica dura (impossibilidade de fender com a unha do polegar) e desprende-se com facilidade, ou seja, a cultura está em condições de ser colhida (Figura 2.14). A duração do período entre a maturação fisiológica e a maturação técnica é variável com as condições ambientais (temperatura, vento, humidade relativa e precipitação), as quais determinarão, se esse período será maior ou menor, até que o grão atinja a humidade ideal para ser colhido.

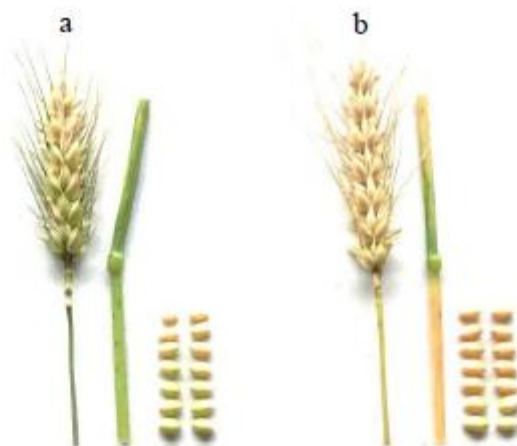


Figura 2.14. Trigo em maturação técnica

Fonte: Lunkes, 2014

2.5. Espécies e Cultivares de Trigo

A cultura do trigo adapta-se às mais diversas condições do meio (climáticas e edáficas), sendo preponderante o processo de vernalização para atingir a floração. Este processo acelera a diferenciação floral e, por consequência, a floração ocorre de forma natural sujeitando-se a cultura a temperaturas baixas. Contudo, atualmente já existem variedades de trigo que não necessitam de vernalização para entrarem em floração, denominando-se estas, de neutras ou variedades de primavera. As variedades regionais precisam da vernalização para conseguirem obter um vingamento consequente e rentável, levando a que a sua produção esteja circunscrita a zonas de altitudes, em que o regime térmico permita um completo desenvolvimento vegetativo. As espécies ancestrais de trigo são até aos dias de hoje cultivadas por todo o mundo, mas com valor comercial existe apenas o trigo mole (*Triticum aestivum* L.), e o trigo duro (*Triticum durum*), e as diversas cultivares dentro de cada uma das espécies (Baptistella, 2022).

As espécies de trigo são distintas. O trigo mole (*Triticum aestivum* L.) é caracterizado pelos grãos de amido quebrarem durante a moagem e, o principal destino, é o fabrico de farinhas utilizadas na panificação. Por sua vez, o trigo duro (*Triticum durum*), caracteriza-se pelos grãos não quebrarem durante a moagem, contendo um alto teor de glúten e o seu principal destino, são massas alimentícias. Durante o processo de moagem, o endosperma, que representa 75 % do grão é retirado e do mesmo é produzida a farinha branca.

Quanto à época de sementeira, poder-se-ão classificar as cultivares em cultivares de outono-inverno, as quais necessitam de um maior número de horas de frio para atingirem a floração (vernalização) e cultivares de primavera, que necessitam de menos horas de frio, para atingirem esta fase de desenvolvimento. O ciclo do trigo poderá ter uma duração média 100 a 170 dias, dependendo essa variação, da cultivar e das condições de clima e solo presentes. Cada fase de desenvolvimento do trigo tem uma faixa ótima de temperatura, podendo a sua variação determinar a maior ou menor rapidez do ciclo, tal como a transição de um estágio de desenvolvimento para outro.

2.6. Relação entre a Produção de Grão e os Componentes da Produção no Trigo

A produção de trigo em clima mediterrâneo, é normalmente limitada pelas altas temperaturas e pelo déficit hídrico durante a fase de enchimento do grão, originando uma taxa e duração desta fase de desenvolvimento reduzidas e, conseqüentemente, reduzidas produções por unidade de área da cultura, em condições de sequeiro. Na opinião de Mohammadi *et al.*, (2012) a expressão final da produtividade em condições de deficiência hídrica depende das características das próprias variedades, da intensidade e duração do déficit e do estágio de desenvolvimento em que estão. Segundo Blum (2011), a determinação dos diferentes componentes da produção, pode dar um conhecimento adicional em relação à expressão da resistência à seca, em termos de produção por unidade de área. Peltonen-Sainio *et al.*, (2007), investigando 78 genótipos de trigo durante cerca de 30 anos, concluíram que a produção de trigo de inverno aumentou, quando se verificou um acréscimo no número de grãos por unidade de área e no peso médio do grão. Por sua vez, Moral *et al.*, (2003) reportam, que a produção de grão na cultura do trigo em condições de temperaturas mais frescas, é principalmente determinada pelo peso médio do grão, enquanto o número de espigas por metro quadrado influencia principalmente a produtividade, em condições de temperaturas mais altas. Para os mesmos autores, o número de grãos por espiga tem uma contribuição significativa para produtividade da cultura, principalmente em condições de deficiência hídrica. Os efeitos compensatórios entre componentes da produção estão normalmente ausentes em condições mais frescas, provavelmente consequência da relativa disponibilidade de água e azoto, durante as fases mais críticas do desenvolvimento das plantas. Inversamente, com condições de temperaturas mais altas, os efeitos negativos do número de espigas por unidade de área, levam também, à redução do número de grãos e do peso médio do grão. Como é referido por Metho *et al.*, (1998), para uma maior produtividade de trigo, o número de espigas por metro quadrado, é um componente da produção muito importante. O afilhamento por planta, depende em grande parte das condições ambientais e o caule principal (planta-mãe), é normalmente mais produtivo, quando comparado com a produtividade dos filhos. Segundo Slafer *et al.*, (2014) o número de grãos por unidade de área, contribui mais para a produtividade da cultura do trigo, que o peso médio do grão, em cultivares modernas de trigo e para Denčić *et al.*, (2000), o número de grãos por espiga, o peso médio do grão e

especialmente a produtividade, são mais sensíveis à deficiência hídrica, do que a altura das plantas e o número de espiguetas por espiga. Segundo Mollasadeghi *et al.*, (2011), o número de grãos por espiga, o peso de mil grãos e a produção de matéria seca total, têm um efeito direto e positivo na produção de grão na cultura do trigo e Shamsi *et al.*, (2011) demonstraram, que os componentes que mais influenciam a produtividade, são o número de grãos por espiga, seguido pelo número de espigas por metro quadrado e pelo peso médio do grão. Alguns autores (Ghaderi *et al.*, 2009 e Leilah e Al-Khateeb, 2005) referem também, uma correlação positiva entre o índice de colheita e a produtividade na cultura do trigo. No entanto, Sharma *et al.*, (1987), verificaram uma inconsistência nos coeficientes de correlação entre o índice de colheita e a produtividade da cultura do trigo, para diferentes condições climáticas, sugerindo que tanto o índice de colheita, como a produtividade, sejam significativamente afetados pelas alterações ambientais.

2.7. Elicitores

Dá-se o nome de elicitores ou bioestimulantes aos compostos orgânicos produzidos de forma natural que podem atuar como defesa contra pragas e doenças e melhorar o desempenho agrônomico das plantas. A procura por novas estratégias, segundo Oliveira (2020) relaciona-se diretamente com as estratégias convencionais para a gestão de pragas e doenças deixarem de estar disponíveis para aplicação, terem custos elevados, algumas das mesmas serem difíceis de implementar e com elevados impactos ambientais. Neste sentido surge a procura por técnicas alternativas para melhorar a produtividade das plantas e simultaneamente com o potencial de gestão de pragas e doenças, como os elicitores. Segundo Silva *et al.*, (2023) a além da procura por variedades resistentes aos stresses abióticos, existe também uma crescente procura por biomoléculas promotoras de maior resistência vegetal. Algumas substâncias demonstram influência sobre o metabolismo de espécies, mostrando-se envolvidas na resposta de defesa pela produção de compostos secundários. A aplicação de elicitores na agricultura tem como finalidade garantir a produtividade e desenvolvimento das culturas reduzindo os prejuízos para a saúde e meio ambiente. Segundo o mesmo autor, os elicitores podem representar uma ferramenta para ativação da resistência de cada planta.

A aplicação de elicitores, tem efeitos sobre a concentração de metabolitos secundários nas plantas, tendo-se realizado estudos nos quais se verificou o aumento do

número de nós e de folhas, maior número e comprimento de rebentos e diâmetro do caule, maior número de raízes e aumento da biomassa (Alvarado *et al.*, 2019), deixando claro que o impacto dos elicitores nas culturas vai além da ativação do sistema de defesas.

Um estudo em beterraba, com o propósito de aumento da produtividade, levou a que se colocassem as raízes das plantas em contacto com diversos elicitores, tendo sido observada um decréscimo de biomassa e uma elevada produtividade de aminoácidos. O decréscimo de produção de biomassa traduziu-se num decréscimo de produtividade (Savitha *et al.*, 2006), o que comprova a influência da aplicação de elicitores nas culturas e nas produções.

São exemplos de elicitores:

- Algas Marinhas (ex: *Ascophyllum nodosum*)
- Extratos de Plantas
- Hidrolisados de Proteínas
- Substâncias Húmicas
- Compostos Inorgânicos
- Microrganismos

2.7.1. Algas Marinhas

As algas marinhas pertencem a vários grupos taxonómicos distinguindo-se por algas vermelhas (*Rhodophyta*), verdes (*Chlorophyta*) e castanhas (*Phaeophyta*). São reconhecidas como promotoras de crescimento e ativadoras do sistema de defesa das plantas e ricas em fito hormonas, polifenóis e polissacarídeos.

As auxinas e citoquininas, são duas fitohormonas de extrema importância que se encontram presentes nos extratos de algas. As auxinas promovem o alongamento radicular e desenvolvimento de novas raízes, já as citoquininas estimulam a divisão celular e novos crescimentos. O principal efeito destas hormonas é através da sua sinergia promover um equilíbrio de crescimento, melhorando a absorção de nutrientes e tornando a planta mais resistente aos stresses (Khoulati *et al.*, 2024).

Segundo Khoulati *et al.*, (2024) nos extratos de algas encontram-se fitohormonas, giberlinas sintéticas e naturais e brassinosteroides que também, estão envolvidos no processo de indução de crescimento e desenvolvimento das plantas. As giberelinas atuam na quebra de dormência das sementes, e atuam em processos de crescimento. Os brassinosteróides aumentam a tolerância aos “stresses”, promovem a expansão e divisão celular e tem um impacto direto na produtividade das plantas.

Nos últimos anos os organismos marinhos têm sido alvo de estudos por serem uma fonte de compostos naturais. As macroalgas marinhas são fonte de matérias-primas e moléculas aplicadas na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrícola, (Dapper, 2013). Existem muitos tipos de algas marinhas, as mais conhecidas e aplicadas na agricultura são as algas vermelhas, algas verdes e as algas castanhas. Das algas vermelhas são exemplo: *Corralina mediterrânea*, *Jania rubens*, *Pterocladia pinnata*, nas algas verdes: *Cladophora dalmática*, *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* e nas algas castanhas são *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima* e *Saragassum spp.*

Uma das algas marinhas mais utilizadas é *Ascophyllum nodosum*.

Ascophyllum nodosum é uma alga parda, pertence à família Fucaceae e é a única espécie do género *Ascophyllum*. Esta macroalga pertence à zona norte do Oceano Atlântico. Segundo Dapper T. (2023), o interesse pelas macroalgas marinhas manifesta-se pelas suas vantagens como potenciar o crescimento vegetal, aumento da produção de biomassa e, também, pelas características distintas de seus compostos.

O extrato da alga *Ascophyllum nodosum* foi testado quanto ao seu efeito sobre o número de espigas e o rendimento de grãos na cultura do trigo. Os resultados mostraram que sua aplicação in vitro proporcionou um melhor desempenho em comparação ao tratamento da testemunha (Dall *et al.*, 2010). Os extratos de algas marinhas são ricos em reguladores de crescimento, como citoquininas, auxinas, giberelinas e betaínas (Dall *et al.*, 2003), além de fornecerem macronutrientes como cálcio (Ca), potássio (K) e fósforo (P) e micronutrientes, como ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), boro (B), manganês (Mn), cobalto (Co) e molibdênio (Mo), que desempenham papéis fundamentais no crescimento e desenvolvimento das plantas (KHAN *et al.*, 2009).

Segundo Teixeira, N. (2015) *Ascophyllum nodosum* é portadora de antioxidantes que afetam o mecanismo celular e promovem o crescimento e aumentam a produtividade. O extrato de algas pela riqueza do seu conteúdo em auxinas, citoquininas

e giberelinas atua sobre a divisão celular e síntese de proteínas, mantendo a células intactas e protegendo-as das toxinas produzidas em resposta aos stresses.

2.7.2. Extratos de Plantas

Os extratos de plantas melhoram o desempenho das culturas pela sua riqueza em bioativos que ativam processos fisiológicos. Estes extratos são compostos de folhas, frutos, caules e flores. São exemplos de extratos aplicados na agricultura são extrato de alho, extrato de cebola e extrato de erva cavalinha (*Equisetum arvense* L.).

Segundo Trebbi *et al.*, (2020), *Equisetum arvense* L., o extrato desta planta é uma substância alternativa natural, que foi aprovada pelo Regulamento CE nº 1107/2009 pela Direção-Geral da Saúde e Segurança Alimentar da Comissão Europeia como substância de base para utilização agrícola. A erva cavalinha (*Equisetum arvense* L.) atua nas plantas de forma preventiva para controlo de doenças fúngicas, sendo esta capacidade atribuída ao elevado teor de sílica disponível na mesma.

2.7.3. Hidrolisados de Proteínas

São uma mistura de aminoácidos e pequenos péptidos conseguidos através da hidrólise de proteínas vegetais ou animais

Segundo Khoulati *et al.*, (2024), estes compostos são indispensáveis para as plantas, demonstrando-se diversos benefícios tais como o aumento de absorção de nutrientes, capacidade fotossintética, melhor tolerância aos stresses bióticos e abióticos. São elementos fundamentais da síntese proteica, uma vez que tem função como moléculas que sinalizam processos fisiológicos da planta.

Os aminoácidos atuam sobre a arquitetura da raiz aumentando a capacidade de transporte de nutrientes, facilitando a sua absorção e assimilação, já os péptidos atuam sobre o processo metabólico do azoto e enxofre na planta, que são essenciais para a síntese de enzimas e clorofila que é essencial para a fotossíntese (Khoulati *et al.*, 2024).

Segundo o mesmo autor, os péptidos encontram-se envolvidos na ativação dos mecanismos de defesa contra “stresses” bióticos e abióticos.

2.7.4. Substâncias Húmicas

As substâncias húmicas são compostos orgânicos naturais que podem ser encontrados na matéria orgânica do solo. Formam-se pela decomposição de plantas, animais e microrganismos contribuindo para uma melhoria da estrutura do solo, retenção de água, favorecendo o crescimento radicular.

Estas substâncias aumentam a capacidade de troca catiónica dos solos, favorecendo a assimilação de nutrientes e estimulando o crescimento radicular (Khoulati, *et al.*, 2024).

Segundo o mesmo autor, estas substâncias impactam de forma muito positiva a germinação e produtividade das plantas.

2.7.5. Compostos Inorgânicos

São promotores do crescimento das plantas, fortalecendo tanto as paredes celulares tornando-as mais resistentes aos ataques de patógenos, como o sistema de defesa das plantas aos “stresses”, regulando a expressão de genes envolvidos, atuam também como reguladores osmóticos e impactam a absorção de nutrientes.

São exemplos de compostos inorgânicos o silício, selênio, cobalto, fosfite, sódio e alumínio.

Segundo Barbosa (2000), apesar do silício (Si) ser considerado um elemento abundante na crosta terrestre nem sempre o mesmo se encontra na forma disponível para as plantas. Apesar de não ser um elemento vital para as plantas, estudos revelam que é um elemento muito benéfico. Estudos realizados na cultura do arroz comprovaram que plantas com menor concentração de silício estavam afetadas por fungos, desta forma comprovando o silício tem um efeito positivo na resistência das plantas, reforçando as paredes celulares tornando desta forma as plantas mais resistentes a fungos.

2.7.6. Microrganismos

Os bioestimulantes compostos por microrganismos tem na sua composição principalmente bactérias, fungos e fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Estabelecem associações simbióticas mútuas, melhorando a disponibilidade de

nutrientes para as plantas. São exemplos deste tipo de microrganismos os fungos do género *Trichoderma* e as bactérias promotoras do crescimento (PGPRs- Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).

Segundo Khoulati *et al.*, (2024), os microrganismos criam relações simbióticas com as plantas favorecendo-as nutricionalmente e conferindo maiores tolerâncias a stresses. Estes microrganismos auxiliam em processos fundamentais, tal como a fixação de azoto, em particular as espécies *Rhizobia* spp. que cria relações simbióticas com leguminosas. Esta relação permite converter azoto atmosférico em formas em que o mesmo é absorvível pelas plantas.

O fósforo é outro nutriente que com o auxílio dos microrganismos é possível converter fosfato insolúvel em formas assimiláveis favorecendo o crescimento das plantas (Khoulati *et al.*, 2024). Colocar alguns exemplos de bactérias que o façam e as respetivas referências.

O mesmo autor refere que as fitohormonas produzidas por microrganismos tem um papel importante no desenvolvimento das plantas. Auxinas, giberelinas e citoquininas são compostos produzidos pelos microrganismos tem um efeito semelhante ao das hormonas vegetais, provocando estímulos de crescimento radicular, tornando as plantas mais resilientes e favorecendo a sua capacidade de assimilação de nutrientes.

2.7.7. Outros Bioestimulantes

Os bioestimulantes albergam muitas categorias para além das anteriormente descritas, já existindo um novo segmento de bioestimulantes, como o quitosano, silício e oligoelementos que são substâncias que fortalecem o sistema a vários níveis o sistema de defesa das plantas. Estas substâncias aumentam a resiliência das plantas aos stresses tornando-as mais resistentes em condições adversas (Khoulati *et al.*, 2024).

O quitosano é uma substância natural, derivada da quitina, um polímero que se encontra no exosqueleto de crustáceos. São conhecidos os seus benefícios desde o século XX, quando foram observadas menos incidências de doenças associadas a fungos após a sua aplicação.

O quitosano tem elevada solubilidade em meios aquosos permitindo um maior controlo sobre a dose aplicada facilitando o processo de aplicação e a forma de manuseamento do produto. O mesmo tem um efeito bioestimulante favorecendo o

desenvolvimento em comparação com plantas sem a mesma aplicação, indicando que o quitosano estimula a planta a uma maior absorção de nutrientes (Velásquez *et al.*, 2019). Segundo o mesmo autor, alguns estudos indicam que o quitosano demonstra ser um estimulante do sistema de respostas defensivas das plantas através da produção de largo espectro de compostos, proteínas e polipéptidos com efeito antimicrobiano criando desta forma uma barreira protetora contra agentes fito patogénicos. Através da indução de proteínas de enzimas hidrolíticas, tais como quitinases e as β -1,3-glicosanases, estas atuam em conjunto na destruição das paredes celulares dos fungos, impedindo a sua proliferação nas plantas. O autor refere ainda, que existem resultados sobre a aptidão do quitosano em induzir a produção de metabolitos de defesa secundária considerando-se assim um elicitor, pois contribui para o sistema de defesa das plantas.

Uma das principais causas da perda de rendimento do trigo (*Triticum* spp.) é provocada por doenças fúngicas, nomeadamente ferrugem, o que contribui para perdas de produtividade significativas (Curtis, 2002; Roelfs *et al.*, 1992). Atualmente os desafios lançados à agricultura incluem estratégias mais sustentáveis para o combate de doenças e pragas, promovendo a indução dos mecanismos de defesa das plantas, desta forma incentivando a utilização de substâncias para permitam aumentar essa resposta.

Um estudo levado a cabo por diversos investigadores (Martínez *et al.*, 2018) em plantas de trigo, demonstrou que o quitosano interfere na expressão do gene β -1,3-glucanase (*GLU*), do sistema de defesa da planta.

Os fatores que determinam esta resposta são as concentrações do elicitor, no entanto a concentração e a resposta não seguem uma reação linear. Ainda assim os investigadores consideram que os resultados corroboram que o quitosano interferiu na planta de trigo ativando a sua resistência (Li *et al.*, 2016).

