

Grupos Operacionais de Fruticultura 2018-2022



Ficha técnica

Título: Grupos Operacionais de Fruticultura no período 2018-2022

Editores: Maria Paula Simões e Carmo Martins

Propriedade e edição: Centro Operativo e Tecnológico
Hortofrutícola Nacional - Centro de Competências (COTHN-CC)

Revisão do texto: Maria Paula Simões

Grafismo da capa: Super. Brand Consultants

Depósito legal:

Data de impressão: 2021

ISBN: 978-972-8785-18-5

Prefácio

A fruticultura é das atividades agrícolas a que requer mais conhecimento agronómico pois, baseando-se no cultivo de plantas perenes, exige um delineamento plurianual, com a agravante dos primeiros rendimentos ocorrerem apenas após o período juvenil das plantas, que pode variar de 1 a 6 ou mais anos, de acordo com a espécie em causa. O investimento inicial associado à instalação de um pomar requer conhecimento ao nível do solo e das condições climáticas, sendo a primeira base para conseguir seleccionar a espécie e as cultivares mais apropriadas, ou seja, que apresentem uma boa adaptação a essas condições, de modo a conseguir a maior eficiência dos recursos naturais, alcançando a melhor, a desejada e a exigida sustentabilidade ambiental.

A seleção das cultivares determina grandemente as mais-valias da atividade, que se “colherão” durante o período de produção do pomar. Para além dos aspetos produtivos terão de estar ajustadas ao futuro desejo dos consumidores. Assim, à instalação do pomar, o produtor terá de tomar a decisão de optar por cultivares que já são conhecidas e, portanto, de escoamento garantido à data da instalação, ou, optar por cultivares novas, recentemente criadas e libertadas por programas de melhoramento, cultivares essas que sejam promissoras, mas cuja opção corresponderá sempre a um maior risco.

Após a instalação do pomar inicia-se a gestão de cada ciclo anual, procurando-se a gestão mais eficaz dos fatores de produção como água (o primeiro fator limitante ao desenvolvimento vegetal), fertilizantes, pesticidas, maquinaria, mão-de-obra, apps, mecanização, robotização e monitorização, visando a otimização do desenvolvimento fisiológico das plantas para a obtenção de boas produções e qualidade dos frutos, garantindo a segurança alimentar e preservação do meio ambiente.

Por todo este contexto o fruticultor é um agente económico ávido de inovação, inovação essa que lhe confira vantagens competitivas.

O Ensino e a Investigação associados à fruticultura são assim fundamentais para a valorização do setor, pela criação de conhecimento novo e capacitação de jovens e adultos. As estruturas de apoio à produção e comercialização, nomeadamente as Organizações de Produtores e Associações de Produtores, que prestam apoio técnico, são outras peças-chave para o desempenho da atividade.

Este livro, que caracteriza os **19 Grupos Operacionais (GO)** de Fruticultura de Frutos Frescos, é uma prova inequívoca do dinamismo da fileira frutícola e da capacidade de cooperação entre instituições e produção, numa dedicação e capacidade assinalável das pessoas envolvidas. São as pessoas, os produtores, os investigadores, os docentes, os técnicos das associações, os bolseiros e o vasto conjunto de agentes associados à fileira frutícola, que permitem a realização da investigação e experimentação frutícola que se faz em Portugal.

Através do Programa PDR2020 foi possível a constituição dos Grupos Operacionais e a realização dos projetos com uma duração de 4 anos (aspeto fundamental quando se trata de fruticultura), que aqui se caracterizam e que abordam diferentes culturas e temáticas, de acordo com as necessidades identificadas conjuntamente com os agentes da produção. O conjunto dos projetos aqui apresentados representam um investimento total de **8 025 000 €**. Os resultados que aqui estão resumidos excedem largamente o esperado para um investimento deste montante, demonstrando o valor de todos os envolvidos, valor esse associado à sua capacidade de trabalho, de inovação, dedicação e resiliência, valor esse que deve ser reconhecido, valorizado e promovido publicamente.

A continua disponibilização de novos programas de financiamento deve ser uma prioridade para permitir a continuidade dos Grupos Operacionais para que a dinâmica criada seja rentabilizada e as equipas sejam mantidas, renovadas e/ou melhoradas, para bem da fruticultura nacional, valorizando as economias regionais, elos fundamentais da economia nacional.

Maria Paula Simões

Índice

GO FitoAgro - Monitorização e estudo do ciclo de vida de inimigos emergentes na Região do Oeste	7
GO FitoMaçã - Estratégias de proteção fitossanitária para a produção sustentável da maçã	26
GO Fortificação de pera Rocha em cálcio	45
GO FruitFlyProtec - Melhorar o combate a moscas da fruta por monitorização e avaliação de eficácia de meios de proteção alternativos para <i>Ceratitis capitata</i> e <i>Drosophila suzukii</i> e avaliação do risco de introdução e distribuição potencial para <i>Bactrocera dorsalis</i>	75
GO Fruta Dragão: Validar a capacidade produtiva da pitaia vermelha	103
GO GoFigoProdução - Melhorar a qualidade e produtividade dos figueirais através da modernização das técnicas utilizada e da eficiente utilização do solo	119
GO GojiBerries - Promover a cultura de Goji em modo biológico	139
GO i9Kiwi - Desenvolvimento de estratégias que visam a sustentabilidade da indústria de kiwis através da criação de um produto de valor acrescentado	159
GO MacFertiQual - Novos métodos de diagnóstico nutricional em macieiras 'Gala' visando a sustentabilidade e a qualidade	181
GO Optimal	203
GO PodaCitrus - Otimização da poda em citrinos, com vista à melhoria da qualidade da produção e à diminuição da incidência de doenças que afetam o aspeto do fruto	223