2.7.8. Relação entre a Aplicação de Elicitores e a Produtividade

A agricultura mundial enfrenta dois grandes desafios. Por um lado, garantir produtividades que consigam alimentar uma população mundial em crescimento, enquanto são adotadas estratégias de produção com recurso a elicitores como alternativas mais sustentáveis face à utilização de fatores de produção mais comuns como os produtos fitossanitários e fertilizantes. Segundo Moloï e Van der Westhuizen (2006), os elicitores enquadram-se nesta nova estratégia como indutores de defesa,

fortalecendo o sistema de resposta das plantas aos patógenos e ao mesmo tempo têm capacidade para induzir a produção.

O trigo é uma das culturas mais cultivadas para a produção de alimentos para o consumo humano, sendo também das culturas mais afetadas pela perda de rendimento devido a problemas fitossanitários e deficientes condições agroclimáticas (Roelfs *et al.*, 1992; Curtis, 2002).

Segundo Roupael & Colla (2020), a aplicação de bioestimulantes promovem o desenvolvimento da planta, bem como a absorção de macro e micronutrientes, aportando aumentos de produtividade. O mesmo autor refere um ensaio em que foram aplicados bioestimulantes para estimular a taxa de germinação de sementes de trevo, sendo registada uma melhoria significativa, com esta aplicação.

A aplicação de bioestimulantes contribui para a melhor absorção de nutrientes e torna as plantas mais tolerantes a “stresses” bióticos e abióticos (Thamvithayakorn *et al.*, 2024).

Num ensaio realizado durante três anos em trigo duro, para avaliar o efeito da aplicação de elicitores no rendimento e como ativador de defesas para a prevenção da septoriose, verificou-se que os elicitores ativaram os mecanismos de defesa, demonstrando uma resposta positiva contra a septoriose e obteve-se um aumento do número de espigas por metro quadrado (Ben-Jabeur *et al.*, 2019). Por sua vez, Haggag *et al.*, (2017) num ensaio em trigo com a aplicação de elicitores, afirmaram que o crescimento da cultura, foi sempre influenciado pelos “stresses” a que esteve exposta durante o ciclo.

Segundo Corkley *et al.*, (2022), os elicitores são enquadrados na estratégia fitossanitária quando aplicados em conjunto com produtos fitofarmacêuticos proporcionando uma melhoria na produtividade e qualidade final das culturas. A utilização de elicitores em conjunto com fungicidas reduz significativamente a severidade e progressão de fungos como o oídio, promovendo o aumento de produtividade (Ducatti *et al.*, 2023).

Tendo por base os autores referidos anteriormente, os elicitores são aplicados como complemento da estratégia produtiva das culturas, induzindo o mecanismo de defesa e deixando as plantas menos suscetíveis a doenças e pragas. Verifica-se também, influência dos mesmos sobre a produtividade e qualidade da produção, ainda que os fatores bióticos e abióticos tenham um peso bastante expressivo sobre as mesmas.

2.7.9. Relação entre a Aplicação de Elicitores e a Resposta Génica das Plantas

As plantas encontram-se expostas ao ataque de patógenos o que representa perdas de produtividade. Para que se consigam proteger as culturas dos agentes patogénicos recorrem-se a diversas alternativas de síntese química e a elicitores (Thakur & Sohal, 2013). Com a saída de substâncias ativas houve necessidade em trabalhar novas soluções com compostos naturais que consigam ativar o sistema de defesas das plantas (Chandra *et al.*, 2014; Goupil *et al.*, 2012).

A aplicação de elicitores conduz à ativação de vias de transdução de sinal, biossíntese de fitoalexinas, fortalecimento das células (Loon & Strien, 1999; Thakur & Sohal 2013).

Segundo Najami *et al.*, (2008), a *CAT* e *Ascorbato Peroxidase (APX)*, são genes com um papel fundamental no sistema de defesa das plantas realizando a manutenção de peróxido de hidrogénio (H_2O_2), nas células.

Na opinião de Bozaba *et al.*, (2024), os genes *APX*, *Superóxido Dismutase (SOD)* e *CAT*, expressam-se com a aplicação de elicitores, aumentando a atividade antioxidante na planta mitigando os efeitos de ROS.

3. Materiais e Métodos

3.1. Descrição dos Ensaios

O presente trabalho, foi realizado na Herdade da Lagoa (Évora), no ano agrícola 2023/2024, tendo como base dois ensaios de campo. Um ensaio em condições de sequeiro e um ensaio em condições de regadio, com recurso a rega por pivot, encontrando-se este equipamento já instalado na exploração. O objetivo, foi estudar a resposta agronómica da cultura do trigo mole (*Triticum aestivum* L.) à aplicação de elicitores.

Os elicitores aplicados à cultura do trigo, foram a *Ascophyllum nodosum* e o cloridrato quitosano.

Nas respetivas parcelas de sequeiro e regadio marcaram-se talhões para se realizar a aplicação de tratamentos diferenciados por dose e data de aplicação, conforme será detalhado mais à frente.

Os tratamentos realizaram-se primeiramente na fase de encanamento do trigo (quantas semanas após a emergência), aplicando-se a mesma dose de *Ascophyllum nodosum* e *quitosano*. A cultura encontrava-se na fase de encanamento, sendo que no ensaio de sequeiro se encontrava no segundo nó (estádio 32 na escala de Zadoks) e no ensaio de regadio, estava no terceiro nó (estádio 33 na escala de Zadoks), tendo sido realizado um tratamento em cada uma destas fases e repetido 21 dias, em algumas modalidades, após a primeira aplicação, no qual a cultura se encontrava no início da floração quer em sequeiro quer em regadio (estádio 61 na escala de Zadoks).



Figura 3.1. Aspeto geral do ensaio de trigo de sequeiro

3.2. Caracterização Edafo-Climática das Parcelas dos Ensaio

3.2.1. Caracterização Climática

O clima de uma região ou local é o conjunto das condições meteorológicas predominantes nessa região ou local durante um longo intervalo do tempo, com uma duração mínima de três décadas. O clima é caracterizado pelos valores médios dos diferentes elementos meteorológicos, pela variabilidade destes e por informação sobre a ocorrência de eventos extremos (Guimarães *et al.*, 2020).

A caracterização climática é essencial, pois a mesma influencia diretamente diversos aspetos da produção agrícola, permite uma gestão eficiente da rega, uma vez que a evapotranspiração cultural é influenciada pelas condições meteorológicas e, conhecendo esses dados, é possível aumentar a eficiência do uso da água, sendo também importante no controle eficaz de pragas e doenças, visto que muitas pragas e doenças proliferam sob condições específicas e conhecendo essas mesmas condições, é possível adotar medidas preventivas.

Segundo a classificação climática de Köppen, na região de Évora, onde se localiza a herdade, o clima é classificado como Csa, conforme se identifica na Figura 3.2. O tipo de clima "C" corresponde a um clima temperado quente, uma vez que a temperatura média do mês mais frio é inferior a 18° C, mas superior a -3° C, e existe mais de um mês com temperatura média acima de 10° C. O sub-tipo "s" indica uma estação seca durante o verão. Finalmente, o sub-sub-tipo "a" é atribuído quando a temperatura média do mês mais quente do ano excede 22°C. Caracteriza-se este clima como temperado, tendo Verão quente e seco e inverno chuvoso denominando-se também, como mediterrânico ou subtropical seco.

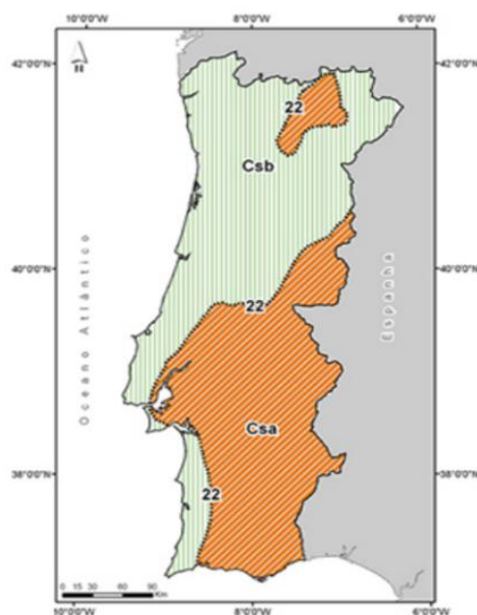


Figura 3.2. Clima de Portugal Continental, segundo a classificação de Köppen.

Fonte: IPMA, sem data

Para a caracterização climática, utilizaram-se os dados da ficha climatológica da estação meteorológica de Évora (Lat.: 38,5725N; Long.: 7,9064W; Alt.: 309,0 m), correspondente ao período de 1981 a 2010. Esta estação é a mais próxima geograficamente da herdade, distando em raio cerca de 3 km, garantindo desse modo, a relevância e a precisão dos dados climáticos analisados (Quadro 3.1).

Quadro 3.1. Dados climáticos no período de 1981 a 2010 (Estação Meteorológica de Évora)

	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez
Temperatura Média (°C)	9,4	10,5	13,0	14,0	16,8	21,1	23,6	23,7	21,6	17,3	13,1	10,3
Temperatura Máxima (°C)	13,0	14,3	17,5	18,5	21,9	27,4	30,6	30,5	27,2	21,6	16,7	13,5
Temperatura Mínima (°C)	5,7	6,6	8,5	9,4	11,6	14,8	16,6	16,9	16,0	13,1	9,6	7,1
Precipitação (mm)	66,5	54,1	41,8	57,6	48,1	16,6	3,9	7,7	29,8	82,9	85,9	91,9

Fonte: Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA)

Também, os dados climáticos referentes ao ano agrícola em que se realizaram os ensaios (2023/2024), foram obtidos na Estação Meteorológica de Évora e são apresentados no Quadro 3.2).

Quadro 3.2. Dados climáticos no ano agrícola 2023/2024 (Estação Meteorológica de Évora)

	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun
Temperatura Média (°C)	21,9	20,1	14,1	10,4	11,7	12,6	13,0	15,9	17,7	21,4
Temperatura Máxima (°C)	29,3	26,6	19,5	16,1	17,4	18,8	18,9	23,7	26,3	29,1
Temperatura Mínima (°C)	14,6	13,7	8,8	4,6	5,9	6,4	7,1	8,1	9,1	13,7
Precipitação (mm)	27,8	183,9	89,0	23,2	132,8	62,4	134,7	27,9	2,1	26,8

Fonte: Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA)

Se se compararem os dados da precipitação média de 30 anos (1981/2010), com os valores da precipitação no ano dos ensaios (2023/2024) (Quadros 3.1 e 3.2), constata-se que neste ano, a precipitação foi muito mais elevada, particularmente nos meses de outubro, janeiro e março, sendo este último mês muito importante na definição da produção de cereais de outono-inverno, nomeadamente do trigo. Também, neste ano dos ensaios, verificaram-se temperaturas relativamente mais altas do que na média dos 30 anos, as quais terão proporcionado um desenvolvimento mais rápido na cultura do trigo.

3.2.2. Caracterização Edáfica

Ambos os ensaios, foram levados a cabo num solo cartografado como Pmg - Solos Mediterrâneos Pardos, de Materiais Não Calcários, Normais, de quartzodioritos. (Cardoso, 1965). Segundo o mesmo autor, o perfil deste solo é descrito da seguinte forma:

Pmg - *Solos Mediterrâneos Pardos, de Materiais Não Calcários, Normais, de quartzodioritos*

Horizonte A1 - 15 a 35 cm; pardo ou castanho; franco-arenoso a arenoso; estrutura granulosa, fina, fraca ou sem agregados; não aderente e não plástico; muito friável ou solto; fofo ou solto; pH 5,5 a 6,5.

Transição nítida ou abrupta para

Horizonte B - 20 a 50 cm; pardo ou castanho com pontuações esbranquiçadas de feldspatos; franco-argilo-arenoso, franco-argiloso, argilo-arenoso ou argiloso; estrutura prismática, média ou grosseira, moderada ou fraca, há películas de argila nas faces dos agregados; aderente, plástico; muito firme ou firme; muito rijo ou rijo; pH 6,5 a 7,5.

Transição nítida ou gradual para

Horizonte C - Material originário proveniente da desagregação de quartzodioritos, notando-se nele, além de feldspatos, partículas de quartzo e de micas.

Quadro 3.3. Algumas características físicas, químicas e analíticas do solo Pmg (Solos Mediterrâneos Pardos, de Materiais Não Calcários, Normais, de quartzodioritos)

Hor.	Prof. (cm)	Areia grossa (%)	Areia fina (%)	Limo (%)	Argila (%)	M.O. (%)	pH (H ₂ O)	Dap, (seco ao ar)	Água disponível (%)
Ap	0-30	46,5	37,1	11,3	5,1	1,04	6,2	1,5	10,75
B	30-60	31,2	31,5	8,5	28,8	0,55	7,0	1,28	13,27

Fonte: Cardoso (1965)

3.2.3. Análise de Solo

Previamente à instalação da cultura do trigo, foi realizada uma recolha de amostras de solo da parcela de sequeiro e da parcela de regadio, posteriormente analisadas por uma empresa de prestação de serviços. As análises de solo, tiveram como finalidade avaliar os parâmetros químicos, tais como pH, matéria orgânica macro, micronutrientes e metais pesados, tendo-se realizado de forma complementar a avaliação do microbioma do solo onde se iam estabelecer os ensaios, realizando-se

desta forma uma avaliação integrada das parcelas, considerando-se uma visão ampla do solo (Sena *et al.*, 1999).

3.2.4. Técnicas Culturais Utilizadas

A instalação da cultura do trigo mole (*Triticum aestivum* L.), foi realizada na segunda quinzena de novembro. Previamente à instalação da cultura realizou-se um controle mecânico de infestantes em pré-sementeira com uma grade de discos com 5 metros de largura de trabalho. Seguidamente ao controle de infestantes, foi realizada uma operação de preparação da cama da semente com um escarificador de braços rígidos de 4 metros de largura de trabalho, seguindo-se a adubação de fundo com o adubo Plusmaster Master 14 10-18-12 + 9 % CaO + 5 % SO₃, tendo-se recorrido a um distribuidor centrifugo, com a capacidade de 1200 kg e 24 m de largura de trabalho. A sementeira foi realizada a lanço, com o mesmo distribuidor centrífugo, tendo-se utilizado uma largura de trabalho de 20 metros e uma densidade de sementeira de 200 kg ha⁻¹ na parcela de sequeiro e 300 kg ha⁻¹ na de regadio. A variedade de trigo mole semeada foi a Quiriko, a qual apresenta características panificáveis e um bom potencial produtivo, sendo tolerante à septoria e à ferrugem. Imediatamente a seguir à sementeira, foi realizada uma passagem com um vibrocultor, com 6 metros de largura de trabalho, com o objetivo de enterrar a semente e o adubo. Na parcela de regadio, realizou-se um controle de infestantes em pré-emergência, utilizando-se um pulverizador de pressão de jato projetado, com uma barra de 12 metros de comprimento. Neste controle de infestantes, aplicou-se o herbicida comercial TAISEN® 800 EC, cuja substância ativa é o prossulfocarbe 78.9% (= 800 g L⁻¹), com uma dose de 4 L ha⁻¹ de produto comercial (3200 g.sa. ha⁻¹) (dose máxima recomendada) e 300 L ha⁻¹ de volume de calda. Na parcela de sequeiro, não foi realizada qualquer operação de controle de infestantes após a sementeira, tendo-se verificado uma infestação significativa na cultura, tanto de infestantes de folha larga (dicotiledóneas), como de folha estreita (monocotiledóneas), principalmente *Lolium rigidum* G. (erva-febra).

A precipitação ocorrida em várias semanas consecutivas dificultou a realização de algumas operações culturais, nomeadamente o controle de infestantes em pós-emergência e a adubação de cobertura, conseguindo-se, no entanto, realizar apenas uma adubação de cobertura com o adubo comercial Nergetic DS+ 24-0-0 + SO₃ em cada

parcela, tendo-se aplicado 150 kg ha⁻¹ no sequeiro e 200 kg ha⁻¹ no regadio. Na parcela de regadio, foi feita uma aplicação foliar de zinco, por se ter verificado em análises realizadas, que o solo tinha zinco em déficit, o que iria comprometer a produção. Aplicou-se o produto comercial Tecnifol Zinco (10% Zinco solúvel em água), com uma dose 1 L ha⁻¹, aquando da aplicação da mistura de herbicidas de pós emergência. Os herbicidas de pós-emergência aplicados, foram o comercialmente designado de Broadway (2,3 % (p/p) de florasulame + 6,8 % de piroxsulame + 6,8 % de cloquintocete-metilo), tendo-se utilizado uma dose de 0,275 kg ha⁻¹ de produto comercial e o Axial Pro cujas substâncias ativas são pinoxadeno ou 6,20 % (=60 g L⁻¹) e o cloquintocete-metilo 1,55 % (= 15 g L⁻¹), aplicando-se 0,3 L ha⁻¹ de produto comercial. O volume de calda utilizado, foi de 300 L ha⁻¹.

Na fase de encanamento do trigo, respetivamente no segundo nó (estádio 32 da escala de Zadoks), na parcela de sequeiro e terceiro nó (estádio 33 da escala de Zadoks) na parcela de regadio, foram realizados os primeiros tratamentos foliares com *Ascophyllum nodosum* e quitosano, com uma dose de 3 L ha⁻¹ de cada um dos produtos comerciais que se traduziu em 0,6 L ha⁻¹ de matéria seca de *Ascophyllum nodosum* e 0,00309 g ha⁻¹ de quitosano respetivamente, repetindo-se a aplicação em metade dos talhões tratados, após 21 dias com a mesma dose, situando-se o trigo no início de floração em ambas as parcelas (estádio 61 da escala de Zadoks) tendo-se aplicado nestes, 3 L ha⁻¹ de cada produto comercial o que se traduziu no total das aplicações em 6 L ha⁻¹, numa concentração de 1,2 L ha⁻¹ de matéria seca de *Ascophyllum nodosum* e 0,00618 g ha⁻¹ de quitosano. No final de abril, realizou-se a recolha de três folhas de trigo, por cada talhão, que foram congeladas imediatamente após a sua recolha, em azoto líquido de forma a preservá-las do “stress” oxidativo e possibilitando o estudo da resposta genica, da aplicação dos produtos na cultura. Na última quinzena do mês de maio foi realizada uma rega na parcela de regadio, através de pivot com uma dotação de 10 mm e em meados de junho, realizou-se a colheita da cultura em cada um dos talhões dos ensaios.

O Quadro 3.4, mostra as diversas operações culturais e as aplicações dos elicitores realizadas, nos dois ensaios.

Quadro 3.4. Calendário das operações culturais e aplicação de elicitores efetuadas nos dois ensaios (sequeiro e regadio), no ano agrícola de 2023/2024.

Data	Operações culturais
23 de novembro	Controlo de infestantes em pré-sementeira, preparação da cama da semente
28 de novembro	Adubação de fundo, sementeira e adubação de fundo e passagem de vibrocultor
30 de novembro	Controlo de infestantes em pré-emergência na parcela de regadio
21 fevereiro	Controlo de infestantes em pós-emergência e aplicação de zinco
22 fevereiro	Aplicação de adubo de cobertura
15 de março	1ª Aplicação de <i>Ascophyllum nodosum</i> 3 L L ha ⁻¹ e quitosano 3 L ha ⁻¹
5 de abril	2ª aplicação de <i>Ascophyllum nodosum</i> 3 L ha ⁻¹ e quitosano 3 L ha ⁻¹
22 de abril	Colheita de folhas
11 de junho	Colheita da cultura

3.3. Tratamentos e Delineamento Experimental

O Quadro 3.5, mostra os diferentes tratamentos que se realizaram no ensaio de sequeiro e no de regadio.

Quadro 3.5. Tratamentos efetuados com os elicitores

T0 - Testemunha (controlo)
T1 - Uma aplicação de <i>Ascophyllum nodosum</i> - 3L ha ⁻¹ (0,6 L ha ⁻¹ de matéria seca)
T2 - Duas aplicações de <i>Ascophyllum nodosum</i> – 6 L ha ⁻¹ (1,2 L ha ⁻¹ de matéria seca)
T3 - Uma aplicação de quitosano – 3 L ha ⁻¹ (0,00309 g ha ⁻¹)
T4 - Duas aplicações de quitosano – 6 L ha ⁻¹ (0,00618 g ha ⁻¹)

O ensaio foi delineado em blocos causalizados, com 4 repetições em cada tratamento, como se pode verificar pela Figura 3.3.