-
- GO PoliMax** – Promoção e aumento da eficiência da polinização entomófila em macieiras, pereiras e cerejeiras **239**
- GO ProEnergy** - Novos produtos alimentares e bioenergia a partir de frutos de baixo valor comercial e resíduos agroindustriais **259**
- GO ProtecEstenfilio** - Estudar a evolução da estenfiliose na cultura da pereira 'Rocha' e aplicar um conjunto de práticas que permitam minimizar o impacto da doença, com base na utilização otimizada dos recursos (água, fertilização, agentes de controle biológico e fungicidas) **283**
- GO PrunusBOT** - Sistema robótico aéreo autónomo de pulverização controlada e previsão de produção frutícola **343**
- GO PrunusFITO** - Avaliação do impacto de alguns inimigos (pragas e doenças) nas culturas das prunóideas na região da Beira Interior e avaliação da eficácia de diferentes meios de luta **371**
- GO PrunusPÓS** - Otimização de processos de armazenamento, conservação em frio, embalagem ativo e/ou inteligente, e rastreabilidade da qualidade alimentar no pós-colheita de produtos frutícolas **401**
- GO SafeApple** - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero **429**
- GO Valorização da produção da Cereja de Resende e posicionamento da sub-fileira nos mercados** **447**
- GO Competitive SouthBerries** - Pequenos frutos competitivos e sustentáveis: técnicas culturais inovadoras para o alargamento da época de produção **473**

GO FitoAgro - Monitorização e estudo do ciclo de vida de inimigos emergentes na Região do Oeste



Parceria

COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências (**Líder**)

APAS – Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena;

FRUTUS – Estação Fruteira de Montejunto;

COOPVAL – Cooperativa Agrícola dos Fruticultores do Cadaval;

CPF – Centro de Produção e Comercialização Hortofrutícola;

GRANFER

FRUBAÇA - Cooperativa de Hortofruticultores CRL

ECOFRUTAS;

CAB – Cooperativa Agrícola do Bombarral;

FRUTOESTE – Cooperativa Agrícola dos Horto-fruticultores do Oeste, CRL;

FCT - UNL – Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Nova de Lisboa;

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

IPCB-ESA – Instituto Politécnico de Castelo Branco - Escola Superior Agrária;

IPS-ESA – Instituto Politécnico de Santarém - Escola Superior Agrária

Palavras-chave: pragas; monitorização; estimativa do risco; sistema inteligente; modelos de previsão.

Website: <https://fitoagro.webnode.pt/>

Investimento total: 425 431,65€

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO FitoAgro

1. Identificação da espécie do "novo bichado da macieira";
2. Estudar os ciclos de vida das novas pragas e doenças emergentes, para as quais ainda não estão definidas metodologias de estimativa do risco e NEA;
3. Ensaiai métodos de luta biotécnica e biológica, baseada essencialmente na captura em massa, confusão sexual, reguladores de crescimento, bioinsecticidas, etc.;
4. Desenvolver mapas de riscos para as principais pragas e doenças, com especial enfoque na filoxera da pereira, cecidómia e cochonilha algodão;
5. Estender a plataforma InfoAgro com dados georreferenciados e de modelos, facilmente divulgada e analisada pelos técnicos e agricultores (SMS, portal, boletins digitais) para investigadores e serviços oficiais (podendo facilitar a exportação para fora da EU).

Equipa do GO FitoAgro

Entidades	Pessoas
APAS	João Azevedo
	João Carvalho
CAB	Maria João Batista
COOPVAL	Luisa Silva
COTHN-CC	Ana Paula
	Carmo Martins
	Carolina Lucas Neves
	Helder Coelho
CPF	Rafael Gomes
ECOFRUTAS	Joana Sousa
FRUBAÇA	Anabela Maurício
FRUTOESTE	Rosário Antunes
FRUTUS	Délia Fialho
	Zélia Dionísio
GRANFER	Cristina Rosa
IPCB-ESA	João Coutinho
IPS-ESA	Maria do Céu Godinho
FCT-UNL	Carlos Damásio
	João Moura Pires
	Leonardo Correia
	Maria Ferreira
	Miguel Correia
ISA	Elisabete Figueiredo

FitoAgro: Ferramenta para recolha de informação e tomada de decisão visando a sustentabilidade e competitividade das explorações frutícolas

Maria Ferreira^{1*}, João M. Pires¹, Carlos Damásio¹, Leonardo Correia¹, Miguel Correia¹, Carolina L. Neves², João Carvalho³ e Carmo Martins²

¹ FCT-UNL – Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

² COTHN- CC, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional - R. de Leiria, 2460-059 Alcobaça

³ APAS, Associação de Produtores Agrícolas da Sobrena - EM612 4, 2550-458 Cadaval

*Email: mdam.ferreira@campus.fct.unl.pt

Resumo

O grupo operacional FitoAgro foi constituído com o objetivo de recolher informação e definir estratégias de apoio à tomada de decisão para a proteção fitossanitária. O projeto pretende definir a estimativa do risco e o nível económico de ataque para pragas e doenças chave das pomóideas da região Oeste, com base na informação recolhida em postos de observação biológico das entidades parceiras. Para pragas emergentes, como a filoxera da pereira, a cochonilha algodão, a cecidómia e um “novo microlepidóptero”, pretende-se ainda definir estratégias de proteção baseadas na luta biotécnica. Foram estabelecidos quatorze postos de observação biológica para monitorização dos inimigos destas culturas, de acordo com protocolos devidamente estabelecidos onde se junta a informação biológica, meteorológica e eventos fitotécnicos registados durante as observações. Esta informação local é a base para o estabelecimento de métodos de estimativa do risco mais eficazes com sistemas inteligentes de apoio à decisão. Assim sendo, desenvolveu-se uma plataforma de visualização interativa de dados que permita analisar os dados fitossanitários observados no campo pelos técnicos, monitorizar os

dados meteorológicos relevantes para os ciclos de vida das pragas, e, principalmente, visualizar o ajuste dos modelos preditivos desses ciclos às observações registradas. Para isso, selecionou-se a praga cecidómia (*Dasineura pyri*) para ensaio, onde se começou por visualizar as observações fitossanitárias e por promover a descoberta de correlações com o estado fenológico e com os graus-dia acumulados (calculados segundo o modelo adotado pelo projeto). De seguida, comparou-se esses dados entre diferentes parcelas e diferentes anos, sendo que rapidamente se concluiu que a evolução temporal deste inseto diferia entre parcelas e entre anos. Estas conclusões são naturalmente explicáveis, uma vez que as condições ótimas para o desenvolvimento da cecidómia dependem das condições meteorológicas que, por sua vez, variam consoante o local e o ano. Assim, propôs-se a utilização dos graus-dia acumulados como eixo de referência e de comparação, em substituição do tempo/calendário. A seleção dessa variável meteorológica deve-se à sua utilização recorrente em modelos preditivos de pragas, incluindo para a cecidómia. Consequentemente, foi ainda possível visualizar ao longo dos graus-dia acumulados, o ajuste do modelo às observações fitossanitárias registradas. Finalmente, replicou-se este ensaio para o bichado da fruta (*Cydia pomonella* L.), tendo sido possível comprovar que a solução desenvolvida é adaptável a diferentes pragas e modelos.

Palavras-chave: pragas; monitorização; estimativa do risco; sistema inteligente; modelos de previsão.

Abstract

The FitoAgro operational group was constituted with the objective of collecting information and defining strategies to support decision-making for phytosanitary protection. The project aims to define the risk

estimate and the economic level of attack for pests and key diseases of pomoids in the Western region, based on information collected at biological observation posts of partner entities. For emerging pests, such as pear phylloxera, cotton cochineal, cecidomy and a "new microlepdopter", it is also intended to define protection strategies based on the biotechnical struggle. Fourteen biological observation posts have been established to monitor the enemies of these crops, according to properly established protocols that add biological, meteorological and phytotechnical events recorded during observations. This local information is the basis for establishing more effective risk estimation methods with intelligent decision support systems. Therefore, an interactive data visualization platform was developed to analyze the phytosanitary data observed in the field by the technicians, monitor the meteorological data relevant to the life cycles of the pests, and, mainly, visualize the adjustment of the predictive models of these cycles to the observations recorded. For this, the pear leaf midge (*Dasineura pyri*) was selected for trial, which began by visualizing the phytosanitary observations and promoting the discovery of correlations with the phenological state and with the accumulated degree-days (calculated according to the model used by the project). Then, this data was compared between different plots and years, having been quickly concluded that the temporal evolution of the insect differed between plots and between years. These conclusions are naturally explainable, since the optimal conditions for the development of this insect depends on the weather conditions which, in turn, vary depending on the year and location. Thus, it was proposed the use of accumulated degree-days as a reference and comparison axis, replacing time/calendar. The selection of this meteorological variable is due to its recurrent use in pest predictive models, including for the pear leaf midge. Consequently, it was also possible to visualize throughout the accumulated degrees-days, the adjustment of the model to the

observations. Finally, the trial was replicated for the codling moth (*Cydia pomonella* L.), having been possible to ascertain that the solution developed is adaptable to different pests and models.

Keywords: meteorological data; field data; predictive models; crop pests; pome trees.

Introdução

O grupo operacional FitoAgro, pretende definir a estimativa do risco e o nível económico de ataque (NEA) para pragas e doenças chave das pomóideas da região Oeste, com base na informação recolhida nos postos de observação biológico das entidades parceiras do grupo operacional. Para pragas emergentes, como a filoxera da pereira, a cochonilha algodão, a cecidómia e um “novo microlepidóptero”, pretende-se definir estratégias de proteção baseadas na luta biotécnica, permitindo um aumento da eficiência dos recursos utilizados no âmbito da proteção fitossanitária na produção e a sustentabilidade e competitividade das explorações hortofrutícolas. O projeto tem ainda como principais objetivos a identificação da espécie de um “novo microlepidóptero”; estudar os ciclos de vida de novas pragas emergentes, para as quais ainda não estão definidas metodologias de estimativa do risco e NEA; desenvolver mapas de riscos para as principais pragas e doenças, com especial enfoque na filoxera, cecidómia e na cochonilha algodão; estender a plataforma InfoAgro com dados georreferenciados e de modelos, facilmente divulgada e analisada pelos técnicos e agricultores (SMS, portal, boletins digitais, plataformas digitais) para investigadores e serviços oficiais (podendo facilitar os processos de exportação para fora da EU).

Para o projeto foram disponibilizadas quatorze parcelas de pera e de maçã que servem de pontos de observação biológica (POB's). Por sua vez, a equipa de campo faz a monitorização de armadilhas e as observações visuais, a fim de conferir a evolução e desenvolvimento das diferentes pragas e doenças. A sua monitorização e o registo dos dados

observados dependem do protocolo pré-estabelecido para cada praga. Atualmente, o seu registo é através de uma aplicação móvel, desenvolvida pelo grupo da FCT/UNL, que pretende ir de encontro a um dos objetivos do projeto: a criação de uma ferramenta para recolha de informação e tomada de decisão visando a sustentabilidade e competitividade das explorações frutícolas. Após concluída a recolha de dados, estes são armazenados na Google Drive, onde são executados mecanismos automáticos para a sua integração no sistema de informação do FitoAgro.

O sistema de informação integra essencialmente dois tipos de dados: os dados de observação recolhidos nas visitas aos POB's e os dados meteorológicos relevantes para o ciclo de vida das pragas. Relativamente aos dados meteorológicos recolhidos, estes provêm de diferentes estações do projeto, bem como de outras entidades externas. No entanto, rapidamente se observou que essas estações meteorológicas eram propícias a falhas, pelo que foi feito um extenso trabalho por parte do grupo da FCT/UNL no sentido de corrigir essas falhas. Para além disso, apenas algumas destas estações estão localizadas dentro dos POB's estabelecidos, pelo que de forma a obter dados meteorológicos fidedignos para os restantes locais foi necessário associar uma estação virtual a cada um deles. Os dados das estações virtuais são obtidos através das restantes estações utilizando o método IDW (inverse distance weighting) que tem em consideração a distância das estações na proximidade ao POB.

Após este processo de recolha e tratamento dos dados, tanto de observação como meteorológicos, é possível obter, através do sistema de informação, todos os dados necessários para visualizar os dados observados no campo, bem como o ajuste de modelos preditivos a essas observações. A visualização integrada de todos esses dados e a possibilidade de comparação entre POB's e anos, corresponde assim ao objetivo final deste trabalho.