REP I

T4	T0	T3	T1	T2
----	----	----	----	----

REP II

T3	T1	T0	T2	T4
----	----	----	----	----

REP III

T1	T4	T2	T0	T3
----	----	----	----	----

REP IV

T2	T3	T0	T4	T1
----	----	----	----	----

Figura 3.3. Esquema dos ensaios desenhado em blocos com cada uma das repetições

3.4. Observações e Determinações

3.4.1. Produção de Grão por Unidade de Área

Para a determinação da produção de grão por unidade de área, colheram-se duas amostras de espigas em cada um dos talhões, cuja área era de 32 m² (4 m x 8 m) utilizando-se quadrados de madeira de 50 cm de lado, perfazendo uma área de 250 cm² cada um e uma área total colhida por talhão, de 0,5 m. Estes quadrados, foram colocados na parte central de cada um dos talhões. As amostras recolhidas manualmente, utilizando-se uma foice para o efeito, foram posteriormente debulhadas numa debulhadora fixa, própria para ensaios (Figura 3.4).



Figura 3.4. Debulhadora fixa

A área colhida permitiu, determinar-se a produção de grão por unidade de área (g m^{-2}) através da seguinte expressão:

$$\text{Produção Grão } (\text{gm}^{-2}) = \text{Produção Grão seco } (\text{gm}^{-2}) \times \frac{[1 - \text{Teor de humidade}]}{100}$$

(Equação 1)

O teor de humidade determinou-se em estufa, com uma temperatura de 65°C até que o peso seja constante, considerando-se o peso do grão para 8% de humidade, através da multiplicação da produção de grão seco, por 1,08.

3.4.2. Peso de 1000 grãos

Determinou-se o peso de 1000 grãos (g), retirando-se de cada tratamento uma amostra de grão, e realizando-se uma contagem em laboratório manual. Os 1000 grãos, foram colocados em estufa a 65°C , até peso constante.

3.4.3. Número de grãos por unidade de área

O número de grãos por unidade de área, determinou-se através da expressão que faz relação entre a produção de grão por metro quadrado e o peso de 1000 grãos:

$$N^{\circ} \text{ grãos } m^2 = \text{Produção grão } (gm^{-2}) \times \left[\frac{1000}{\text{Peso de 1000 grãos secos } (g)} \right]$$

(Equação 2)

3.4.4. Índice de Colheita

O índice de colheita da produção de matéria seca total (grão + palha), do número de espigas por unidade de área e do número de grãos por espiga determinou-se através da recolha de 100 espigas no centro de cada talhão do ensaio

O índice de colheita obteve-se através da relação entre o peso do grão seco e o peso da biomassa seca (grão + palha), pela expressão:

$$\text{Índice de Colheita} = \frac{\text{Produção de Grão } (gm^{-2})}{[\text{Produção Grão } (gm^{-2}) + \text{Produção Palha } (gm^{-2})]}$$

(Equação 3)

3.4.5. Matéria seca total por unidade de área

Determinou-se a matéria seca total por unidade de área ($g \text{ m}^{-2}$), através do somatório da produção de palha seca com a produção de grão seco.

3.4.6. Número de espigas por unidade de área

O número de espigas por metro quadrado determinou-se através do peso do grão de 100 espigas e do peso do grão por metro quadrado, pela expressão:

$$N^{\circ} \text{ de espiga } m^{-2} = \frac{(100 \times \text{peso do grão } m^{-2})}{\text{peso do grão de 100 espigas}}$$

(Equação 4)

3.4.7. Número de grãos por espiga

O número de grãos por espiga foi determinado pela relação entre o número de grãos m^{-2} e o número de espigas m^{-2} , através da expressão:

$$N^{\circ} \text{ de grãos espiga} = \frac{n^{\circ} \text{ de grãos } m^{-2}}{n^{\circ} \text{ de espigas } m^{-2}}$$

(Equação 5)

3.5. Análise da Expressão de Genes

3.5.1. Recolha das amostras

A recolha das amostras foi realizada 16 dias após a segunda aplicação de *Ascophyllum nodosum* e quitosano. A amostra recolhida era composta por 3 folhas de trigo por cada talhão de cada um dos ensaios. Imediatamente após a recolha as folhas, estas foram colocadas em tubos de 50 mL e congeladas em azoto líquido, para que o RNA se mantivesse integro.



Figura 3.5. Congelação de amostras de folhas em azoto líquido

Já em laboratório, as amostras foram maceradas com recurso a azoto líquido com o apoio de um pilão e de um almofariz. Depois de as mesmas se encontrarem maceradas até à obtenção de um pó fino, foram conservadas em microtubos de 1,5 mL e mantidas a $-80^{\circ}C$ até posterior utilização.

3.5.2. Extração do RNA do material vegetal e síntese do DNA complementar

A extração do RNA realizou-se com recurso ao ‘Nzy Plant/Fungi RNA Isolation Kit’ seguindo protocolo do fabricante, tendo-se utilizado 100 mg de material vegetal.

Concluído o procedimento, as amostras foram eluídas em 50 µL de solução de eluição, disponibilizada pelo kit.

Foi quantificado o RNA total e avaliada a sua pureza utilizando o equipamento Quawell Q9000 microespectrofotómetro (Quawell Technology, Beijing, China).

Foi posteriormente conservado o RNA a -80 °C.

3.5.3. Síntese do DNA complementar (cDNA)

Efetuuou-se a síntese o de cDNA de todas as amostras, utilizando-se o kit “Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR” (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) e seguindo-se o protocolo, facultado pelo fabricante.

Realizou-se a síntese do cDNA posteriormente à descongelação e homogeneização das amostras de RNA previamente recolhidas. Utilizou-se 1000 ng e RNA de cada amostra. Da solução de cDNA realizou-se uma diluição de 1:10 para os passos seguintes.

3.5.4. Amplificação por PCR quantitativo (qPCR)

No processo de amplificação por reação de qPCR utilizaram-se de cada amostra 12,5 ng de cDNA, 10 µL de Nzy qPCR Master Mix (Nzytech, Lisboa, Portugal), 400 nM de Primer ‘Forward’ e Primer ‘Reverse’ e 5,9 µL de água ultrapura, totalizando um volume total de reação de 20 µL.

O dispositivo de qPCR utilizado foi um sistema LineGene9600Plus (BIOER, Hangzhou, China). Para todos os testes, realizaram-se três replicas técnicas de cada amostra.

Os registos de *Cycle Threshold (Ct)* foram obtidos através de qPCR, para cada uma das amostras, com as seguintes determinações: 20 s a 95 °C para uma desnaturação

inicial, com um posterior programa de amplificação de 40 ciclos de 15 s de desnaturação a 95 °C e 20 s a 60 °C. Acrescentou-se uma curva de dissociação (curva de *melting*), com a finalidade de testar a especificidade do qPCR, evidenciando um único ciclo a 95 °C durante 15 s, 60 °C durante 1 min e ‘*rump-up*’ 0,2 °C/s a 95 °C durante 15 min.

3.5.5. Primers específicos

Com o objetivo de realizar as análises para avaliar a expressão dos genes, selecionaram-se quatro genes de referência: *GAPDH*, *Actina*, *FNR11* e *Cell division control protein*, conforme apresentados no Quadro 3.6. A seleção dos genes alvo a estudar, diretamente relacionados com as respostas a “stresses” na planta de trigo, foi realizada com base em referências relativas ao envolvimento dos mesmos nos sistemas de defesa do trigo, tendo-se considerado os seguintes genes: *SOD- Mn*, *APX4*, *APX8*, *GPX1*, *GPX4*, *SOD1*, *Trx*, *CAT*, representados Quadro 3.7. Os *primers* específicos para a detecção da expressão genética foram desenvolvidos e facultados pela Doutora Catarina Campos.

Quadro 3.6. Genes de referência com o tamanho dos amplicões. Pb: pares de bases

Gene de Referência	Sequência dos primers (5'→3')	Amplicação (Pb)	Referência
<i>GAPDH</i>	Confidencial	94	Campos, C. (não publicado)
<i>Actin</i>	Confidencial	94	Campos, C. (não publicado)
<i>Cell division control protein (Ta54227)</i>	Confidencial	227	Campos, C. (não publicado)
<i>FNR11 (ferredoxin-NADP(H) oxidoreductase)</i>	Confidencial	107	Campos, C. (não publicado)

Quadro 3.7. Genes alvo e tamanho dos amplicões. pb: pares de bases

Genes	<i>Sequência dos primers (5'→3')</i>	Amplicon (bp)	Referência
<i>SOD-Mn</i>	Confidencial	83	Campos, C. (não publicado)
<i>APX4</i>	Confidencial	85	Campos, C. (não publicado)
<i>APX8</i>	Confidencial	93	Campos, C. (não publicado)
<i>GPX1</i>	Confidencial	113	Campos, C. (não publicado)
<i>GPX4</i>	Confidencial	103	Campos, C. (não publicado)
<i>SOD1</i>	Confidencial	152	Campos, C. (não publicado)
<i>Trx (Thioredoxin)</i>	Confidencial	201	Campos, C. (não publicado)
<i>CAT</i>	Confidencial	249	Campos, C. (não publicado)

Para a avaliação da especificidade dos *primers* foi indispensável analisar a curva de *melting* criada após a amplificação. As condições de amplificação de qPCR utilizadas foram as descritas em 3.5.4

A avaliação da eficiência dos *primers* foi realizada com recurso ao cDNA obtido previamente conforme descrito no ponto 3.5.3. e a uma mistura composta pelas 20 amostras de cada ensaio respetivamente. Após esta mistura foram realizadas cinco diluições em série da concentração de cDNA (1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64). As reações qPCR foram realizadas em placas de 96 poços (NERBE Plus, Alemanha) com três repetições e incluíram-se controlos negativos em todas as placas. Determinaram-se os valores de declive e linearidade (R^2) para cada conjunto de *primers*. A eficiência (E) foi calculada para cada conjunto de *primers* através da seguinte formula.

$$E(\%) = \left(10 - \left(\frac{1}{\text{declive}}\right) - 1\right) \times 100$$

(Rasmussen, 2001)

(Equação 6)

3.5.6. Avaliação da Estabilidade da Expressão dos Genes

A estabilidade da expressão dos genes foi avaliada com recurso à utilização dos genes de referência e a uma seleção de genes para a normalização dos dados utilizados. A avaliação foi efetuada com recurso ao software *geNorm* (Vandesompele *et al.*, 2002).

A seleção efetuada foi baseada no parâmetro M, que deverá ter um valor sempre inferior a 1.5 para que seja garantida a estabilidade. O estudo da expressão do gene alvo, obriga a que os valores de *Ct* sejam regredidos no logaritmo da curva cDNA anteriormente construída. Em seguida, as unidades arbitrárias normalizadas de expressão do gene alvo obtidas para cada amostra, com recurso aos fatores de normalização derivados dos genes de referência.

3.6. Análise do Microbioma do Solo

3.6.1. Extração de DNA do Solo

Para a realização da extração de DNA do solo recorreu-se ao kit DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha). Foram utilizadas 150 mg de solo, de uma amostra compósita do talhão de sequeiro e outra do talhão de regadio, cuja recolha foi efetuada antes da instalação da cultura, e realizou-se a extração seguindo o procedimento descrito pelo fabricante.

3.6.2. Análise Metagenómica

A análise metagenómica é uma ferramenta para o estudo da diversidade microbiológica do solo (microbioma). Foram enviados 20 µL do DNA total de solo extraído conforme referido em 3.6.1. As amostras foram enviadas para o laboratório da empresa StabVida, onde foi realizado um controlo de qualidade à integridade e concentração do DNA presente de forma a garantir que as amostras se encontram em condições para a realização do processo. Foram utilizados os *primers*, Fungal ITS1 region between the 18S - 5.8S rRNA genes (ITS1f: 5'

CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA 3'; ITS2: GCTGCGTTCTTCATCGATGC). A análise dos dados foi realizada com recurso ao software QIIME2 2023.9.

Como se trata de uma análise de diversidade de espécies é necessário que o número de leituras se situe entre 50.000 e 100.000 por amostra, selecionando-se diferentes sequências para a realização da curva de rarefação.

As leituras são organizadas posteriormente, por características que são unidades taxonómicas operacionais (UTO) sendo por último classificadas taxonomicamente.

3.7. Análise Estatística

3.7.1. Dos Parâmetros Agronómicos

Para analisar os resultados obtidos no ensaio, através de tratamento estatístico, recorreu-se à análise de variância e elaboração de equações de regressão. A análise de variância relacionou os tratamentos efetuados com a produção e os seus componentes. Esta análise foi realizada de acordo com o delineamento experimental do ensaio e tendo-se verificado todos os pressupostos da ANOVA, que são respetivamente, as amostras aleatórias e independentes, as populações apresentarem uma distribuição normal e as variâncias populacionais serem iguais. A separação de médias, foi efetuada com recurso ao teste F para um nível de significância de 5 % ($p\text{-value} \leq 5\%$), de acordo com o teste de separação múltipla de médias de Duncan. O programa estatístico utilizado, foi o MSTAT-C (versão 1.42) (Michigan State University). O modelo utilizado deste programa, foi o 7. As equações de regressão, foram determinadas utilizando o programa Excel 2016 (Office 365).

3.7.2. Da Expressão dos Genes

De modo a analisar os resultados da análise metagenómica obtidos em laboratório, através dos dados de expressão de genes previamente apresentados, foi realizado o teste Kruskal-Wallis 1-way ANOVA (análise de variância) utilizando o software IBM SPSS Statistics (IBM SPSS Statistics for Windows, version 20.0, Armonk, NY IBM Corp) com um nível de significância de 5 % ($p\text{-value} \leq 5\%$).

4. Análise e Discussão dos Resultados

4.1. Estudo da Componente Agronómica da Cultura do Trigo

Não obstante se ter verificado uma menor produção por unidade de área da cultura do trigo no ensaio em condições de sequeiro (Quadro 4.1) relativamente ao ensaio em condições de regadio (Quadro 4.2) o que se justifica devido à água deixar de ser o fator limitante à produção, em ambos os ensaios não se verificaram diferenças significativas na produtividade da cultura, entre os diferentes tratamentos. Mesmo os talhões testemunha (T0) produziram significativamente o mesmo, que os talhões onde se aplicaram os elicitores, apesar de nestes, ter sido visível um menor ataque de Septoriose da espiga.

Assim, os resultados obtidos nestes ensaios, contrariam os obtidos por Rouphael & Colla (2020), os quais referem que a aplicação de bioestimulantes promovem o desenvolvimento da planta, bem como a absorção de macro e micronutrientes, aportando aumentos de produtividade. Também, Corkley *et al.* (2022) e Ducatti *et al.*, 2023. referem um aumento da produtividade da cultura do trigo, com a aplicação de elicitores.

O mesmo nível de adubação e o deficiente controlo de infestantes nos ensaios, poderá ter sido suficiente, para se ter verificado uma diferença não significativa na produção de grão por unidade de área, entre todos os tratamentos, incluindo o controlo (testemunha).

Quadro 4.1. Produção de grão (g m⁻²) no ensaio de sequeiro

Tratamentos				
T0	T1	T2	T3	T4
255,8	291,5	270,8	309,9	248,3
Fatores	Graus de Liberdade	Valor de F	Quadrados médios	K (probabilidade)
Tratamentos	4	0,7769	2584,506	-
Repetições	3	0,4346	1445,964	-
Erro	12	-	3326,781	-
Coeficiente de variação = 20,95 %				

Quadro 4.2. Produção de grão (g m⁻²) no ensaio de regadio

Tratamentos				
T0	T1	T2	T3	T4
283,9	282,0	317,3	352,8	319,5
Fatores	Graus de Liberdade	Valor de F	Quadrados médios	K (probabilidade)
Tratamentos	4	2,1734	3434,022	0,1339
Repetições	3	1,9754	3121,177	0,1715
Erro	12	-	1580,007	-
Coeficiente de variação = 12,78 %				

4.1.1. Relação entre os Componentes da Produção, a Matéria Seca Total, o Índice de Colheita e a Produção de Grão

No ensaio de sequeiro (Quadro 4.3 e Anexo 3) não se verificaram quaisquer diferenças significativas relativamente aos componentes da produção, matéria seca total por unidade de área e índice de colheita,

No ensaio de regadio (Quadro 4.4 e Anexo 4) obtiveram-se diferenças significativas entre tratamentos, relativamente ao número de grãos por unidade de área e ao número de espigas por unidade de área. Foi o tratamento T1 [(uma aplicação de *Ascophyllum nodosum* - 3L ha⁻¹ (0,6 L ha⁻¹ de matéria seca)], aquele que obteve um menor e significativo número de grãos m⁻², enquanto o maior e significativo valor deste componente da produção, foi obtido pelo tratamento T3 [(uma aplicação de Quitosano – 3 L ha⁻¹ (0,00309 g ha⁻¹)]. Foi igualmente este último tratamento (T3), aquele que obteve um maior e significativo número de espigas m⁻², enquanto o menor e significativo valor deste componente da produção, se verificou no tratamento testemunha (T0). Neste ensaio, o significativamente maior número de espigas por unidade de área obtido nos tratamentos com elicitores, relativamente ao tratamento testemunha, está de acordo com resultados obtidos por Ben-Jabeur *et al.*, (2019), os quais num ensaio realizado durante três anos em trigo duro, para avaliar o efeito da aplicação de elicitores no rendimento e como ativador de defensas para a prevenção da septoriose, verificaram que os elicitores ativaram os mecanismos de defesa, dando uma resposta positiva para esta doença, obtendo-se um aumento do número de espigas por metro quadrado.

Quadro 4.3. Efeito dos diferentes tratamentos nos componentes da produção, na matéria seca total e no índice de colheita, no ensaio de sequeiro

Parâmet. Trat.	Peso de mil grãos (g)	Nº de grãos m⁻²	Matéria seca total (g m⁻²)	Nº de espigas m⁻²	Nº de grãos por espiga	Índice de Colheita
T0	30,9	7670	548,4	164	49	0,472
T1	32,6	8304	627,3	174	49	0,468
T2	35,2	7097	570,1	166	43	0,475
T3	34,5	8372	621,4	197	43	0,520
T4	34,0	6772	517,1	149	45	0,487

Quadro 4.4. Efeito dos diferentes tratamentos nos componentes da produção, na matéria seca total e no índice de colheita, no ensaio de regadio

Parâmet. Trat.	Peso de mil grãos (g)	Nº de grãos m⁻²	Matéria seca total (g m⁻²)	Nº de espigas m⁻²	Nº de grãos por espiga	Índice de Colheita
T0	32,9	8109 b	561,3	209 c	39	0,485
T1	33,3	7845 c	568,0	225 b	38	0,477
T2	33,4	8937 b	643,3	269 b	33	0,475
T3	30,8	10604 a	692,9	316 a	34	0,495
T4	33,4	8881 b	654,4	246 b	37	0,472

Os valores seguidos pela mesma letra ou letras, não são significativamente diferentes para um nível de probabilidade de 5 %, pelo teste de separação múltipla de médias de Duncan

Ensaio de sequeiro

A Figura 4.1 mostra uma correlação altamente significativa, entre a produção de grão por unidade de área e o número de grãos por unidade de área.

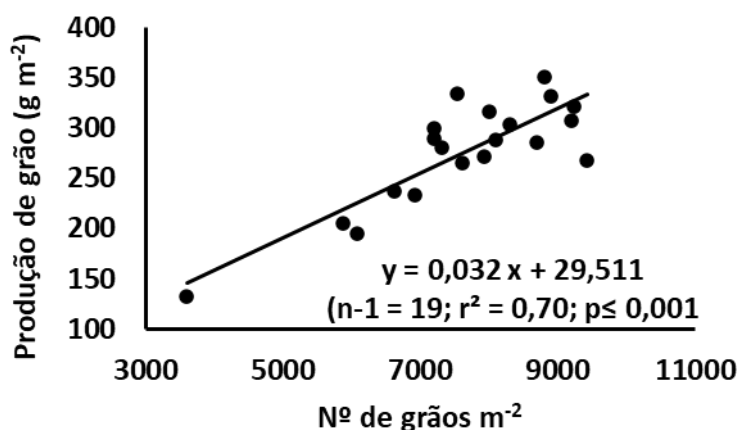


Figura 4.1. Relação entre o número de grãos m^{-2} e a produção de grão no ensaio de sequeiro

Também, a relação entre a produção de grão por m^2 e o número de espigas m^2 , foi altamente significativa (Figura 4.2), bem como a relação entre a produção de grão por unidade de área e a produção de grão por unidade de área (Figura 4.2).

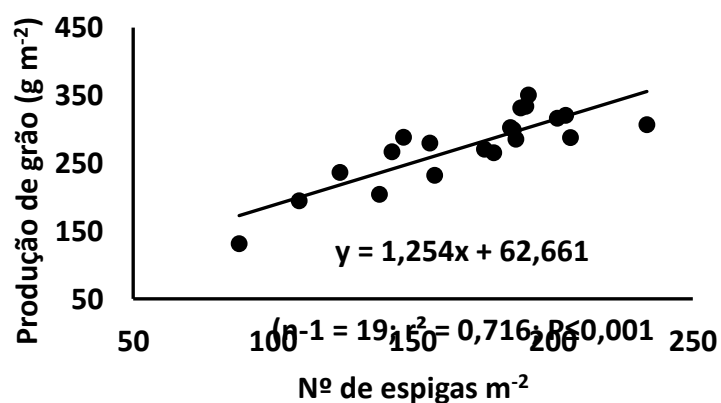


Figura 4.2. Relação entre o número de espigas m^{-2} e a produção de grão no ensaio de sequeiro

A correlação entre a produção de grão m^2 e a matéria seca g m^2 (Figura 4.3) foi muito significativo, com o coeficiente de determinação igual a 0,85. Pelos resultados obtidos, é possível aferir que a produção de matéria seca tem um impacto direto e favorável na produção de grão na cultura do trigo (Mollasadeghi *et al.*, 2011).

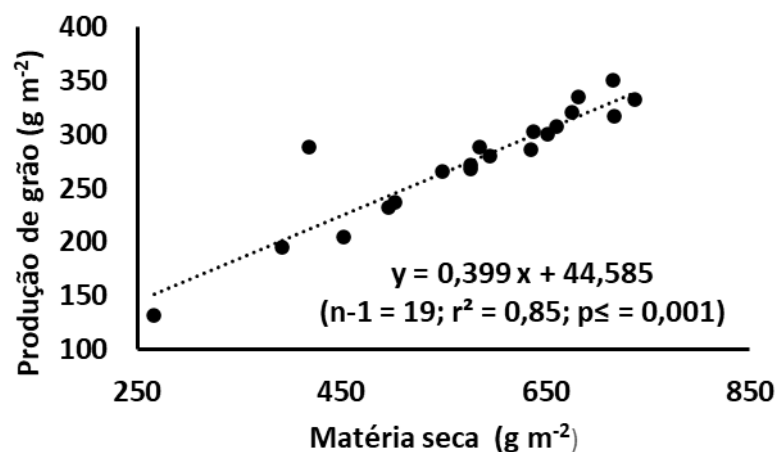


Figura 4.3. Relação entre a produção de matéria seca total e a produção de grão no ensaio de sequeiro

Relação entre o peso de mil grãos (g) e a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = 6,574x + 55,46 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,17; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 7})$$

Relação entre o número de grãos por espiga e a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = 1,42x + 339,9 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,031; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 8})$$

Relação entre o índice de colheita e a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = 19,84x + 284,9 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,0004; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 9})$$

Pelas equações 1, 2 e 3, constata-se que a relação entre o peso de mil grãos, o número de grãos por espiga, o índice colheita e a produção de grão por unidade de área, não foi significativa.

Ensaio de regadio

Também, no ensaio de regadio a relação entre o número de grãos por unidade de área e a produção de grão por unidade de área foi bastante significativa (Figura 4.4).

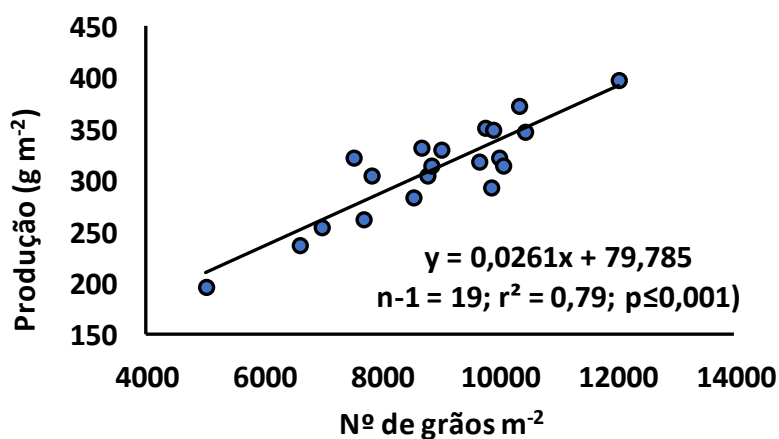


Figura 4.4. Relação entre o número de grãos m⁻² e a produção de grão no ensaio de regadio

Não obstante um menor coeficiente de determinação ($r^2 = 0,483$) obtido na relação entre o nº de espigas m⁻² e a produção de grão m⁻² tivesse sido inferior ao obtido no ensaio de sequeiro ($r^2 = 0,716$), a correlação entre estes dois parâmetros continuou a ser altamente significativa neste ensaio de regadio.

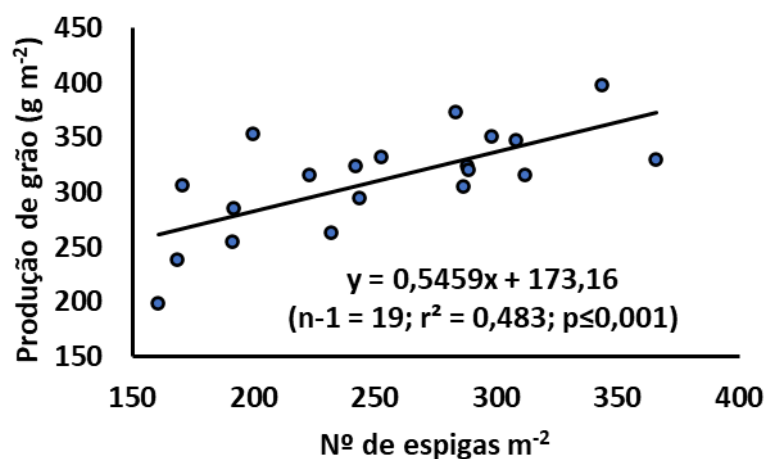


Figura 4.5. Relação entre o número de espigas m⁻² e a produção de grão no ensaio de regadio

À semelhança do sucedido no ensaio de sequeiro, a produção de matéria seca por unidade de área esteve significativamente correlacionada com a produção de grão por unidade de área (Figura 4.6).

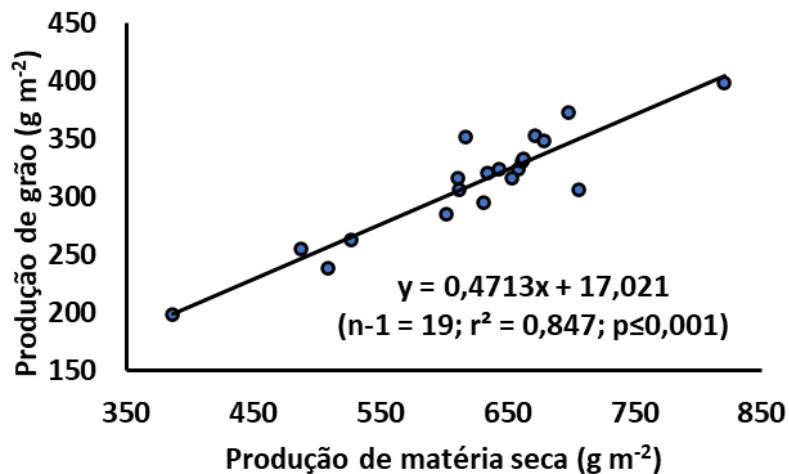


Figura 4.6. Relação entre a produção de matéria seca total e a produção de grão no ensaio de regadio

As equações 4, 5 e 6 mostram uma correlação não significativa entre o peso de mil grãos, o número de grãos por espiga, o índice de colheita e a produção de grão por unidade de área.

Relação entre o peso de mil grãos (g) e a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = -286 x + 404,88 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,03; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 10})$$

Relação entre o número de grãos por espiga e a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = 0,089 x + 307,9 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,002; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 11})$$

Relação entre o índice de colheita a produção de grão (g m⁻²)

$$Y = 454,02 x; + 92,6 \quad (n-1 = 19; r^2 = 0,067; \text{n.s}) \quad (\text{Equação 12})$$

Os resultados obtidos nos dois ensaios (sequeiro e regadio) estão de acordo com Moral *et al.*, (2003), os quais referem que a produção de grão na cultura do trigo em condições de temperaturas altas, é influenciada principalmente pelo número de espigas

por metro quadrado. Também Metho *et al.*, (1988), referem que para uma maior produtividade da cultura do trigo, o número de espigas por unidade de área é um componente da produção muito importante. A relação altamente significativa obtida nos ensaios, entre a produtividade da cultura e o número de grãos por metro quadrado e a relação não significativa entre o peso de 1000 grãos e a produção de grão por unidade de área, estão de acordo com Slafer *et al.*, (2014) os quais referem, que o número de grãos por unidade de área contribui mais para a produtividade da cultura, que o peso médio do grão. A correlação positiva e altamente significativa entre a produção de matéria seca total por unidade de área e produção de grão por unidade de área obtida nestes ensaios, está de acordo com os resultados obtidos por Mollasadeghi *et al.*, (2011).

4.2. Estudos Genéticos Relacionados com a Cultura do Trigo

4.2.1. Análise Metagenómica

As comunidades microbiológicas presentes no solo apresentam elevados padrões de diversidade fisiológica, genómica e metabólica. Os métodos para explorar estas comunidades passam por isolar estes microrganismos em amostras (Torsvik *et al.*, 2002), sendo que para ultrapassar algumas limitações desenvolveram-se métodos moleculares indiretos, como a análise metagenómica. A análise consegue identificar através de uma amostra, as múltiplas espécies de microrganismos (Daniel, 2005; Handelsman, 2004; Hugenholtz, 2002). A análise metagenómica é baseada na análise de DNA total isolado de diversas amostras, denominado de DNA metagenómico utilizando *primers* universais (Dokić *et al.*, 2010).

A análise metagenómica é uma importante ferramenta para tornar possível conhecer os microrganismos que se encontram nos ecossistemas, e explorar esse conhecimento permitiu isolar enzimas que anteriormente não eram conhecidas e desenvolver novos produtos fitofarmacêuticos (Simon *et al.*, 2011). O mesmo autor refere que este tipo de análises, foram cruciais para a descoberta da diversidade taxonómica e funcional das comunidades microbiológicas presentes no solo.

Segundo Feng *et al.*, (2018), em solos contaminados com metais pesados através de uma análise metagenómica é possível identificar a presença das comunidades de

microrganismos, verificando-se também que a contaminação por metais pesados reduz a sua diversidade deixando comprometida a estrutura do solo.

Os resultados obtidos da análise metagenômica do solo (Anexos 7 e 8), refletem a diversidade microbiológica presente nas amostras do solo nas parcelas de sequeiro e de regadio, através do número de *reads* apresentado (número de moléculas de cada organismo presentes na amostra analisada). O número de *reads* é o resultado do que o mapeamento do número de leituras impõe às características genômicas de interesse (Liao Y. *et al.*, 2013).

Encontram-se, nos Anexos 7 e 8 os resultados da análise metagenômica da amostra de solo de sequeiro e de regadio.

Nestes Anexos, encontraram-se 54 espécies diferentes pertencentes a 134 gêneros e no regadio 67 espécies e 159 gêneros no sequeiro. Os fungos mais abundantes foram *Talaromyces* sp. *Solicoccozyma aerea* e *Chaetomium angustispirale* no sequeiro e *Albifimbria verrucaria*, *Solicoccozyma aerea* e *Talaromyces* sp. no regadio.

O fungo *Talaromyces* sp., comum à amostra de sequeiro e de regadio, encontra-se amplamente distribuído no solo, este fungo contribui de forma positiva na absorção de nutrientes aumentando a resistência da planta a doenças e estimulando o seu crescimento (Jia *et al.*, 2025).

O fungo *Solicoccozyma aerea*, presente em ambas as amostras, tem bastante influência na rizosfera impactando a solubilização de nutrientes e melhorando a sua absorção pelas plantas (Sarabia *et al.*, 2018).

A amostra de sequeiro, revelou a presença do fungo *Chaetomium angustispirale*, este fungo apresenta uma forte capacidade de decomposição de matéria orgânica em solos com temperaturas elevadas (Liang *et al.*, 2019). O aumento da temperatura do solo aumenta também o crescimento das hifas do fungo, aumentando a sua atividade (Tisdall & Oades, 1982).

Em particular na amostra de regadio, apresentada no Anexo 8, é possível verificar uma elevada percentagem do fungo *Albifimbria verrucária* (Alb. *et al.*, 2016), anteriormente denominada como *Myrothecium verrucaria* (Alb. *et al.*, 1813), é um fungo saprófita endófito (Li *et al.*, 2025). Este fungo apresenta uma atividade bioherbicida e é um promissor agente de controlo biológico (Li *et al.*, 2020).

Analisando a abundância de espécies (Anexos 7 e 8), verificamos em primeiro lugar, que o número de *reads* é diferente na amostra de sequeiro e na amostra de regadio, segundo Lüneberg *et al.*, (2018), esta variação é explicada por adaptações específicas realizadas pela comunidade microbiológica ao teor de humidade, pH, demonstrando-se que a comunidade microbiológica presente em solos de regadio é mais suscetível a alterações do meio ambiente, tais como oscilações de temperatura, excesso ou falta de água.

Nos Anexos 7 e 8 verifica-se que alguns géneros ou espécies de fungos se encontram a negrito representando os géneros os espécies que podem afetar a cultura, tais como *Fusarium* sp. e *Fusarium equiseti*, o que segundo Hazzat *et al.*, (2023), poderá traduzir-se em ausência de emergência de plantas e podridão, impactando de forma negativa a produtividade. O fungo *Fusarium* sp. encontra-se difundido por todo mundo, encontra-se nos restos das plantas, ar e água tendo uma elevada persistência pelas suas estruturas de resistência. O desenvolvimento deste fungo é afetado pelas condições climáticas, tendo-se demonstrado que a temperatura e disponibilidade de água afetam o crescimento do fungo estimulando a sua atividade (Nikitin *et al.*, 2023).

O fungo *Fusarium* sp. está associado a perdas económicas significativas, revelando-se os seus principais sintomas como murchidão e podridão de raízes e sementes, este fungo pode representar perdas de produção até 75 %, e perdas de qualidade muito expressivas pela acumulação de toxinas (Nikitin *et al.*, 2023).

A cultura do trigo é severamente afetada por este fungo, ocorrendo a sua infeção as plantas apresentam sintomas de murchidão, e quando se proporcionam condições favoráveis durante a floração a infeção inicia-se numa espiguetta e vai-se expandindo até que toda a espiga seja infetada provocando grãos enrugados e com baixo peso (Kelly *et al.*, 2015). Além das perdas produtivas este fungo diminui substancialmente a qualidade do trigo pela presença de micotoxinas prejudiciais para a saúde humana e animal (Gärtner *et al.*, 2008; McMullen *et al.*, 2012).

Encontram-se também presentes nos dois solos fungos do género *Trichoderma*, e *Trichoderma koningii*, representados a verde por tratarem de fungos antagonistas, pela sua capacidade de proteção das plantas. O fungo *Trichoderma* sp., encontra-se entre os fungos mais isolados nos ecossistemas (Harman *et al.*, 2004). Segundo Harman *et al.*, (2004), é um fungo simbiote que estabelece uma relação entre si, a planta e o fungo

favorecendo a estabilidade das comunidades microbianas da rizosfera, com recurso a uma variedade de mecanismos que favorecem a saúde e desenvolvimento da planta.

Verifica-se também a presença de fungos do género *Alternaria*, que afeta severamente solanáceas e é um fungo fitopatogénico que promove o aparecimento manchas e compromete o desenvolvimento das culturas, tais como o tomate e a batata (Matas-Baca *et al.*, 2022). A *Alternaria* na cultura do trigo, provoca podridão das sementes e infeção das plântulas, reduzindo significativamente a taxa de germinação (Parello *et al.*, 2013). O fungo afeta também a qualidade do grão, mas segundo Hajnal *et al.*, (2019), pode considerar-se seguro, uma vez que as suas toxinas se concentram em partes periféricas do grão, devendo ter-se atenção ao seu teor em farinhas de menor qualidade e subprodutos.

Em percentagens mais pequenas verifica-se também, a presença de *Dactylonectria macrodidyma*, que segundo Leal *et al.*, (2025), é um fungo responsável pela redução da diversidade de fungos no microbioma do solo. O mesmo autor refere que a presença deste fungo compõe alterações notáveis na comunidade fúngica, incluído a declínio da população de fungos simbiotróficos e saprotróficos como *Trichoderma* sp. e aumenta a interações de competição com a cultura principal, criando dominância de redes patogénicas o que leva ao declínio da produtividade.

Identifica-se também a presença de *Cadophora obovata* e *Truncatella angustata*, são fungos, que afetam severamente o desenvolvimento das culturas, sendo que *Truncatella angustata*, também é responsável pela inibição de *Trichoderma* sp.

As amostras de solo apresentam o mesmo número de fungos antagonistas em sequeiro e regadio, mas ao nível dos fungos patogénicos a amostra de regadio apresenta mais fungos que a amostra de sequeiro. O regadio tem uma influência direta no transporte e absorção de nutrientes, crescimento radicular, e no desenvolvimento e distribuição de microrganismos (Deng *et al.*, 2024). A amostra da parcela de regadio apresenta diferenças na sua comunidade microbiológica segundo os mesmos autores, devido à intervenção do regadio. Esta prática afeta as funções dos microrganismos e a atividade das enzimas do solo. Segundo Chen *et al.*, (2019) as práticas agrícolas têm um grande impacto nos microrganismos do solo.

Estudos revelam que o regadio impacta a comunidade microbiológica do solo, pelas condições ótimas de germinação dos esporos e das estruturas de resistência permitindo que desta forma, se reiniciem os ciclos de vida (Ristaino *et al.*, 1992).

A mineralogia do solo também influencia a comunidade microbiológica do solo, pelas suas características físicas, como a porosidade, solos mais porosos tem taxas maiores de lixiviação e os teores de matéria orgânica mais baixos, o que deixa menos nutrientes disponíveis para as comunidades dos microrganismos (Mikutta *et al.*, 2019).

4.2.2. Análise de Expressão de Genes Relacionados com os “Stresses” Bióticos e Abióticos

A análise dos genes *SOD-Mn*, *APX4*, *APX8*, *GPX1*, *GPX4*, *SOD1*, *Trx* e *CAT*, foi realizada a cada uma das quarenta amostras determinando-se a qualidade do RNA pela determinação das absorbâncias. Segundo Rienth *et al.*, (2014), os valores dos rácios 260/230 são indicadores de contaminações orgânicas ou por sais e 260/280 são indicadores de contaminações por proteínas ou fenol. Os valores de referência para uma boa qualidade devem ser superiores a 2,0. Encontram-se, nos Anexos 5 e 6 os resultados da análise da qualidade do RNA das amostras de sequeiro e de regadio.

Em todas as amostras foi realizada uma curva padrão de *melting*, que representa um único pico, que nos indica a temperatura de *melting* do amplicão para cada um dos fragmentos amplificados, respetivamente (Reed *et al.*, 2007).

A comparação dos valores da expressão de genes (unidades arbitrárias normalizadas) permitiu a realização da análise estatística. Através dessa mesma avaliação foi possível verificar que os genes *APX4*, *SOD1* e *TXN* apresentaram valores de *p-value* inferiores a 0,05 não se rejeitando a hipótese nula, ou seja, demonstrando que não existem evidências que comprovem que estes genes se expressem quando foram aplicados os tratamentos.