Este documento está dividido em quatro secções, sendo que a primeira corresponde a esta secção introdutória. A segunda secção, materiais e métodos, descreve o ensaio realizado para a cecidómia, onde se apresenta as visualizações construídas para permitir a análise em simultâneo de todos os dados associados às visitas de campo, para diferentes POB's e anos. Ainda nessa secção, expõe-se as dificuldades da análise e comparação de observações fitossanitárias ao longo do eixo temporal/calendário. Na secção seguinte, principais resultados, apresenta-se o modelo preditivo utilizado para a cecidómia e a construção de visualizações que utilizam os grau-dia acumulados, calculados através do modelo, como eixo de referência. Ainda nessa secção, demonstra-se a replicabilidade da solução desenvolvida para outras pragas e modelos, através da sua adaptação para o bichado da fruta. Finalmente, a última secção apresenta uma síntese das conclusões mais relevantes e os objetivos do trabalho futuro.

Materiais e Métodos

O grupo operacional do projeto procede à monitorização de diferentes pontos de observação, sendo que cada um destes pontos tem uma praga principal associada. Em cada local deverá ser executado o protocolo específico para a praga principal e um generalista para as restantes pragas. Cada protocolo específico descreve o que deve ser observado e registado pelos técnicos relativamente à praga associada.

Selecionou-se para ensaio a praga cecidómia (*Dasineura pyri*) e os POB's que a têm como praga principal, de forma a obter o maior nível de detalhe das observações registadas. Iniciou-se o ensaio por construir, na plataforma Tableau, visualizações que apresentassem de uma forma integrada, a evolução temporal de todos os dados de campo, num determinado POB e ano. Estes dados incluem as visitas e as observações fitossanitárias registadas, o estado fenológico do pomar e os graus-dia acumulados.

As observações fitossanitárias registadas para a cecidómia consistem na indicação do número de rebentos atacados por larvas, sendo para

cada um desses especificado a coloração da larva: translúcida, branca, amarela ou laranja. Para visualizar estas observações utilizou-se barras empilhadas, onde cada barra representa o número total de larvas, de uma determinada coloração, observado durante a visita. Anotou-se ainda, acima de cada visita, a percentagem de ataque da praga, sendo que isto corresponde ao número de rebentos atacados em 100 rebentos observados (Figura 1).

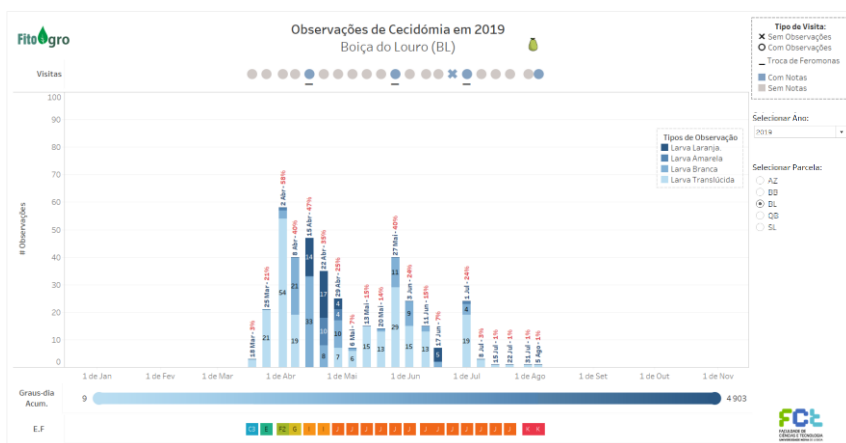


Figura 1 - Visualização que integra os graus-dia acumulados e toda a informação de cecidómia registada nas visitas realizadas ao longo de 2019, no POB da Boiça do Louro (BL). No topo, encontra-se uma visão holística das visitas registadas, mapeadas para o símbolo e cor. No centro da visualização, tem-se as observações fitossanitárias e, abaixo destas, uma faixa com os graus-dia acumulados ao longo do tempo. Finalmente, no fundo da visualização apresenta-se os estados fenológicos registados em cada visita, cuja sequência (A-K) mapeou-se para a sequência do matiz de cores.

Como referido anteriormente, os técnicos efetuam o registo de observações durante as visitas. No entanto, podem também registar notas adicionais, indicar a impossibilidade do registo de observações (e.g. devido à chuva) ou que foram trocadas feromonas. Dada a importância dessa informação, criou-se uma faixa que permitisse ter

uma visão holística das visitas ao POB, ao longo do tempo (Figura 1). Durante essas visitas regista-se ainda, independentemente dos protocolos/praga, o estado fenológico do pomar, que é de extrema importância para o desenvolvimento da praga. Por esse motivo, também se adicionou uma visualização que contém os estados fenológicos registados ao longo do tempo (Figura 1).

Como informação adicional, considerou-se que seria importante correlacionar as observações com os dados meteorológicos. Para isso, selecionou-se a variável derivada da temperatura do ar, os graus-dia acumulados, uma vez que esta é utilizada no modelo preditivo para a cecidómia adotado pelo projeto. Um grau-dia acontece quando a temperatura média num determinado dia (24 horas) está um grau acima do zero de desenvolvimento para o inseto, imposto pelo modelo. A acumulação deste valor ao longo de vários dias corresponde ao graus-dia acumulados, que permite estimar a fase do ciclo de vida em que o inseto se encontra. Assim, para construir este componente calculou-se os graus-dia através do modelo referido anteriormente e representou-se a sua acumulação ao longo do tempo por uma faixa de cor azul, cuja tonalidade escurece com o aumento do valor do acumulado (Figura 1).

Após todo este processo, incorporaram-se todas as visualizações construídas numa única visualização global (Figura1) que permite correlacionar, entre si e com os graus-dia acumulados, a evolução temporal de toda a informação associada às visitas de campo, por POB e por ano. Dessa visualização, surgiu a necessidade de comparar a evolução da praga entre diferentes POB's e diferentes anos. Para isso, produziram-se duas visualizações semelhantes à anterior, sendo que uma permite comparar essa evolução entre dois pomares ao longo do mesmo ano (Figura 2) e a outra permite comparar entre anos para o mesmo pomar (Figura 3). No entanto, estas visualizações apresentaram dificuldades para a comparação, uma vez que o desenvolvimento do inseto não é semelhante ao longo do tempo para todos os locais e/ou anos. Isto era esperado, uma vez que as condições ótimas para o

desenvolvimento dos insetos, neste caso da cecidómia, dependem das condições meteorológicas que, por sua vez, variam consoante o local e o ano.



Figura 2 - Visualização para comparação da evolução temporal da cecidómia ao longo de 2019, para dois pomares distintos, BL (em cima) e SL (em baixo).