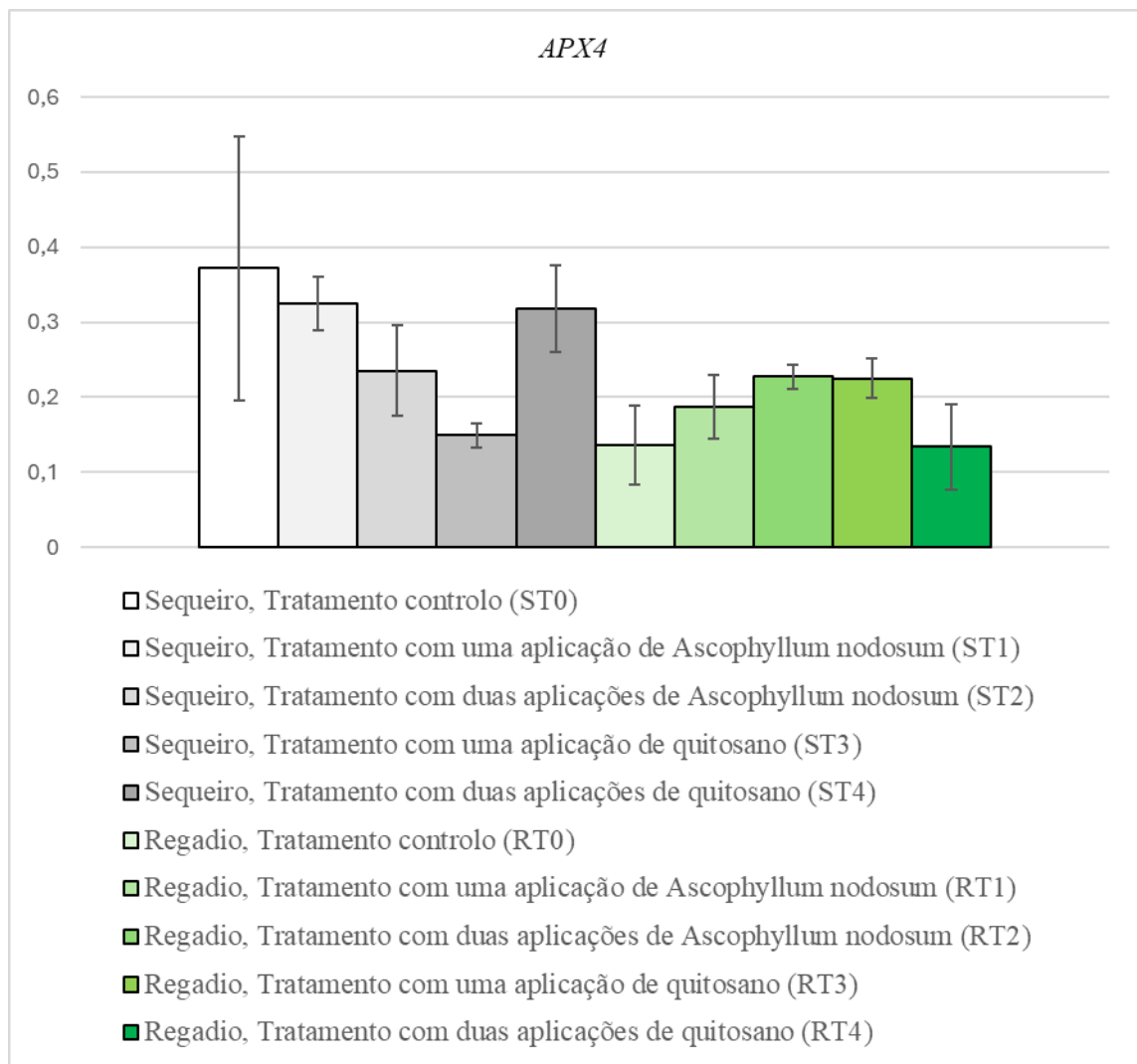


Figura 4.7. Expressão do gene *APX* aos tratamentos com os elicitores

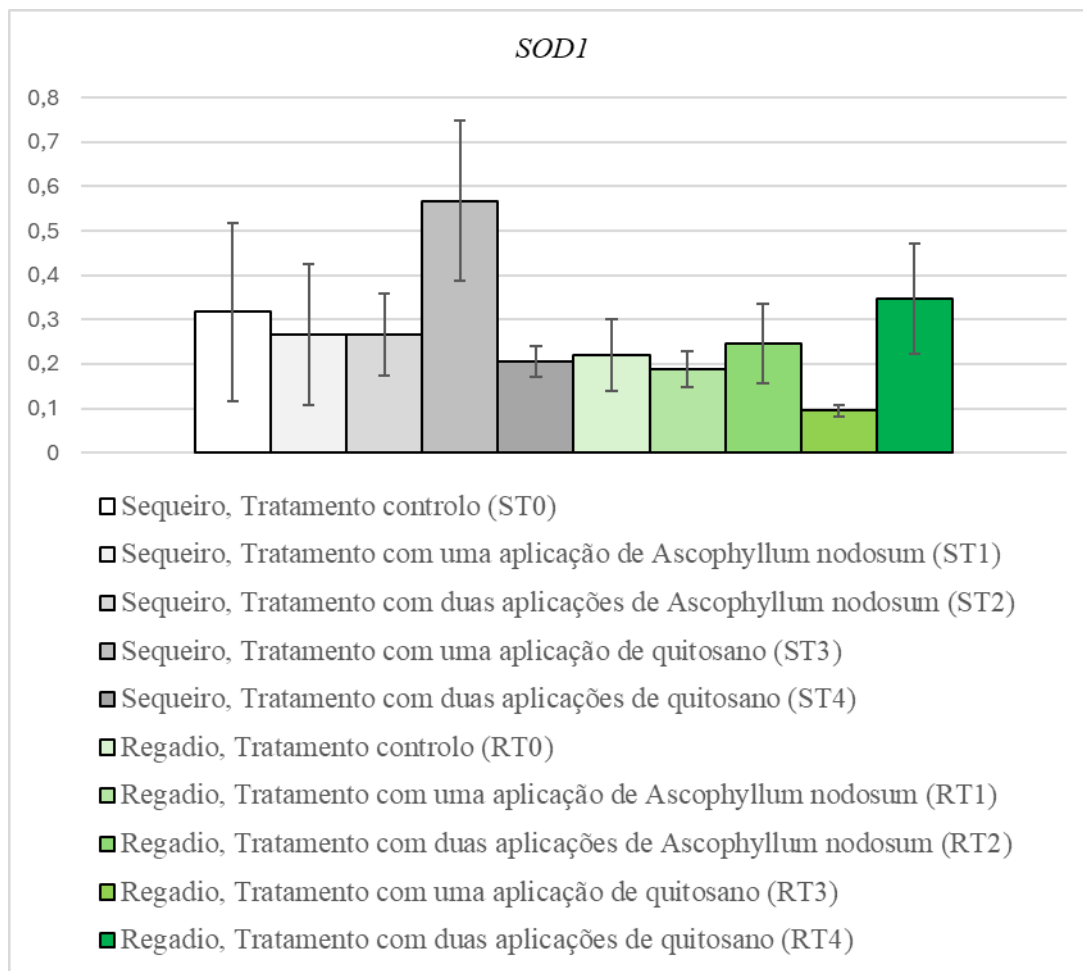


Figura 4.8. Expressão do gene *SOD1* aos tratamentos com os elicitores

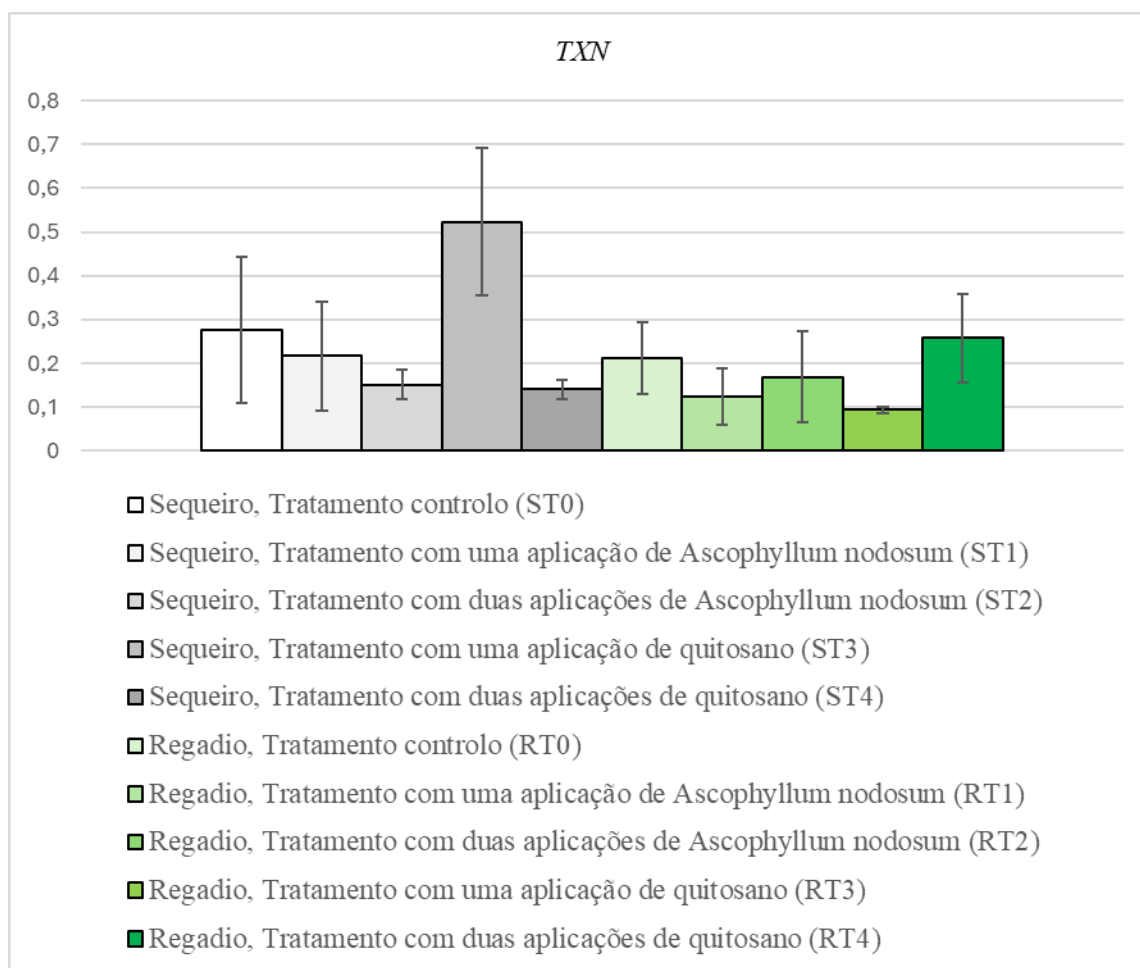


Figura 4.9. Expressão do gene *TXN* aos tratamentos com os elicitores

Pela análise das Figuras 4.7, 4.8, e 4.9 verifica-se que não existem diferenças significativas no que respeita à expressão do gene, relativamente aos tratamentos que foram realizados.

Os genes *APX8* e *GPXI*, através do mesmo teste de independência obtiveram *p-value* superior a 0,05 rejeitando a hipótese nula e demonstrando que os mesmos reagiram aos tratamentos aplicados.

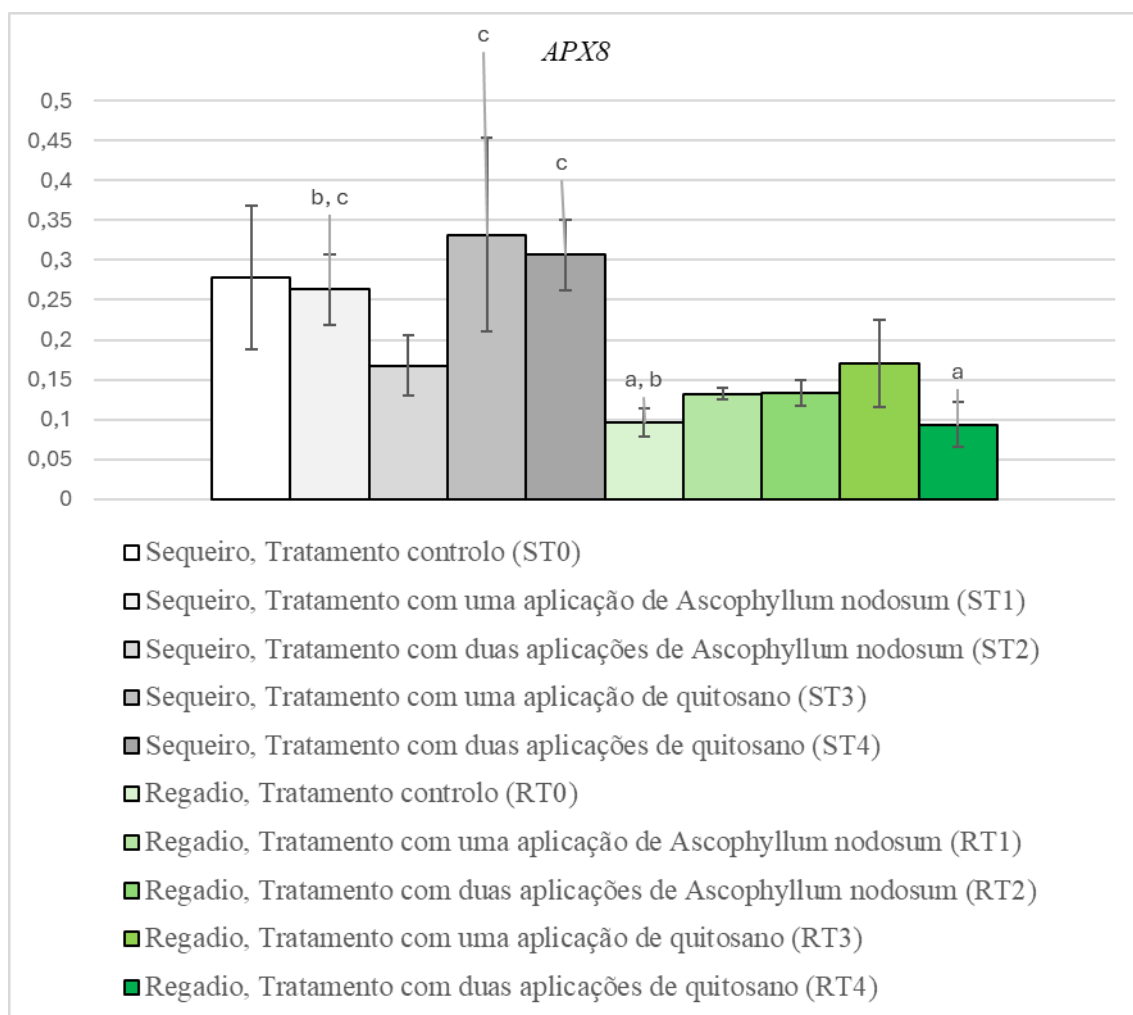


Figura 4.10. Expressão do gene *APX8* ao tratamento com os elicitores

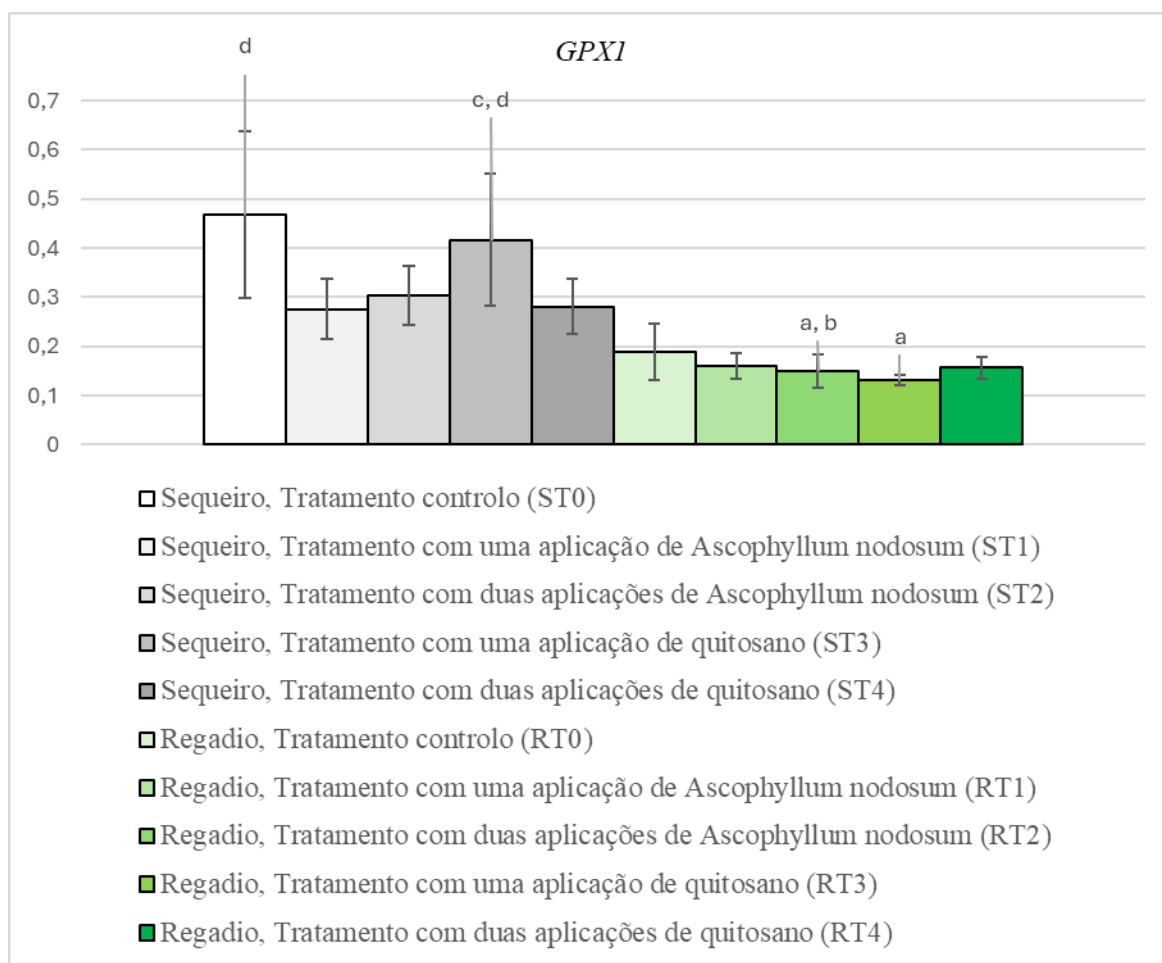


Figura 4.11. Expressão do gene *GPXI* aos tratamentos com os Elicitores

No caso dos genes *APX8* e *GPX* verificam-se diferenças significativas nos tratamentos e estes resultados, são explicados segundo Akbudak *et al.*, (2018) por *APX* e *GPX* serem enzimas antioxidantes vitais para as plantas impactando as ROS.

O stress oxidativo, ROS, é um subproduto, produzido no metabolismo aeróbio em compartimentos celulares, mostrando-se essencial na resposta da planta aos “stresses”, ativando a reposta imunitária inata das plantas (Sahu *et al.*, 2022).

Segundo Torres (2010), a produção de ROS é determinante para a ativação do sistema de defesa das plantas, funcionando desta forma, também como sinalizadoras. No entanto, quando se verifica em níveis elevados, pode acumular-se em compartimentos das células das plantas.

As culturas que se desenvolvem em ambientes adversos e expostas a “stress” verifica-se que existem perturbações nos seus processos metabólicos, culminando em

níveis elevados de peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o que resulta numa ameaça para as suas células (Akbulak *et al.*, 2018; Maruta *et al.*, 2016). Segundo Huang *et al.*, (2017) o gene *APX* tem uma elevada eficácia na eliminação de peróxido de hidrogénio das células.

Analisando a Figura 4.10, verificamos que o gene *APX8* teve uma expressão muito significativa no primeiro tratamento com algas o que segundo Passardi *et al.*, (2017) se relaciona com *APX* estar presente em algas e cloroplastos.

O gene *GPX1*, Figura 4.11, demonstra uma expressão significativa especialmente quando avaliamos os tratamentos ST2, RT2, ST4 e RT4, que são respetivamente o S refere o ensaio em sequeiro e R o ensaio em regadio, os tratamentos T2 são as duas aplicações de algas *Ascophyllum nodosum* e T4 as duas aplicações de quitosano deixando claro, que o gene teve uma reação de expressão ao aumento da dose. Segundo Zhou, Y., *et al.*, (2018), têm sido apresentadas provas nos últimos anos em como as proteínas *GPX* são fundamentais na regulação de stresses abióticos, tais como temperaturas extremas e excesso ou falta de humidade no solo.

Analisando os Anexos 7 e 8 e relacionando os mesmos com as Figuras 4.10 e 4.11, verificamos que no ensaio na parcela de sequeiro verifica-se uma expressão de genes mais significativa após a aplicação de *Ascophyllum nodosum* e quitosano.

A presença de fungos de solo como *Dactylonectria macrodidyma*, na parcela de regadio representa um stress para as plantas e poderá explicar a menor expressão apresentada nas figuras anteriormente referidas, pois conforme referido no ponto 4.2.1, segundo Leal *et al.*, (2025) a presença de fungos como este representam alterações na comunidade fúngica o que se poderá traduzir num maior stress para a cultura.

Ao longo do tempo estas alterações microbiológicas do solo, podem representar também perdas de produtividade devido ao empobrecimento da comunidade de fungos que o compõem.

5. Conclusão Geral

Este trabalho, teve como principal objetivo a avaliação do efeito da aplicação de dois elicitores, *Ascophyllum nodosum* e quitosano, na produtividade e expressão de genes antioxidantes na cultura do trigo mole (*Triticum aestivum* L.), em condições de sequeiro e regadio. Os resultados demonstraram, que embora não se verifiquem diferenças significativas entre tratamentos na produtividade, observaram-se respostas fisiológicas e moleculares relevantes, em particular na expressão dos genes *APX8* e *GPX1*, relacionados com o sistema de indução de defesas das plantas.

A aplicação de *Ascophyllum nodosum* e de quitosano promoveu uma maior expressão de genes envolvidos na resposta de defesa oxidativa, especialmente em condições de sequeiro, o que indica que os elicitores podem contribuir para a mitigação dos efeitos do “stress” hídrico. Estes resultados são confirmados por estudos anteriores, que apontam para a capacidade destas substâncias promoverem os mecanismos de defesa e de aumentarem a tolerância das plantas a “stresses” bióticos e abióticos (Ben-Jabeur *et al.*, 2019; Chandra *et al.*, 2014; Thakur & Sohal, 2013; Torres, 2010).

Ainda que não se tenham registado aumentos significativos de produtividade, a ativação do sistema antioxidante sugere que a resposta positiva observada a nível genético poderá traduzir-se em benefícios agronómicos, nomeadamente na resistência a doenças e na estabilidade fisiológica das plantas (Ducatti *et al.*, 2023; Rouphael & Colla, 2020). A menor expressão génica observada nas parcelas de regadio poderá estar associada ao maior stress fúngico detetado, nomeadamente pela presença de *Dactylonectria macrodidyma*, conforme indicado por Leal *et al.*, (2025), evidenciando o impacto da microbiota do solo sobre as respostas da planta.

Este trabalho salienta, a importância dos elicitores como importantes ferramentas promissoras para uma agricultura mais sustentável, reduzindo a dependência de produtos fitofarmacêuticos de síntese química, de acordo com as metas da União Europeia no âmbito das estratégias “*Farm to Fork*” e “*Green Deal*” (ACientistaAgrícola, 2022). A utilização de substâncias naturais como *Ascophyllum nodosum* e quitosano poderá constituir uma via eficaz para manter a produtividade e promover a resiliência das culturas, alinhando-se com os princípios da sustentabilidade agroambiental e económica.

6. Perspetivas Futuras

A União Europeia, no âmbito das estratégias “Farm to Fork” e “Green Deal”, definiu uma meta para a redução da aplicação de produtos fitofarmacêuticos em 50% até 2030, o que coloca o paradigma da produção e sustentabilidade económica das culturas em causa. O fim de algumas substâncias ativas de síntese coloca sentido de urgência na procura por novas soluções eficazes, para garantir a sustentabilidade das culturas.

De forma a dar continuidade ao estudo e aprofundar conhecimentos, sugere-se a continuação da realização de ensaios de campo com *Ascophyllum Nododum* e Quitosano, assim como de outros elicitores para avaliar, a fase do desenvolvimento da cultura em que devem ser realizadas as aplicações destas substâncias, estudar a sua influência através de análises de expressão de genes e para determinar as substâncias que detêm uma influência benéfica no sistema de defesas da planta.

O estudo aprofundado entre a relação dos microrganismos presentes no solo e a influencia dos mesmos sobre as plantas quer a nível de produtividade, quer a nível de stress oxidativo poderá também, representar um importante fio condutor para novos estudos e novas soluções.

7. Referências Bibliográficas

- Acientistaagricola (2022) Algas: saiba como tirar proveito deste recurso natural para a agricultura - <https://acientistaagricola.pt/2022/11/10/algas-na-agricultura/> (14/07/2025)
- Akbudak, M., Filiz, E., Vatansever, R., Kontbay, K. (2018) Genome-Wide Identification and Expression Profiling of Ascorbate Peroxidase (APX) and Glutathione Peroxidase (GPX) Genes Under Drought Stress in Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *J Plant Growth Regul* 37, 925–936. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9788-9>
- Alexander, T., Christita, M., Simarmata, R., Khairina, Y., Khumairah, F., Ilyas, M., Lekatompessy, S., Parakkasi, Hasanuddin H., Mukrimin, M. (2025) First report of pestalotioid fungus *Truncatella angustata* isolated from the infected leaf of rubber plant with leaves fall disease, and its inhibition by *Trichoderma* spp. in vitro, *J Natural Pesticide R*, Volume 14, 100150, ISSN 2773-0786. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2025.100150>.
- Alvarado, M., Becerra, H., Hernández, M., Lopez, E., Contreras, I., Lopez, L., Medina, L., Trejo, J., Gonzalez, R., Perez, A. (2019). Influence of Elicitors and Eustressors on the Production of Plant Secondary Metabolites. In: Akhtar, M., Swamy, M., Sinniah, U. (eds) *Natural Bio-active Compounds*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7154-7_11
- Baptistella, J.L.C. (2022). *Lavoura – Aegro*, Blog da Aegro para negócios rurais, Piracicaba, São Paulo, Brasil. INE (Instituto Nacional de Estatística). 2021. *Estatísticas Agrícolas – 2020*. INE, Lisboa. Disponível em [www: <url:https://www.ine.pt/xurl/pub/437147278](http://www.ine.pt/xurl/pub/437147278)
- Barbosa filho, M.P.; Prabhu, A.S. Silício para quem precisa. *Cultivar Grandes Culturas*, n.22, 2000. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/silicio-para-quem-precisa> Acesso em 16/07/2020.
- Ben-jabeur, M.; Kthiri, Z.; Harbaoui, K.; Belguesmi, K.; Serret, M.D.; Araus, J.; Hamada, W.; Jabeur, B. (2019) Seed Coating with Thyme Essential Oil or *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN Strain: Conferring Septoria Leaf Blotch Resistance and Promotion of Yield and Grain Isotopic Composition in Wheat. *Agronomy* 2019, 9, 586.

- Blum, A. (2011). Plant Breeding for Water-Limited Environments. New York: Springer Science+Business Media, LLC. 10.1007/978-1-4419-7491-4.
- Bozaba, T., Kuru, İ. (2024) The effect of the combined application of elicitors to *Salvia virgata* Jacq. under salinity stress on physiological and antioxidant defense. BMC Plant Biol 24, 788. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05443-4>
- Burgess, A. J., *et al.*, (2022). Improving crop yield potential: Underlying biological processes and their agronomic implications. Journal of Experimental Botany. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10078444>
- Cardoso, J.V.C., (1965) - Os solos de Portugal: sua classificação e génese: I. A sul do rio Tejo. Direção Geral dos Serviços Agrícolas. 1ª ed. p. 112-115
- Chandra, S., Chakraborty, N., Chakraborty, A, Rai, R., Bera, B., Acharya, K. (2014) Abiotic elicitor-mediated improvement of innate immunity in *Camellia sinensis*. J Plant Growth Regul 33:849–859. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9436-y>
- Chen, J., Wu, Q., Li, S., Ge, J., Liang, C., Qin, H., Xu, Q., Fuhrmann, J. (2019) Diversity and function of soil bacterial communities in response to long-term intensive management in a subtropical bamboo forest. Geoderma 354:113894. 10.1016/j.geoderma.2019.113894
- Corkley, I., Fraaije, B., Hawkins, N. (2022). Fungicide resistance management: Maximizing the effective life of plant protection products. Plant Pathology, 71, 150-169.
- Curtis, B. C. (2002) Wheat in the world. In: Curtis, B. C., S. Rajaram, and H. Gomez M. (eds). Bread Wheat: Improvement and Production. Plant Production and Protection Series No. 30. FAO, Rome.
- Dall Igna, R.; Marchioro, V. S. (2010) Manejo de *Ascophyllum nodosum* na cultura do trigo. Cultivando o Saber, v. 3, n. 1, p. 64-71
- Daniel, R. (2005). The metagenomics of soil. Nature Rev. 3, 470-477
- Dapper, T. (2023) Potencialidades das macroalgas marinhas na agricultura: revisão
- Denčić, S., Kastori, R., Kobiljski, B., Duggan, B. (2000) Evaluation of grain yield and its components in wheat cultivars and landraces under near optimal and drought

- conditions. *Euphytica* 113 (1), 43–52.
<https://doi.org/10.1023/A:1003997700865>.
- Deng, Q., Wu, Y., Zhao, X., Qiu, C., Xia, S., Feng, Y., Liu, H. (2024) Correction: Influence of different irrigation methods on the alfalfa rhizosphere soil fungal communities in an arid region. *PLoS ONE* 19(7): e0307318.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307318>
- Dokić, M., Savić, Tanja, N., Vasiljević, B. (2010). Metagenomic analysis of soil microbial communities. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 62 (3), 559-564
- Ducatti, R., Filho, J., Tironi, S., Tramontin, M., Radünz, A., Silva S. (2023). Wheat elicitation performed in open field with the use of different elicitors. 10.55905/revconv.16n.7-057
- El Hazzat, N., Adnani, M., Msairi, S., El Alaoui, M. A., Mouden, N., Chliyah, M., ... & DOUIRA, A. (2023). *Fusarium equiseti* as one of the main *Fusarium* species causing wilt and root rot of chickpeas in Morocco. *Acta Mycologica*, 58.
- Elevagro. (s.d.). Processo de germinação de cereais de inverno.
<https://elevagro.com/processo-de-germinacao-de-cereais-de-inverno/>
- Embrapa (2006). O trigo. Passo Fundo: Embrapa, 74 Disponível em:
 <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do74_2.htm#:~:text=No%20gr%C3%A3o%20identificam%2Dse%20duas,pela%20fina%20camada%20de%20aleuron
 a.>. (consultado em: 20 de Abril de 2021).
- FAOSTAT. 2022. Data: Crops and Livestock Products. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
 (consultado em 29 de julho de 2022).
- Feldman, M. (1976). Wheats, *Triticum* spp. (Grasmineae-Triticinal). In *Evolution of Crop Plants*. Pp. 120-128. Simmonds, N.W. (ed). Longman, London.
- Feng, G., Xie, T., XIN WANG, Bai, J., Tang, L., Zhao, H., Wei, W., Wang, M. and Zhao, Y. (2018). Metagenomic analysis of microbial community and function involved in cd-contaminated soil. *BMC Microbiology*
<https://doi.org/10.1186/s12866-018-1152-5>

- Gärtner, B., Munich, M., Kleijer, G., Mascher, F. (2008) Characterisation of kernel resistance against *Fusarium* infection in spring wheat by baking quality and mycotoxin assessments. *Eur J Plant Pathol* 120:61–68. <https://doi.org/10.1007/S10658-007-9198-5>
- Ghaderi, M.G., Zeinalikhanghah, H., Hosseinzadeh, A.H., Taleei, A.R., Naghavi, M.R. (2009). Evaluation of relationships between grain yield, yield components and the other characteristics associated with grain yield in bread wheat using multivariate statistical analysis. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 7(2):573-582. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=192105>.
- Goupil, P., Benouaret, R., Charrier, O., Halle, A., Richard, C., Eyheraguibel, B., Thiery, D., Ledoigt, G. (2012) Grape marc extract acts as elicitor of plant defence responses. *Ecotoxicology* 21, 1541–1549. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0908-1>
- Guimarães, R., Rodrigues, C. & Basch, G. (2020) *Sebenta de Hidrologia Agrícola*. Universidade de Évora. <https://doi.org/10.1010/j.agwat.2020.106645>
- Haggag W., M., Tawfik, M., Abouziena, H., Wahed, M. (2017) Enhancing Wheat Production Under Arid Climate Stresses Using Bio-Elicitors. *Gesunde Pflanzen* 69, 149–158 <https://doi.org/10.1007/s10343-017-0399-3>
- Hajnal, E., Mastilović, J., Bagi, F., Orčić, D., Budakov, D., Kos, J., & Savić, Z. (2019). Effect of Wheat Milling Process on the Distribution of *Alternaria* Toxins. *Toxins*, 11(3), 139. <https://doi.org/10.3390/toxins11030139>
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68, 669-685.
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. (2004) *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2, 43–56 (2004). <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Huang, L., Jia, J., Zhao, X., Zhang, M., Huang, X., Ji, E. Ni, L., Jiang, M. (2017) The ascorbate peroxidase APX1 is a direct target of a zinc finger transcription factor ZFP36 and a late embryogenesis abundant protein OsLEA5 interacts with ZFP36 to co-regulate OsAPX1 in seed germination in rice. *Biochemical and*

- Biophysical Research Communications Volume 495, Issue 1, 1 January 2018, Pages 339-345. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.128>
- Hugenholtz, P. (2002). Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol.* 3: reviews 0003.1-0003.8.
- INE (Instituto Nacional DE Estatística). 2021. Estatísticas Agrícolas – 2020. INE, Lisboa. Disponível em www: <url:<https://www.ine.pt/xurl/pub/437147278>
- IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera. (2024, outubro 10). Ficha climatológica de Évora: 1981 – 2010. <https://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/1981-2010/normalclimate8110.jsp>
- Jafari, P., & Azuaje, F. (2006). An assessment of recently published gene expression data analyses: Reporting experimental design and statistical factors. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 6(1), 27. <https://doi.org/10.1186/1472-6947-6->
- Jia, D., Li, Y., L, X., Gao, W., Fang, C. LV, M., Yu, J., Yue, J. (2025) Talaromyketides A-I: Nine polyketides with anti-inflammatory activity from a soil fungus *Talaromyces* sp. KYS-41 *Bioorganic Chemistry* Volume 157, April 2025, 108275. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.108275>
- Kelly, A., Clear, R., O'donnell, K., McCormick, S., Turkington, T., Tekauz, A., Gilbert, J., Kistler, H., Busman, M., Ward, T. (2015) Diversity of *Fusarium* head blight populations and trichothecene toxin types reveals regional differences in pathogen composition and temporal dynamics. *Fungal Genet Biol* 82:22–31. <https://doi.org/10.1016/J.FGB.2015.05.016>
- Khan, W., Usha, A., Rayirath, P. (2009) Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Plant Growth Regulation*, v. 28, p. 386-399
- Khoulati, A., Ouahhoud, S., Taibi, M., Ezrari, S., Mamri, S., Merah, O., Hakkou, A., Addi, M., Maleb, A., Saalaoui, E. (2024). Harnessing biostimulants for sustainable agriculture: innovations, challenges, and future prospects
- Large, E.C. (1954). Growth stages in cereals illustration of the Feekes scale. *Plant Pathology*, 3 (4): 128-129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1954.tb00716.x>.

- Leal, C., Carbone, M. J., Eichmeier, A., Kiss, T., Tekielska, D., Rivacoba, L., Bujanda, R. and Gramaje, D. (2025) Shifting Fungal Networks: How *Dactylonectria macrodidyma* Shapes Grapevine Mycobiome in Diverse Soils. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-06-25-0042-R>
- Leilah, A., Al-khateeb, S. (2005). Statistical analysis of wheat yield under drought conditions. *Journal of Arid Environments*, 61(3):483-496. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2004.10.011>.
- Li, B., Xu, L., Ijaz, M., Hafeez, R., Ayoade, S.O., Shen, Y., Yang, F., Wang, X., Liu, Q., Li, X., Gu, C., Zhang, J. AND Li, B. (2025), Effective mitigation of sclerotium rot in lettuce cultivation by two soil fungi *Aspergillus terreus* and *Albifimbria verrucaria*. *Pest Manag Sci*, 81: 5614-5629. <https://doi.org/10.1002/ps.8916>
- Li, Z., Chang, P., Gao, L. and Wang X. (2020) The Endophytic Fungus *Albifimbria verrucaria* from Wild Grape as an Antagonist of *Botrytis cinerea* and Other Grape Pathogens. *Disease Control and Pest Management*. *Disease Control and Pest Management*. *Disease Control and Pest Management*. 110; 843-85 <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0347-R>
- Liang, Y., Lehmann, A., Ballhausen, M., Muller, L., Riling, M. (2019) Increasing Temperature and Microplastic Fibers Jointly Influence Soil Aggregation by Saprobic Fungi. *Microbiol.*, 06 September 2019 Sec. Terrestrial Microbiology Volume 10 – 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02018>
- Liao, Y., Gordon, K., Smyth, W. (2014) An efficient general-purpose program for assigning sequence reads to genomic features, *Bioinformatics*, Volume 30, Issue 7, April 2014, Pages 923–930, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt656>
- Loon, L., Strien, E. (1999) The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol* 55(2):85–97. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1999.0213>
- Lüneberg, K., Schneider, D., Siebe, C., Daniel, R. (2018) Drylands soil bacterial community is affected by land use change and different irrigation practices in the Mezquital Valley, Mexico. *Sci Rep* 8, 1413 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19743-x>

- Lunkes, A. (2014) *Maturação Antecipada de Trigo: Produtividade e Qualidade dos Grãos* <https://home.unicruz.edu.br/wp-content/uploads/2017/01/Adilson-Lunkes-MATURACAO-ANTECIPADA-DE-TRIGO-PRODUTIVIDADE-E-QUALIDADE-DOS-GRAOS.pdf>
- Lunkes, A. (2014). *Maturação antecipada de trigo: Produtividade de grãos e qualidade das sementes* (Dissertação de mestrado, Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ). <https://home.unicruz.edu.br/wp-content/uploads/2017/01/Adilson-Lunkes-MATURACAO-ANTECIPADA-DE-TRIGO-PRODUTIVIDADE-E-QUALIDADE-DOS-GRAOS.pdf>
- Martínez, J.; Hernández, E.; Vargas-Arispuro, I.; Falcón-Rodríguez, A.; Martínez-Téllez M. (2018) Chitosan derivatives induce local and distal expression of defence-related genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) SEEDLINGS
- Maruta, T., Sawa, Y., Shigeoka, S., Ishikawa, T. (2016) Diversity and Evolution of Ascorbate Peroxidase Functions in Chloroplasts: More Than Just a Classical Antioxidant Enzyme?, *Plant and Cell Physiology*, Volume 57, Issue 7, July 2016, Pages 1377–1386. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv203>
- Matas-Baca, M., García, U., Pérez-Álvarez, S., Flores-Córdova, M., Escobedo-Bonilla, C., Magallanes-Tapia, M., Chávez, E. (2022) Morphological and molecular characterization of a new autochthonous *Trichoderma* sp. isolate and its biocontrol efficacy against *Alternaria* sp., *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 29, Issue 4, Pages 2620-2625, ISSN 1319-562X. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.052>
- Mcmullen, M., Bergstrom, G., Wolf, E., Dill-Macky, R., Hershman, D., Shaner, G., Sanford, D. (2012) A unified effort to fight an enemy of wheat and barley: fusarium head blight. *Plant Dis.* <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0291-FE>
- Metho, L.A., Hammes, P.S., Beyers, E.A. (1998). The effect of soil fertility on the contribution of main stem, tillers and kernel position to grain yield and grain protein content of wheat. *South African Journal of Plant and Soil*, 15 (2): 53-60. 10.1080/02571862.1998.10635117.
- Mikutta, R., Turner, S., Schippers, A., Gentsch, N., Meyer-Stüve, S., Condrón, L., Peltzer, D., Richardson, S., Eger, A., Hempel, G., Kaiser, K., Klotzbücher, T.,