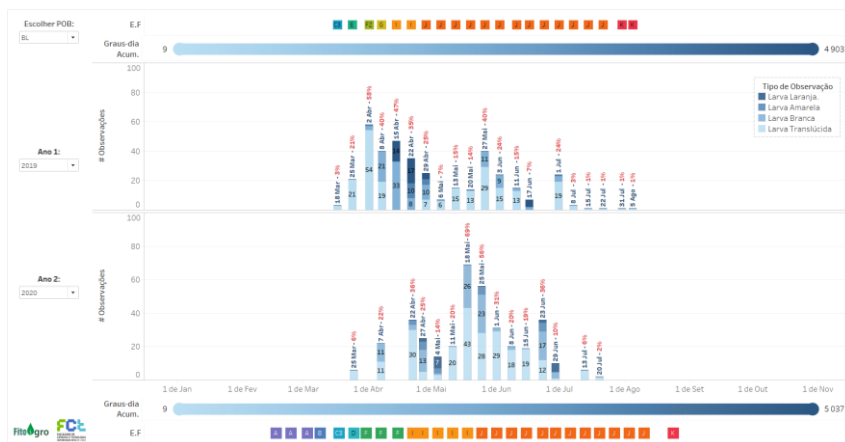


Figura 3 - Visualização para comparação da evolução temporal da cecidómia para o pomar BL, ao longo de dois anos distintos, 2019 (em cima) e 2020 (em baixo).

Conclui-se, portanto, que o tempo/calendário não é um eixo adequado para a comparação da evolução do ciclo de vida dos insetos entre diferentes locais e/ou anos.

Principais resultados

Dadas as dificuldades apresentadas na secção anterior, foi necessário encontrar uma variável temporalmente dependente e cuja evolução variasse consoante o local e/ou ano, tendo em conta as condições ótimas para o desenvolvimento do inseto. Como também descrito anteriormente, os graus-dia acumulados preenchem esses critérios, pelo que esta variável foi proposta como eixo de referência.

O cálculo dos graus-dia depende da parametrização do modelo utilizado, isto é, de quais as condições consideradas “ótimas” para o desenvolvimento da praga. Como já foi referido, para este estudo utilizou-se o modelo aplicado pelo projeto para a cecidómia. Os graus-dia desse modelo são calculados através da equação $DD =$

$\frac{T_{\min} + \max T}{2} - T_{\min}$, onde $\max T$ é a temperatura máxima diária e $T_{\min}$ é o zero de desenvolvimento do inseto (Damos & Savopoulou-Soultani 2012). Neste estudo, as visualizações que se apresentam para a cecidómia consideram $T_{\min}$ igual a 0°C. Adicionalmente, os intervalos de graus-dia acumulados, adotados no projeto, para prever as diferentes gerações de cecidómia são entre 758 e 1200, entre 1423 e 1900 e a partir de 2185, respetivamente para a 1ª, 2ª e 3ª gerações.

Após o cálculo dos graus-dia, deu-se início à proposta de utilização do seu acumulado como eixo de referência temporal. Por exemplo, para as observações fitossanitárias isto corresponde a visualizar o número de observações registadas quando se atinge o número de graus-dia acumulados até à data da visita. Para visualizar esta solução, reutilizou-se as visualizações de comparação apresentadas na secção anterior, onde se substituiu apenas o eixo temporal pelo eixo proposto e a faixa de graus-dia por uma linha cronológica. Para além disso, no gráfico das observações representou-se o ajuste do modelo a essas observações, através da anotação dos graus-dia acumulados que este prevê que sejam necessários para atingir as diferentes fases do ciclo de vida da praga.

Obteve-se assim uma solução visual original, que permite analisar, para diferentes pomares (Figura 4) e diferentes anos (Figura 5), as observações fitossanitárias registadas e o ajuste do modelo a essas observações. Para além disso, esta solução supera as dificuldades apresentadas na secção anterior, uma vez que permite comparar adequadamente o comportamento da praga, entre pomares e entre anos, através da utilização dos graus-dia acumulados como eixo de referência.



Figura 4 - Visualização para comparar a evolução da cecidíomia entre dois pomares distintos, BL (em cima) e SL (em baixo), ao longo dos graus-dia acumulados em 2019. Os eixos entre os pomares foram alinhados entre si, de forma a obter um único eixo comum. Os intervalos anotados a cinzento correspondem ao ajuste do modelo preditivo.



Figura 5 - Visualização para comparar a evolução da cecidómia entre dois anos distintos, 2019 (em cima) e 2020 (em baixo), ao longo dos graus-dia acumulados em cada ano, no pomar BL. Os eixos entre os anos foram alinhados entre si, de forma a obter um único eixo comum. Os intervalos anotados a cinzento correspondem ao ajuste do modelo preditivo.

Replicabilidade

Uma vez que a solução apresentada foi construída tendo em consideração apenas as necessidades do ensaio para a cecidómia, ponderou-se testar a replicabilidade da mesma para outras pragas e modelos. Para isso selecionou-se o bichado da fruta (*Cydia pomonella* L.), uma vez que esta é uma praga muito estudada e que possui um modelo robusto na literatura.

O modelo definido para o bichado, segundo Amaro et al. (1982), também recorre aos graus-dia, sendo o seu cálculo efetuado utilizando o excedente da temperatura média relativamente ao zero de desenvolvimento da praga (considerado 10°C). Este foi o modelo adotado por este trabalho para o cálculo dos grau-dia, cujo acumulado foi definido como eixo de referência, e para a anotação das diferentes fases de atividade da praga.

Para comprovar a replicabilidade da solução, utilizou-se como base as visualizações construídas para a cecidómia, nomeadamente para um determinado POB e ano. No entanto, não foi possível reutilizar o componente das observações fitossanitárias, uma vez que as observações registadas segundo o protocolo do bichado diferem da cecidómia. A existência de protocolos específicos para cada praga surge precisamente por estas não se manifestarem de igual modo. Por este motivo, naturalmente que as observações e, consequentemente, a sua visualização também irão variar consoante o protocolo/praga em análise, pelo que a adaptação deste componente não invalida a replicabilidade da solução. Assim sendo, repartiram-se as observações do bichado por dois gráficos. Um gráfico de barras para visualizar, por visita, o número total de frutos atacados e um gráfico de linhas que representa a curva de voo do inseto, isto é, a evolução, por visita, do número de indivíduos capturados em armadilhas. Para além disso, assinalou-se o nível económico de ataque (NEA) correspondente e no segundo gráfico o ajuste do modelo preditivo às capturas registadas.