- Guggenberger, G. (2019) Microbial and abiotic controls on mineral-associated organic matter in soil profiles along an ecosystem gradient. 10.1038/s41598-019-46501-4
- Mohammadi, M., Sharifi, P., Karimizadeh, R., Shefazadeh, M. K. (2012). Relationships between Grain Yield and Yield Components in Bread Wheat under Different Water Availability (Dryland and Supplemental Irrigation Conditions). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40 (1): 195-200. <https://doi.org/10.15835/nbha4017350>.
- Mollasadeghi, V., Imani, A.A., Shahryari, R., Khayatnezhad, M. (2011). Correlation and path analysis of morphological traits in different wheat genotypes under end drought stress condition. *Mid-East Journal Scientific Research*, 7(2): 221-224. ISSN 1990-9233.
- Moloi, M. J., & Van Der Westhuizen, A. (2006) The reactive oxygen species are involved in resistance responses of wheat to the Russian wheat aphid. *J. Plant Physiol.* 163: 1118-25.
- Moral, L.F.G., Rharrabti, Y., Villegas, D., Royo, C. (2003). Evaluation of Grain Yield and Its Components in Durum Wheat under Mediterranean Conditions. *Agronomy Journal*, 95 (2): 266-274. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.2660>.
- Najami, N., Tibor, J., Barriah, W., Kayam, G., Moshe, T., Guy, M., Volokita, M. (2008) Ascorbate peroxidase gene family in tomato: its identification and characterization. *Mol Genet Genom* 279:171–182. <https://doi.org/10.1007/s00438-007-0305-2>
- Nikitin, D. A., Ivanova, E. A., Semenov, M. V., Zhelezova, A. D., Ksenofontova, N. A., Tkhakakhova, A. K., & Kholodov, V. A. (2023). Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review. *Diversity*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/d15010049>
- OERN – Organização de Estudos Rurais e Nutricionais. (2022, 20 setembro). Estatísticas agrícolas: o que nos mostram e o que nos escondem. <https://www.oern.pt/noticias/estatisticas-agricolas-o-que-nos-mostram-e-o-que-nos-escondem>

- Oliveira, M. (2020). Novas metodologias no combate a pragas e doenças – o uso de Elicitores. <https://www.advid.pt/uploads/DOCUMENTOS/Subcategorias/colab/D5%20%20Novas%20metodologias%20no%20combate%20a%20pragas%20e%20doenc%CC%A7as%20%E2%80%93%20o%20uso%20de%20elicitadores.pdf>
Acesso em: 20 de abril de 2021
- Parello, A., Silvina, L. (2013) Nature and effect of *Alternaria* spp. complex from wheat grain on germination and disease transmission; Pakistan Botanical Society; Pakistan Journal Of Botany; 45; 5; 9-2013; 1817-1824
- Passardi, F., Bakalovic, N., Teixeira, F., Margis Pinheiro, M., Penel, C., Dunand C. (2007) Prokaryotic origins of the non-animal peroxidase superfamily and organelle-mediated transmission to eukaryotes. *Genomics* Volume 89, Issue 5, May 2007, Pages 567-579. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.01.006>
- Peltonen-Sainio, P., Kangas, A., Salo, Y., Jauhiainen, L. (2007). Grain number dominates grain weight in temperate cereal yield determination: evidence based on 30 years of multilocation trials. *Field Crops Research* 100 (2-3): 179-188. [10.1016/j.fcr.2006.07.002](https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.002).
- Pionner. perfilhos: ajudam ou prejudicam a produtividade? (2005) Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/12/perfilhos-ajudam-ou-prejudicam-a-produtividade>>. Acesso em: 20 de abril de 2021.
- Rajawat, M. V. S. (2022). ROS generated from biotic stress: Effects on plants and
- Rasmussen, R. (2001). Quantification on the LightCycler. Rapid cycle real-time PCR: methods and applications, 21-34.
- Reed, G. H., Kent, J. O., & Wittwer, C. T. (2007). High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. *Pharmacogenomics*, 8(6), 597–608. <https://doi.org/10.2217/14622416.8.6.597>
- Rienth, M., Torregrosa, L., Luchaire, N. *et al.*, (2014) Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. *BMC Plant Biol* 14, 108. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-108>

- Ristaino, J., Hord, M., Gumpertz, M. (1992) Population densities of *Phytophthora capsici* in field soils in relation to drip irrigation, rainfall, and disease incidence. *Plant Dis.* 76:1017-1024.
- Roelfs, A., Sing, R., Saari, E. (1992) Rust diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. CIMMYT, México. 81 p.
- Rouphael Y. & Colla G. (2020) TOWARD A SUSTAINABLE AGRICULTURE THROUGH PLANT BIOSIMULANTS: From Experimental Data to Practical Applications. *Agronomy* 2020, 10(10), 1461. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101461>
- Sahu, P., Jayalakshmi, K., Tilgam, J., Gupta, A., Nagaraju, Y., Kumar, A., Hamid, S., Singh, H., Minkina, T. Rajput, V., Rajawat, M. (2022). ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1042936.
- Sarabia, M., Cazares, S., González-Rodríguez, A., Mora, F., Carreón-Abud, Y., Larsen, J. (2018) Plant growth promotion traits of rhizosphere yeasts and their response to soil characteristics and crop cycle in maize agroecosystems *Rhizosphere* Volume 6, June 2018, Pages 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.04.002>
- Savitha, B., Thimmaeaju, R., Bhagyalakshmi, N., Ravishankar, G. (2006) Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. *Process Biochemistry* Volume 41, Issue 1, January 2006, Pages 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.071>
- Scheeren, P., Castro, R., Caierão, E. (2015). Botânica, morfologia e descrição fenotípica. In: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. (Ed.). *Trigo: do plantio à colheita*. Viçosa, MG: Ed. UFV, Cap. 2, p. 35-55, 2015.
- Sena, M., Poppi, R., Frighetto, R., Valarini, P. (1999) AVALIAÇÃO DO USO DE MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS EM ANÁLISE DE SOLOS. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400019>
- Shamsi, K., Petrosyan, M., Noor-Mohammadi, G., Haghparast, A., Kobraee, S., Rasekhi, B. (2011). Differential agronomic responses of bread wheat cultivars to

- drought stress in the west of Iran. *African Journal of Biotechnology*, 10(14): 2708-2715. 10.5897/AJB10.1133.
- Sharma, R.C., Smith, E.L., Mcnew, R.W. (1987). Stability of Harvest Index and Grain Yield in Winter Wheat. *Crop Science* 27 (1): 104-108. <https://doi.org/10.2135/cropsci1987.0011183X002700010026x>
- Silva, E. A., Alvarenga, A. A., & Paula, A. C. F. (2015). Elictores na agricultura: Uma alternativa para indução de respostas em plantas. In *Anais da VIII Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG – Campus Bambuí & I Seminário dos Estudantes de Pós-Graduação (SEP)*. Instituto Federal de Minas Gerais.
- Silva, G.M. Unidade 01: Trigo. Botânica e morfologia do trigo. Unopar. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/72679877-Unidade-01-trigo-botanica-e-morfologia-do-trigo.html>>. Acesso em: 21 de abril de 2021.
- Silva. E., Alvarenga. A., Paula. A. (2023). Eliciadores na agricultura: Uma alternativa para indução de respostas em plantas
- Simon Carola & Rolf Daniel (2011). Metagenomic Analyses: Past and Future Trends. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, p. 1153–1161 American Society for Microbiology. 10.1128/AEM.02345-10
- Slafer, A., Savin, R., Sadras, O. (2014). Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. *Field Crops Research* 157, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.004>.
- Teixeira, N. (2015) Extrato da alga *Ascophyllum nodosum* como bioestimulante Campo & Negócios. <https://semcomplicar.com.br/campoenegocios/extrato-da-alga-ascophyllum-nodosum-como-bioestimulante/> Acesso em: 21 de abril de 2021.
- Thakur, M., Sohal, B. (2013) Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. *ISRN Biochem* 762412:1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/762412>
- Thamvithayakorn, P., Phsori, C., Robinson-Boyer, L., Limnonthakul P., Doonan, J., Suwannasai, N. (2024) The Synergistic Impact of a Novel Plant Growth-Promoting Rhizobacterial Consortium and *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract on Rhizosphere Microbiome Dynamics and Growth Enhancement

- in *Oryza sativa* L. RD79. *Agronomy* 2024, 14(11), 2698. <https://doi.org/10.3390/agronomy14112698>
- Tisdall, J. M., and Oades, J. M. (1982). Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33, 141–163. [10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1982.tb01755.x)
- Torres, M. A. (2010). ROS in biotic interactions. *Physiologia Plantarum*, 138(4), 414-429. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01326.x>
- Torsvik, V., Daae, F. L., Sandaa, R.A., and L. Ovreas (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* 5, 240-245.
- Trebbi, G.; Negri, L.; Bosi, S.; Dinelli, G.; Cozzo, R.; Marotti, I. (2020) Evaluation of *Equisetum arvense* (Horsetail Macerate) as a Copper Substitute for Pathogen Management in Field-Grown Organic Tomato and Durum Wheat Cultivations. <https://doi.org/10.3390/agriculture11010005>
- Universidade Federal de Santa Maria. (2022, 14 de fevereiro). A escala fenológica da cultura do trigo. <https://www.ufsm.br/pet/agronomia/2022/02/14/a-escala-fenologica-da-cultura-do-trigo>
- Vandesompele, J., Preter, K. D., Roy, N. V., & Paepe, A. D. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes.
- Velásquez, C.; Pirela, M.; Chirinos, A.; Avelizapa, L. (2019) Nuevos retos en agricultura para los biopolímeros de quitina y quitosano. Parete 1: efectos beneficiosos para los cultivos
- Vicente, R., Costa, R. Katamadze, A., Pinheiro, N., Vergara-Díaz, O., Bagulho, A.S., Yoldi-Achalandabaso, A., Reis, J. Costa, A., Moreira, J. Maçãs, B. (2024). Produção de trigo em Portugal: implementação de novas ferramentas de fenotipagem multiescala em estudos retrospectivos para apoiar o melhoramento. *Vida Rural* dezembro/janeiro, 68-76.
- Yara Portugal (2025) - <https://www.yara.pt/nutricao-de-plantas/trigo/evolucao-historica/>
Acesso em: 21 de abril de 2025.

- Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F. (1974) – A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14 (6): 415-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb010>
- Zhou, Y., Li, J., Wang, J., Yang, W., & Yang, Y. (2018). Identification and Characterization of the Glutathione Peroxidase (GPX) Gene Family in Watermelon and Its Expression under Various Abiotic Stresses. *Agronomy*, 8(10), 206. <https://doi.org/10.3390/agronomy8100206>

Anexo 1. Análise de solo da parcela de sequeiro

RESULTADOS LABORATORIAIS		
Textura de campo		Ligeira
pH (H ₂ O)	5.9	Pouco ácido
pH (KCl)	4.9	
Necessidade em cal	0.0 kg/ha	
Matéria orgânica	1.2 %	Baixo
Fósforo (P ₂ O ₅ -Egner- Riehm)	62.3 ppm	Médio
Potássio (K ₂ O-Egner- Riehm)	92.3 ppm	Médio
Fósforo (P) extraível Olsen	21.2 ppm	Alto
Cálcio (Ca)	1 510.1 ppm	Médio
Magnésio (Mg)	450.7 ppm	Muito Alto
Cálcio de troca	7.5 cmol/kg	Médio
Magnésio de troca	3.7 cmol/kg	Muito Alto
Potássio de troca	0.2 cmol/kg	Baixo
Sódio de troca	0.1 cmol/kg	Muito Baixo
Acidez/ Alumínio de troca	0.0 cmol/kg	Muito Baixo
Capacidade de troca catiónica	19.4 cmol/kg	Médio
Grau de saturação em cálcio	38.8 %	Limitante
Grau de saturação em magnésio	19.1 %	Não Limitante
Grau de saturação em potássio	1.0 %	Limitante
Grau de saturação em sódio	0.5 %	Não Limitante
Acidez e Alumínio de troca (%)	0.1 %	Não Limitante
Grau de saturação em bases	59.4 %	Limitante
Relação cálcio/magnésio	2.0	Excessivo (Mg)
Relação potássio/magnésio	0.1	Limitante (def de K)
Boro	0.3 ppm	Baixo
Cobre extraível (EDTA) Lakanen	1.5 ppm	Médio
Ferro extraível (EDTA) Lakanen	146.8 ppm	Muito Alto
Manganês extraível (EDTA) Lakanen	169.0 ppm	Muito Alto
Zinco extraível (EDTA) Lakanen	3.4 ppm	Médio

Anexo 2. Análise de solo da parcela de regadio

RESULTADOS LABORATORIAIS		
Textura de campo		Ligeira
pH (H ₂ O)	5.8	Pouco ácido
pH (KCl)	4.8	
Necessidade em cal	1 000.0 kg/ha	
Matéria orgânica	1.0 %	Baixo
Fósforo (P ₂ O ₅ -Egner- Riehm)	42.9 ppm	Baixo
Potássio (K ₂ O-Egner- Riehm)	55.8 ppm	Médio
Fósforo (P) extraível Olsen	12.3 ppm	Médio
Cálcio (Ca)	993.7 ppm	Baixo
Magnésio (Mg)	319.5 ppm	Muito Alto
Cálcio de troca	5.0 cmol/kg	Baixo
Magnésio de troca	2.6 cmol/kg	Muito Alto
Potássio de troca	0.1 cmol/kg	Muito Baixo
Sódio de troca	0.4 cmol/kg	Médio
Acidez/ Alumínio de troca	0.0 cmol/kg	Muito Baixo
Capacidade de troca catiônica	17.2 cmol/kg	Médio
Grau de saturação em cálcio	28.9 %	Limitante
Grau de saturação em magnésio	15.3 %	Não Limitante
Grau de saturação em potássio	0.7 %	Limitante
Grau de saturação em sódio	2.2 %	Não Limitante
Acidez e Alumínio de troca (%)	0.1 %	Não Limitante
Grau de saturação em bases	47.0 %	Limitante
Relação cálcio/magnésio	1.9	Excessivo (Mg)
Relação potássio/magnésio	0.0	Limitante (def de K)
Boro	0.2 ppm	Baixo
Cobre extraível (EDTA) Lakanen	0.9 ppm	Médio
Ferro extraível (EDTA) Lakanen	126.0 ppm	Muito Alto
Manganês extraível (EDTA) Lakanen	60.0 ppm	Alto
Zinco extraível (EDTA) Lakanen	0.7 ppm	Baixo

Anexo 3. Valores dos quadrados médios, probabilidade, erro e coeficiente de variação dos componentes da produção, do índice de colheita e da matéria seca total, no ensaio de sequeiro

	Origem da variação		Coeficiente de variação (%)
	Tratamentos	Erro	
Graus de liberdade	4	12	
Peso de 1000 grãos (g)	0.4277 (n.s) 11,424	11,010	9,93
Nº de grãos m⁻²	(n.s) 2025160,300	2303778,333	19,86
Matéria seca total (g m⁻²)	(n.s) 8949,132	19186,853	24,01
Nº de espigas m⁻²	(n.s) 1215,200	1564,467	23,31
Nº de grãos por espiga	0,3857 (n.s) 38,500	33,900	12,73
Índice de colheita	(n.s) 0,002	0,002	9,47

Anexo – Valores dos quadrados médios, probabilidade, erro e coeficiente de variação dos componentes da produção do índice de colheita e da matéria seca total.

* Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,1$

** Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,05$

** Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,01$

n.s. não significativo

Anexo 4. Valores dos quadrados médios, probabilidade, erro e coeficiente de variação dos componentes da produção, do índice de colheita e da matéria seca total, no ensaio de regadio

	Origem da variação		Coeficiente de variação (%)
	Tratamentos	Erro	
Graus de liberdade	4	12	
Peso de 1000 grãos (g)	(n.s) 4,781	6,925	8,04
Nº de grãos m⁻²	0,1000 (*) 4639304,875	1870437,575	15,41
Matéria seca total (g m⁻²)	0,1123 (n.s) 13109,223	5561,895	11,95
Nº de espigas m⁻²	0,0277 (**) 6961,925	1744,958	16,53
Nº de grãos por espiga	(n.s) 23,675	47,975	19,27
Índice de colheita	(n.s) 0,000	0,001	5,74

Anexo – Valores dos quadrados médios, probabilidade, erro e coeficiente de variação dos componentes da produção do índice de colheita e da matéria seca total.

* Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,1$

** Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,05$

** Corresponde a diferenças significativas para $p \leq 0,01$

n.s. não significativo

Anexo 5. Concentração do RNA extraído de cada amostra de sequeiro

Tratamento	Repetição	Concentração (ng/μL)	260/280	260/230
T0	I	217,48	2,112	1,996
T0	II	106,56	2,664	1,846
T0	III	252,8	2,071	1,937
T0	IV	114,2	1,953	1,317
T1	I	476,44	2,093	1,807
T1	II	392,96	1,897	1,163
T1	III	203,44	2,094	2,042
T1	IV	212,16	2,049	1,953
T2	I	191,68	2,053	1,807
T2	II	357,36	2,043	1,793
T2	III	345,96	2,041	1,555
T2	IV	84,32	1,979	1,285
T3	I	408,32	2,05	1,613
T3	II	232,36	2,071	1,913
T3	III	306,28	2,079	1,811
T3	IV	65,76	2,084	2,002
T4	I	212,84	2,102	2,014
T4	II	254,72	2,078	1,981
T4	III	170,04	2,098	2
T4	IV	120,6	1,894	1,391

Anexo 6. Concentração do RNA extraído de cada amostra de regadio

Tratamento	Repetição	Concentração (ng/μL)	260/280	260/230
T0	I	412,84	2,037	1,648
T0	II	51,2	1,954	1,142
T0	III	207,92	2,043	1,824
T0	IV	119,92	2,027	1,779
T1	I	128,04	2,026	1,758
T1	II	333,48	2,1	1,924
T1	III	124,32	2,023	1,779
T1	IV	191,56	2,009	1,671
T2	I	145,56	2,078	1,827
T2	II	250,84	2,064	1,858
T2	III	167,6	1,974	1,055
T2	IV	200,12	2	1,803
T3	I	183,52	2,073	1,938
T3	II	199,64	2,08	1,789
T3	III	165,24	1,994	1,54
T3	IV	113,48	2,016	1,573
T4	I	264,48	2,077	1,851
T4	II	385,16	2,053	1,636
T4	III	260,52	2,058	1,789
T4	IV	67,64	2,199	2,255

Anexo 7. Análise metagenómica de solo da amostra de sequeiro a verde encontram-se os organismos antagonistas e a bold, os organismos patogénicos

Análise metagenómica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Género ou espécie de fungos	Número de Reads	%
Talaromyces sp.	7953,00	9,02
Solicoccozyma aerea	7453,00	8,46
Chaetomium angustispirale	7328,00	8,31
Fusarium sp.	6364,00	7,22
Stachybotrys chartarum	4694,00	5,33
Penicillium sp.	2965,00	3,36
Fusarium equiseti	2835,00	3,22
Stachybotrys limonispurus	2558,00	2,90
Trichoderma sp.	2533,00	2,87
Chloridium aseptatum	2316,00	2,63
Stemphylium vesicarium	1790,00	2,03
Lecythophora canina	1755,00	1,99
Aspergillus sp.	1747,00	1,98
Trichoderma koningii	1696,00	1,92
Penicillium burgense	1238,00	1,40
Humicola sp.	1193,00	1,35
Helicoma sp.	981,00	1,11
Striaticonidium brachysporum	972,00	1,10
Papiliotrema laurentii	965,00	1,09
Schizothecium sp.	909,00	1,03
Exophiala pisciphila	909,00	1,03
Niesslia mucida	848,00	0,96
Wongia sp.	840,00	0,95
Albifimbria verrucaria	756,00	0,86
Penicillium raperi	606,00	0,69
Penicillium citrinum	602,00	0,68
Trichoderma tomentosum	594,00	0,67
Pseudeurotium hygrophilum	577,00	0,65
Eucasphaeria sp.	558,00	0,63
Alternaria sp.	521,00	0,59
Solicoccozyma sp.	478,00	0,54
Fusicolla aquaeductuum	471,00	0,53
Coniochaeta sp.	442,00	0,50
Aspergillus intermedius	438,00	0,50
Dichotomopilus erectus	434,00	0,49
Cladosporium basi-inflatum	418,00	0,47
Neocosmospora rubicola	405,00	0,46
Dissophora globulifera	381,00	0,43
Cladophialophora lanosa	379,00	0,43