Após esta adaptação, foi possível obter para o bichado uma visualização que apresenta a evolução da praga ao longo dos graus-dia acumulados, para um determinado POB e ano (Figura 6). Posteriormente, possibilitou-se também a comparação dessa evolução entre POB's e entre anos. Comprovou-se assim que a solução desenvolvida é replicável para outras pragas e modelos semelhantes, sendo, no entanto, necessário e justificável a adaptação do componente de observações fitossanitárias ao protocolo/praga em análise.

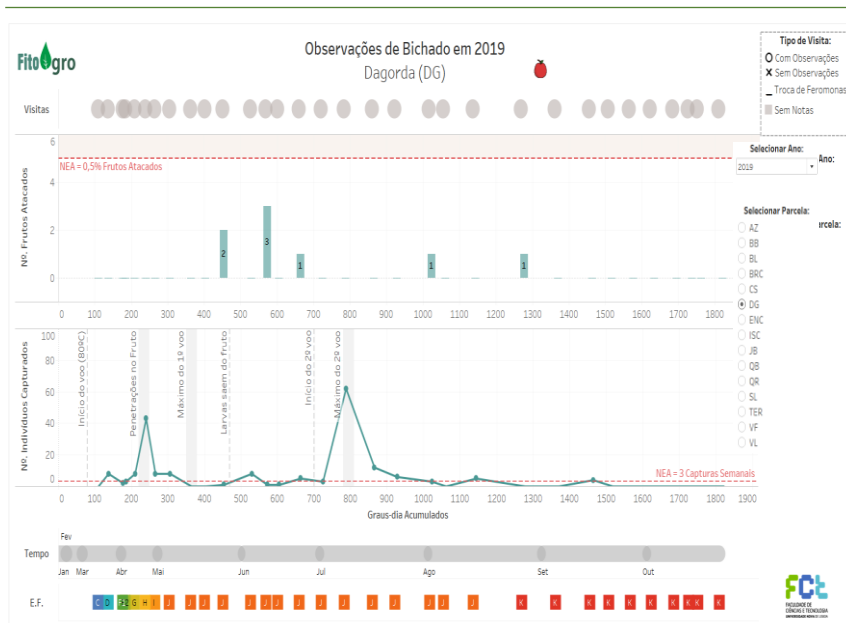


Figura 6 – Replicação para o bichado da solução de visualização construída para a cecidómia. Esta integra os graus-dia acumulados e toda a informação do bichado registada nas visitas realizadas ao longo de 2019, no POB de Dagorda (DG).

Conclusões

Em suma, a equipa da FCT/UNL, em cooperação com o grupo operacional FitoAgro, tornou possível a recolha de dados em formato digital, através de uma aplicação móvel, e a integração de dados meteorológicos, através da criação e associação a cada parcela de estações virtuais. Graças a esse trabalho prévio, foi então possível criar uma plataforma de visualização interativa de dados que permite monitorizar os dados meteorológicos de cada estação e associados a cada parcela, analisar os dados recolhidos no campo pelos técnicos em diferentes parcelas e anos e que inclui uma solução de visualização original, explicada em detalhe neste documento, para analisar visualmente o ajuste dos ciclos de vida das pragas às observações

fitossanitárias registadas, sendo esta solução replicável para diferentes pragas e modelos.

Como trabalho futuro, pretende-se continuar o desenvolvimento de visualizações para outras pragas e integrar o feedback técnico dos cientistas e técnicos do projeto na seleção de modelos, permitindo assim a geração de mapas de risco.

Referências Bibliográficas

FitoAgro. 2018. www.fitoagro.webnode.pt/

Amaro, P. & Baggiolini, M. 1982. Introdução à Proteção Integrada. FAO/DGPPA, Lisboa.

Damos, P. & Savopoulou-Soultani, M. 2012. Temperature-driven models for insect development and vital thermal requirements. *Psyche: A Journal of Entomology* 2012/123405.

GO FitoMaçã - Estratégias de proteção fitossanitária para a produção sustentável da maçã



Parceria

AFA – Associação de Fruticultores de Armamar (**Líder**);

CACA – Cooperativa Agrícola do Concelho de Armamar, CRL (**Líder**);

AFUVOPA – Associação de fruti. Viti. E olivi. do Planalto de Ansiães;

ABPRT – Associação de Beneficiários do Perímetro de Rega do Temilobos;

Frutas Marta & Silva, Lda;

Frutas Planalto Lda;

Gouveia e Fonseca Lda;

IPB – Instituto Politecnico de Bragança;

IPVC – Instituto Politécnico de Viana do Castelo;

MALUS BEIRÃ – Soc. Produção e Comercialização de Frutas Beira Alta Lda;

Produtor – Euclides Acácio Correia;

Produtor – Luís António Veiga;

UTAD – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Palavras-chave: maçã de montanha; proteção fitossanitária; NEA; apoio à decisão.

Website:

Investimento total: 418 554,74 €

Logótipos dos Parceiros



Objectivos do GO FitoMaçã

O objetivo principal é a identificação e monitorização das principais pragas e doenças bem como dos auxiliares presentes e aferição do nível económico de ataque para as principais doenças e pragas da macieira, na região da Beira Alta, visando reduzir o número de aplicações de produtos fitofarmacêuticos e privilegiar as práticas e métodos de prevenção alternativos mantendo elevados padrões de qualidade, boas características organoléticas, boa conservação e baixos níveis de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos frutos e preservação e fomento da fauna auxiliar.

Para cumprir este objetivo propõe-se:

- Acompanhar a evolução das doenças e pragas objeto deste trabalho;
- Emissão de alertas, para os agricultores sempre que os modelos de previsão e as condições para a ocorrência dos inimigos visados se verifiquem nos postos de observação (POBs e EMAs) com a recomendação das intervenções fitossanitárias, indicando as datas mais oportunas e os meios de luta mais aconselhados para o combate dos inimigos da macieira, levando a uma redução no número de tratamentos;
- Aferição dos níveis econ  micos de ataque para a região;
- Definição e aplicabilidade de práticas culturais e meios de luta alternativos para controlo dos inimigos da macieira;
- Criação de uma base de dados (climáticos e biológicos) disponíveis online, ficando disponíveis para os técnicos e para os agricultores;
- Aumento da formação dos agricultores pela transferência de conhecimentos e das técnicas desenvolvidas, na presente proposta.

Equipa do GO FitoMaçã

Entidades	Pessoas
AFA	Miguel Pinto
	Natércia Ribeiro
CACA	Vítor Paiva
AFUVOPA	Duarte Borges
ABPRT	Ricardo Santos
IPB	Albino Bento
IPVC	Raul Rodrigues
Luís Antonio Veiga	Luís António Veiga
Euclides Acacio Correia	Euclides Acacio Correia
Frutas Marta & Silva, Lda	Sérgio Silva
Frutas Planalto Lda	Vitor Saraiva
Gouveia e Fonseca Lda	Orlando Fonseca
MALUS BEIRÃ	Mário Pereira
UTAD	Ana Maria Nazaré Pereira
	Isabel Cortez

FitoMaçã – Estratégias de proteção fitossanitária para a produção sustentável da maçã

Miguel Pinto¹, Natércia Ribeiro¹, Isabel Cortez², Albino Bento³, Raul Rodrigues⁴, Vitor Paiva⁵, Ricardo Santos⁶ e Duarte Borges⁷

¹ AFA – Associação de Fruticultores de Armamar, Mercado Municipal loja 2 5110 -121 Armamar, Portugal

² UTAD – Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000 – 801 Vila Real, Portugal

³ IPB-ESA – Instituto Politecnico de Bragança, Escola Superior Agrária, Alameda de Santa Apolónia 253, 5300 – 252 Bragança, Portugal

⁴ IPVC-ESA – Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior Agrária, Rua D. Mendo Afonso 147 Refóios do Lima, 4990- 706 Ponte de Lima, Portugal

⁵ CAA – Cooperativa Agrícola do Concelho de Armamar, Mercado Municipal Loja E, 5110 – 121 Armamar, Portugal

⁶ ABPRT – Associação de Beneficiarios Perimetro de Rega do Temilobos, Mercado Municipal loja 2, 5110-121 Armamar, Portugal

⁷ AFUVOPA – Associação de Fruticultores e Olivicultores do Planalto de Ansiães, R Tem. Aviador Melo Rodrigues, 243 R/C 5140 – 060 Carrazeda de Ansiães, Portugal

Email: projectos.afa@gmail.com

Resumo

A produção de maçã nos concelhos de Armamar, Carrazeda de Ansiães, Moimenta da Beira e Lamego tem uma importância fundamental na economia da região.

Este foi o pressuposto para a criação deste GO, liderado pela Associação de Fruticultores de Armamar (AFA) e que compreende os seguintes parceiros: UTAD, IPB, IPVC, CAA, ABPRT e a AFUVOPA, e que tem como objetivo principal a identificação e monitorização das principais pragas e doenças associadas à cultura, a fauna auxiliar presente e aferição do nível económico de ataque para as principais doenças e pragas da macieira, na região.

Visa reduzir o número de aplicações de produtos fitofarmacêuticos e privilegiar as práticas e métodos de prevenção alternativos mantendo elevados padrões de qualidade, boas características organoléticas, boa conservação e baixos níveis de resíduos de produtos fitofarmacêuticos nos frutos, assim como a preservação e fomento da fauna auxiliar.

Foram definidos 6 locais de ensaio, sendo 2 localizados em Carrazeda de Ansiães, da responsabilidade da AFUVOPA (Luís Veiga e Frutas Planalto Lda.), os restantes são acompanhados pela AFA, 3 em Armamar (Gouveia e Fonseca, Frutas Marta e Silva e Euclides Correia) e 1 em Moimenta da Beira (Malus Beirã) e instalados Postos de Observação Biológicos (POB's) e Estações Meteorológicas Automáticas (EMA's).

Desde 2018 que os campos de ensaio são acompanhados pelos diversos parceiros, nomeadamente a UTAD (pedrado), IPB (bichado) e IPVC (fitoseideos e aranhaço vermelho). Estes parceiros, tem a responsabilidade de delinear a estratégia a seguir nos diferentes campos, de forma a cumprir os objetivos propostos. A escolha de indutores de resistências das plantas e a diminuição do número de PF's utilizados é o foco do estudo, tendo sempre como comparação a metodologia usada pelo agricultor da região.

Os resultados têm sido animadores e divulgados em dias abertos, assim como na rede rural.

Palavras-chave: pedrado; bichado; fitoseideos; aranhaço vermelho; produtos fitofarmacêuticos.

Abstract

The apple production in the municipalities of Armamar, Carrazeda de Ansiães, Moimenta da Beira and Lamego has a fundamental importance in the region's economy.

This was the assumption for the creation of this GO, led by the Associação de Fruticultores de Armamar (AFA) and including the following partners: UTAD, IPB, IPVC, CAA, ABPRT and AFUVOPA, and

which has as main objective the identification and monitoring of the main pests and diseases associated with apple production, the auxiliary fauna present and the assessment of the economic level of attack for the main diseases and pests.

A main goal is to reduce the number of chemical products applications for plant protection and give preference to practices and alternative prevention methods while maintaining high quality standards, good organoleptic characteristics, good storage and low levels of residues of plant protection products in the fruit, as well as the preservation and promotion of auxiliary fauna.

6 trial sites have been defined, 2 of which are located in Carraceda de Ansiães, under the responsibility of AFUVOPA (Luís Veiga and Frutas Planalto Lda.), the others are monitored by AFA, 3 in Armamar (Gouveia e Fonseca, Frutas Marta e Silva and Euclides Correia) and 1 in Moimenta da Beira (Malus Beirã) and Biological Observation Posts (POB's) and Automatic Meteorological Stations (EMA's) have been installed.

Since 2018, the trial fields are monitored by the various partners, namely UTAD (apple scabe), IPB (codling moth) and IPVC (phytoseids and european red mit). These partners, have the responsibility to outline the strategy to be followed in the different fields, in order to meet the proposed objectives. The choice of plant resistance inductors and the decrease in the number of FP's used is the focus of the study, always having as comparison the methodology used by the farmer of the region.