Continuação Anexo 7.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Ramophialophora humicola</i>	370	0,42
<i>Acidomelania</i> sp.	367	0,42
<i>Mortierella</i> sp.	365	0,41
<i>Talaromyces purpureogenus</i>	363	0,41
<i>Arxotrichum wyomingense</i>	361	0,41
<i>Cladorrhinum</i> sp.	334	0,38
<i>Purpureocillium</i> sp.	332	0,38
<i>Papiliotrema ruineniae</i>	321	0,36
<i>Cladophialophora chaetospora</i>	309	0,35
<i>Talaromyces germanicus</i>	308	0,35
<i>Solicoccozyma terricola</i>	286	0,32
<i>Aspergillus sepultus</i>	285	0,32
<i>Cladophialophora tortuosa</i>	264	0,3
<i>Pseudogymnoascus roseus</i>	256	0,29
<i>Acidomelania</i> sp.	249	0,28
<i>Aspergillus pseudoterreus</i>	236	0,27
<i>Acremonium persicinum</i>	231	0,26
<i>Microdochium</i> sp.	230	0,26
<i>Knufia tsuneda</i>	218	0,25
<i>Alternaria subcucurbitae</i>	202	0,23
<i>Extremopsis radiculicola</i>	202	0,23
<i>Myrmecridium schulzeri</i>	200	0,23
<i>Penicillium menonorum</i>	200	0,23
<i>Aspergillus piperis</i>	197	0,22
<i>Harpochytrium</i> sp.	192	0,22
<i>Metacordyceps chlamydosporia</i>	184	0,21
<i>Exophiala radialis</i>	183	0,21
<i>Cadophora obovata</i>	182	0,21
<i>Spiromastix</i> sp.	178	0,2
<i>Minimedusa polyspora</i>	173	0,2
<i>Emericellopsis</i> sp.	172	0,2
<i>Sympoventuriaceae</i> sp.	146	0,17
<i>Entoloma undatum</i>	138	0,16
<i>Aspergillus caninus</i>	136	0,15
<i>Sarocladium kiliense</i>	131	0,15
<i>Rozellomycota</i> sp.	130	0,15
<i>Tetraploa yunnanensis</i>	130	0,15
<i>Pyrenochaetopsis tabarestanensis</i>	128	0,15
<i>Oidiodendron cereale</i>	126	0,14

Continuação Anexo 7.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Arachnomyces pilosus</i>	124	0,14
<i>Phialemonium</i> sp.	121	0,14
<i>Xanthothecium peruvianum</i>	117	0,13
<i>Coniochaeta verticillata</i>	114	0,13
<i>Aspergillus mottae</i>	110	0,12
<i>Periconia circinata</i>	102	0,12
<i>Scolecobasidium constrictum</i>	100	0,11
<i>Trichoderma velutinum</i>	99	0,11
<i>Ustilago maydis</i>	98	0,11
<i>Ilyonectria mors-panacis</i>	92	0,1
<i>Entoloma anodinum</i>	90	0,1
<i>Humicola sardiniae</i>	87	0,1
<i>Linnemannia zychae</i>	85	0,1
<i>Wardomyces fuscus</i>	84	0,1
<i>Fusicolla</i> sp.orellula	83	0,09
<i>Lecythophora</i> sp.	71	0,08
<i>Dichotomopilus pratensis</i>	70	0,08
<i>Alternaria metachromatica</i>	70	0,08
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	69	0,08
<i>Clonostachys</i> sp.	68	0,08
<i>Cladosporium herbarum</i>	67	0,08
<i>Scolecobasidium ramosum</i>	67	0,08
<i>Aphelidiomycetes</i> sp.	65	0,07
<i>Ramicandelaber</i> sp.	64	0,07
<i>Classicales</i> sp.	63	0,07
<i>Collarina</i> sp.	61	0,07
<i>Scytalidium sphaerosporum</i>	59	0,07
<i>Atractiella rhizophila</i>	59	0,07
<i>Spizellomyces</i> sp.	58	0,07
<i>Plectosphaerella niemeijerorum</i>	58	0,07
<i>Coniochaeta baysunika</i>	56	0,06
<i>Chaetosphaeria</i> sp.	55	0,06
<i>Poaceascoma helicoides</i>	53	0,06
<i>Stropharia</i> sp.	52	0,06
<i>Occultifur</i> sp.	51	0,06
<i>Penicillium labradorum</i>	51	0,06
<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	49	0,06
<i>Conioscypha bambusicola</i>	46	0,05
<i>Furcaterigmium furcatum</i>	45	0,05

Continuação Anexo 7.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Niesslia indica</i>	41	0,05
<i>Aspergillus inflatus</i>	41	0,05
<i>Penicillium senticosum</i>	41	0,05
<i>Clonostachys rosea</i>	40	0,05
<i>Fimicolochytrium jonesii</i>	40	0,05
<i>Pyxidiophorales</i> sp.	38	0,04
<i>Trichoderma amazonicum</i>	38	0,04
<i>GS13</i> sp.	37	0,04
<i>Coniochaeta cateniformis</i>	36	0,04
<i>Spegazzinia radermacheriae</i>	35	0,04
<i>Poaceascoma</i> sp.	34	0,04
<i>Cyathicula</i> sp.	33	0,04
<i>Metarhizium baoshanense</i>	33	0,04
<i>Coniochaeta gigantospora</i>	31	0,04
<i>Dictyochaeta lithocarpi</i>	31	0,04
<i>Plicaria</i> sp.	31	0,04
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	30	0,03
<i>Malassezia restricta</i>	30	0,03
<i>Filobasidium chernovii</i>	30	0,03
<i>Arachnomycetaceae</i> sp.	30	0,03
<i>Leptodiscella africana</i>	28	0,03
<i>Slooffia cresolica</i>	27	0,03
<i>Gibellulopsis</i> sp.	26	0,03
<i>Chaetothyriales</i> sp.	26	0,03
<i>Monoblepharidomycetes</i> sp.	26	0,03
<i>Mortierella oligospora</i>	26	0,03
<i>Penicillium reticulisporum</i>	26	0,03
<i>Fusicolla</i> sp.	25	0,03
<i>Scytalidium</i> sp.	25	0,03
<i>Microthielavia ovispora</i>	25	0,03
<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i>	24	0,03
<i>Acremonium pinkertoniae</i>	24	0,03
<i>Mariannaea punicea</i>	24	0,03
<i>Pseudeurotium ovale</i>	23	0,03
<i>Pyrenochaeta</i> sp.	23	0,03
<i>Talaromyces subaurantiacus</i>	23	0,03
<i>Coniothyrium palmicola</i>	22	0,02
<i>Curvularia</i> sp.	22	0,02
<i>Fusidium</i> sp.	22	0,02

Continuação Anexo 7.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Violaceomycetales</i> sp.	22	0,02
<i>Hypocreales</i> sp.	21	0,02
<i>Striaticonidium synnematum</i>	21	0,02
<i>Aspergillus chlamydosporus</i>	20	0,02
<i>Leptodophora orchidicola</i>	20	0,02
<i>Pseudothielavia arxii</i>	20	0,02
<i>Lycoperdon pratense</i>	19	0,02
<i>Fimicolochytrium</i> sp.	19	0,02
<i>Sporormiella intermedia</i>	19	0,02
<i>Sagenomella diversispora</i>	18	0,02
<i>Periconia macrospinosa</i>	18	0,02
<i>Exserohilum pedicellatum</i>	18	0,02
<i>Sporidesmiella obovoidia</i>	18	0,02
<i>Arthrocladium</i> sp.	17	0,02
<i>Glomus indicum</i>	17	0,02
<i>Powellomyces</i> sp.	17	0,02
<i>Rhizophlyctidaceae</i> sp.	17	0,02
<i>Aspergillus allahabadii</i>	16	0,02
<i>Tetracladium marchalianum</i>	16	0,02
<i>Pseudopithomyces angolensis</i>	16	0,02
<i>Aspergillus pseudodeflectus</i>	16	0,02
<i>Coniochaeta decumbens</i>	16	0,02
<i>Currahomyces indicus</i>	16	0,02
<i>Penicillium ornatum</i>	16	0,02
<i>Sarcopodium tibetense</i>	16	0,02
<i>Bovista plumbea</i>	15	0,02
<i>Agaricus argyropotamicus</i>	15	0,02
<i>Leucosphaerina</i> sp.	15	0,02
<i>Penicillium radiatolobatum</i>	15	0,02
<i>Dictyoarthrinium sacchari</i>	14	0,02
<i>Spegazzinia neosundara</i>	14	0,02
<i>Spizellomyces dolichospermus</i>	14	0,02
<i>Leucocalocybe</i> sp.	13	0,01
<i>Westerdykella multispora</i>	13	0,01
<i>Epicoccum italicum</i>	12	0,01
<i>Ascotricha</i> sp.	12	0,01
<i>Aspergillus lucknowensis</i>	12	0,01
<i>Brocciosphaera brocchiata</i>	12	0,01
<i>Fusarium neocosmosporiellum</i>	12	0,01

Continuação Anexo 7.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de sequeiro		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Leucosporidium</i> sp.	12	0,01
<i>Exophiala clavispora</i>	11	0,01
<i>Fusarium acutisporum</i>	11	0,01
<i>Naganishia globosa</i>	11	0,01
<i>Tritirachium dependens</i>	10	0,01
<i>Hormonema viticola</i>	10	0,01
<i>Funneliformis</i> sp.	10	0,01
<i>Fusarium nurragi</i>	10	0,01
<i>Coniocessia cruciformis</i>	9	0,01
<i>Penicillium tropicum</i>	9	0,01
<i>Calvatia cyathiformis</i>	8	0,01
<i>Scolecobasidium minimum</i>	8	0,01
<i>Aureobasidium pullulans</i>	7	0,01
<i>Achroiostachys betulicola</i>	7	0,01
<i>Lobulomycetales</i> sp.	7	0,01
<i>Rhizophydiales</i> sp.	7	0,01
<i>Truncatella angustata</i>	6	0,01
<i>Entylomataceae</i> sp.	6	0,01
<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	5	0,01
<i>Preussia terricola</i>	5	0,01
<i>Rhizophlyctidales</i> sp.	5	0,01
<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	4	0
<i>Penicillium polonicum</i>	4	0
<i>Rhodotorula graminis</i>	3	0
<i>Castanedomycetes australiensis</i>	3	0
<i>Leucothecium emdenii</i>	3	0
<i>Cystofilobasidium macerans</i>	2	0

Anexo 8. Análise metagenómica de solo da amostra de regadio (igual ao anterior)

Análise metagenómica encontrada em 150 mg de solo da amostra de regadio		
Género ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Albifimbria verrucaria</i>	26710	33,19
<i>Solicoccozyma aerea</i>	4894	6,08
<i>Talaromyces</i> sp.	4801	5,97
<i>Alternaria subcucurbitae</i>	4003	4,97
<i>Fusarium equiseti</i>	3979	4,94
<i>Mortierella</i> sp.	3481	4,33
<i>Stachybotrys chartarum</i>	3443	4,28
<i>Alternaria</i> sp.	3244	4,03
<i>Fusarium</i> sp.	3172	3,94
<i>Cladosporium basi-inflatum</i>	2608	3,24
<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	1710	2,13
<i>Chaetomium angustispirale</i>	946	1,18
<i>Aspergillus</i> sp.	931	1,16
<i>Trichoderma koningii</i>	897	1,11
<i>GS13</i> sp.	844	1,05
<i>Dichotomopilus erectus</i>	746	0,93
<i>Stemphylium vesicarium</i>	691	0,86
<i>Niesslia mucida</i>	610	0,76
<i>Talaromyces germanicus</i>	592	0,74
<i>Athelia rolfsii</i>	546	0,68
<i>Neocosmospora rubicola</i>	524	0,65
<i>Penicillium</i> sp.	400	0,50
<i>Humicola sardiniae</i>	379	0,47
<i>Trichoderma velutinum</i>	337	0,42
<i>Cladosporium herbarum</i>	320	0,40
<i>Boeremia</i> sp.	295	0,37
<i>Linnemannia zychae</i>	286	0,36
<i>Lectera</i> sp.	276	0,34
<i>Aspergillus piperis</i>	249	0,31
<i>Conocybe rickenii</i>	237	0,29
<i>Fusicolla aquaeductuum</i>	234	0,29
<i>Spizellomycetales</i> sp.	212	0,26
<i>Tritirachium dependens</i>	212	0,26
<i>Saitozyma podzolica</i>	198	0,25
<i>Conocybe velutipes</i>	198	0,25
<i>Exophiala radialis</i>	190	0,24
<i>Cladorrhinum</i> sp.	175	0,22
<i>Dichotomopilus subfunicola</i>	174	0,22
<i>Dactylonectria macrodidyma</i>	171	0,21

Continuação Anexo 8.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de regadio		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Cadophora obovata</i>	168	0,21
<i>Plectosphaerella niemeijerum</i>	167	0,21
<i>Oidiodendron cereale</i>	165	0,21
<i>Aspergillus sepultus</i>	157	0,2
<i>Pyxidiophorales sp.</i>	156	0,19
<i>Truncatella angustata</i>	154	0,19
<i>Rhizophlyctis rosea</i>	154	0,19
<i>Humicola sp.</i>	140	0,17
<i>Clonostachys rosea</i>	140	0,17
<i>Metacordyceps chlamydosporia</i>	135	0,17
<i>Coprinellus verrucispermus</i>	133	0,17
<i>Lecythophora canina</i>	124	0,15
<i>Occultifur sp.</i>	124	0,15
<i>Epicoccum italicum</i>	121	0,15
<i>Paraglomus sp.</i>	121	0,15
<i>Trichoderma sp.</i>	119	0,15
<i>Dichotomopilus pratensis</i>	119	0,15
<i>Hyphoderma obtusifforme</i>	117	0,15
<i>Schizothecium sp.</i>	114	0,14
<i>Fusarium croci</i>	107	0,13
<i>Cryptococcus walticus</i>	105	0,13
<i>Pseudeurotium ovale</i>	97	0,12
<i>Thelonectria olida</i>	97	0,12
<i>Talaromyces wortmannii</i>	95	0,12
<i>Cystoagaricus sp.</i>	94	0,12
<i>Striaticonidium brachysporum</i>	88	0,11
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	84	0,1
<i>Minimedusa polyspora</i>	82	0,1
<i>Leucosporidium intermedium</i>	79	0,1
<i>Ophiosphaerella sp.</i>	79	0,1
<i>Capronia semiimmersa</i>	77	0,1
<i>Lecanicillium saksenae</i>	77	0,1
<i>Phaeosphaeriopsis sp.</i>	75	0,09
<i>Aspergillus capensis</i>	73	0,09
<i>Kurtzmanomyces tardus</i>	68	0,08
<i>Sympoventuriaceae sp.</i>	67	0,08
<i>Alternaria metachromatica</i>	67	0,08
<i>Harpochytrium sp.</i>	66	0,08
<i>Pyrenochaetopsis decipiens</i>	65	0,08

Continuação Anexo 8.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de regadio		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Wallemia</i> sp.	65	0,08
<i>Rozellomycota</i> sp.	63	0,08
<i>Phaeosphaeria</i> sp.	62	0,08
<i>Chloridium submersum</i>	54	0,07
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	52	0,06
<i>Equiseticola fusispora</i>	45	0,06
<i>Rhizophlyctis</i> sp.	44	0,05
<i>Periconia circinata</i>	43	0,05
<i>Exophiala opportunistica</i>	42	0,05
<i>Fusarium graminearum</i>	42	0,05
<i>Lophiotrema rubi</i>	42	0,05
<i>Neosetophoma</i> sp.	42	0,05
<i>Acremonium persicinum</i>	41	0,05
<i>Stemphylium</i> sp.	41	0,05
<i>Thanatephorus cucumeris</i>	41	0,05
<i>Aspergillus allahabadii</i>	40	0,05
<i>Pyrenochaetopsis tabarestanensis</i>	39	0,05
<i>Penicillium citrinum</i>	38	0,05
<i>Fusarium tricinctum</i>	38	0,05
<i>Ilyonectria mors-panacis</i>	36	0,04
<i>Humicola</i> sp.	36	0,04
<i>Exophiala bonariae</i>	35	0,04
<i>Conidiobolus coronatus</i>	34	0,04
<i>Lophiotrema</i> sp.	33	0,04
<i>Spegazzinia radermacherae</i>	32	0,04
<i>Rhodotorula graminis</i>	32	0,04
<i>Ceratobasidiaceae</i> sp.	32	0,04
<i>Purpureocillium lavendulum</i>	32	0,04
<i>Dactylonectria anthuriicola</i>	31	0,04
<i>Scytalidium sphaerosporum</i>	30	0,04
<i>Dictyoarthrinium sacchari</i>	30	0,04
<i>Schizothecium selenosporum</i>	30	0,04
<i>Aphelidiomycetes</i> sp.	29	0,04
<i>Leptobacillium symbioticum</i>	29	0,04
<i>Malassezia restricta</i>	28	0,03
<i>Trichoderma tomentosum</i>	26	0,03
<i>Gibellulopsis</i> sp.	26	0,03
<i>Fusicolla</i> sp.	26	0,03

Continuação Anexo 8.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de regadio		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Bovista plumbea</i>	21	0,03
<i>Fusariella hughesii</i>	21	0,03
<i>Niesslia indica</i>	20	0,02
<i>Olpidiaster brassicae</i>	20	0,02
<i>Filobasidium chernovii</i>	19	0,02
<i>Cordyceps bassiana</i>	19	0,02
<i>Exophiala pisciphila</i>	18	0,02
<i>Mortierellales</i> sp.	18	0,02
<i>Paraglomus laccatum</i>	18	0,02
<i>Pezizaceae</i> sp.	18	0,02
<i>Helicoma</i> sp.	17	0,02
<i>Exophiala clavispora</i>	17	0,02
<i>Dominikia iranica</i>	17	0,02
<i>Exophiala</i> sp.	17	0,02
<i>Eucasphaeria</i> sp.	16	0,02
<i>Cladophialophora</i> sp.	16	0,02
<i>Purpureocillium</i> sp.	15	0,02
<i>Xanthothecium peruvianum</i>	15	0,02
<i>Cystofilobasidium macerans</i>	15	0,02
<i>Bisifusarium penzigii</i>	15	0,02
<i>Penicillium multicolor</i>	15	0,02
<i>Psathyrella sacchariols</i>	15	0,02
<i>Lycoperdon pratense</i>	14	0,02
<i>Blastocladiomycota</i> sp.	14	0,02
<i>Filobasidium magnum</i>	14	0,02
<i>Neohelicomyces melaleuca</i>	14	0,02
<i>Stropharia coronilla</i>	14	0,02
<i>Sagenomella diversispora</i>	13	0,02
<i>Penicillium polonicum</i>	13	0,02
<i>Blastobotrys proliferans</i>	13	0,02
<i>Humicola distorta</i>	13	0,02
<i>Periconia macrospinosa</i>	12	0,01
<i>Sarocladium</i> sp.	12	0,01
<i>Scytalidium</i> sp.	11	0,01
<i>Tetracladium marchalianum</i>	11	0,01
<i>Papiliotrema ruineniae</i>	10	0,01
<i>Conioscypha bambusicola</i>	10	0,01
<i>Aspergillus inflatus</i>	10	0,01
<i>Calvatia cyathiformis</i>	10	0,01

Continuação Anexo 8.

Análise metagenômica encontrada em 150 mg de solo da amostra de regadio		
Gênero ou espécie de fungos	Número de Reads	%
<i>Articulospora proliferata</i>	10	0,01
<i>Branch06</i> sp.	10	0,01
<i>Pythium</i> sp.	10	0,01
<i>Vishniacozyma dimennae</i>	9	0,01
<i>Alternaria eureka</i>	8	0,01
<i>Ascospirella lutea</i>	8	0,01
<i>Pseudoarthrographis phlogis</i>	8	0,01
<i>Torula aquatica</i>	8	0,01
<i>Aspergillus intermedius</i>	7	0,01
<i>Pseudopithomyces angolensis</i>	6	0,01
<i>Sporidesmiella</i> sp.	6	0,01
<i>Acidomelania</i> sp.	5	0,01
<i>Extremopsis radicicola</i>	5	0,01
<i>Ustilago maydis</i>	5	0,01
<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i>	5	0,01
<i>Ascotricha</i> sp.	5	0,01
<i>Aureobasidium pullulans</i>	5	0,01
<i>Coniochaeta</i> sp.	5	0,01
<i>Tetracladium furcatum</i>	5	0,01
<i>Coniochaeta verticillata</i>	4	0
<i>Hormonema viticola</i>	4	0
<i>Wongia</i> sp.	3	0
<i>Entoloma anodinum</i>	3	0
<i>Collarina</i> sp.	3	0
<i>Scoleobasidium minimum</i>	3	0
<i>Monographella nivalis</i>	3	0
<i>Symmetrospora oryzicola</i>	3	0
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	3	0
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	2	0