The results have been encouraging and disseminated at open days as well as in the rural network.

Keywords: apple scabe; codling moth; phytoseids and european red mit; phytopharmaceuticals products.

Introdução

Em Portugal a cultura da macieira assume grande importância, localizando-se as principais áreas da cultura na região de Trás-os-Montes, Oeste e Beira Interior. Nos concelhos de Armamar, Moimenta da Beira, Lamego e Carrazeda de Ansiães esta cultura tem uma importância económica destacável, tanto pelos rendimentos económicos que proporciona, como pelo seu contributo no combate à desertificação, principalmente nos concelhos referidos onde se observa baixa densidade populacional.

O pedrado da macieira, o bichado e o aranhaço vermelho são os principais problemas fitossanitários que os agricultores enfrentam no processo produtivo da maçã. A sensibilidade ao pedrado das cultivares de macieira utilizadas varia ligeiramente, sendo as mais sensíveis as que pertencem ao grupo Golden e Red delicious, cultivares que apresentam maior representatividade em área e rendimento na região. As cultivares menos sensíveis são a Bravo e o grupo das Reineta, que são menos representativas na região. Nas cultivares mais sensíveis, caso não seja efetuada nenhuma intervenção de luta química contra o pedrado atingem-se perdas de produção na ordem de 80% a 100%.

Em relação ao bichado e ao aranhaço vermelho a sensibilidade das cultivares é idêntica. As perdas de produção por estes inimigos são da mesma ordem de valores (80% a 100%) caso não se efetue qualquer intervenção química.

Na região do âmbito deste projeto, que representa cerca de 50% da produção nacional, não temos conhecimento de quaisquer estudos sobre estas pragas e doenças. A acrescer a esta situação, a rede nacional de avisos agrícolas não faz uma cobertura para região, ou seja, não há a emissão de avisos agrícolas para a previsão de ocorrência dos problemas fitossanitários acima referidos e respetivo aconselhamento. As associações locais tentam dar o apoio possível, contudo debatem-se com problemas gravíssimos de falta de meios, o que condiciona um aconselhamento eficaz. Esta falta de meios passa pela não existência de

meios básicos como estações meteorológicas automáticas (EMAs) e postos de observação biológicos (POB). Combinado com esta inexistência, há o medo do agricultor perder a sua produção. A maçã é um produto fundamentalmente para consumo em fresco e qualquer lesão provoca depreciação e perdas de rendimento. Estas situações traduzem-se num maior número de tratamentos por campanha, o que se reflete num excesso de utilização de produtos fitofarmacêuticos, com os acréscimos de custos económicos, toxicológicos e ecotoxicológicos. Os custos associados à luta química contra os inimigos acima referidos representam 40% a 50% do preço da maçã pago ao produtor.

Material e métodos

No âmbito deste projeto instalaram-se campos de ensaio em pomares comerciais, com instalação de Postos de Observação Biológica (POB) e instrumentos de monitorização.

Pedrado

Em 2019 foram usadas 4 estratégias/modalidades diferentes:

- Modalidade 1- Fungicidas sistémicos + Fungicidas de contacto;
- Modalidade 2- Quitosana + Fungicidas de contacto;
- Modalidade 3- Fungicidas de contacto;
- Modalidade 4- Testemunha (sem tratamento).

Em 2020 optou-se pelo mesmo método, utilizando 4 modalidades diferentes:

- Modalidade 1- Fungicidas + Terra de Diatomáceas.
- Modalidade 2- Fungicidas + Quitosana + Fenóis e Flavonóides, Saponinas, Acido Silícico;
- Modalidade 3- Fungicidas + Complexo ativo de péptidos com silício solúvel;
- Modalidade 4- Testemunha (sem tratamento).

Os estudos foram realizados nos campos de:

- Gouveia e Fonseca, localizada em Queimada, concelho de Armamar;

- Euclides, localizada em São Martinho das Chãs, concelho de Armamar;
- Malus Beirã, localizada em Leomil, concelho de Moimenta da Beira;
- Frutas Planalto, localizado em Marzagão, concelho de Carrazeda de Ansiães.

Para avaliação da incidência de pedrado foram observados frutos e folhas.

Bichado

No ano de 2019 fez-se o acompanhamento do ciclo biológico do bichado, através de armadilhas sexuais, e para o controlo da praga utilizaram-se reguladores de crescimento e o vírus da granulose. No campo de Carrazeda de Ansiães foi feita a monitorização dos artrópodes associados à cultura da macieira.

Em 2020 continuou a ser feito o acompanhamento da praga, alterando a metodologia de controlo, para a utilização da confusão sexual através de Puffer difusor de feromona sexual (Chekmate Puffer, da Selectis) complementado com aplicação de um regulador de crescimento à primeira geração e um insecticida larvicida na segunda geração quando foi atingido o NEA (determinado por contagens de frutos atacados).

No campo de Carrazeda de Ansiães continuou a ser feita a monitorização dos artrópodes associados à cultura da macieira.

O estudo decorreu nos campos:

- Frutas Marta e Silva, localizado em Santa Cruz, concelho de Armamar;
- Malus Beirã, localizada em Leomil, concelho de Moimenta da Beira;
- Luís Veiga, localizado em Fonte Longa, concelho de Carrazeda de Ansiães.

Aranhão Vermelho e Fitoseídeos

Para avaliação do aranhão vermelho e fitoseídeos utilizaram-se dois campos, nomeadamente:

- Gouveia e Fonseca, localizada em Queimada, concelho de Armamar;

- Malus Beirã, localizada em Leomil, concelho de Moimenta da Beira;

Neste estudo utilizaram-se três acaricidas diferentes espiroclorfenol (Envidor), etoxazole (Borneo) e milbemectina (Milbecknock), a beta-ciflutrina como referência tóxica (Buldock) e a água como testemunha, com 5 repetições por tratamento.

Foi avaliada a toxicidade dos diferentes produtos fitofarmacêuticos, sobre os fitoseídos presentes no pomar. Para tal procedeu-se a recolha de 25 folhas para cada repetição, num total de 25 amostras. Estas foram observadas à lupa binocular para fazer a contagem dos fitoseídeos e também do aranhão vermelho.

Principais resultados

Pedrado

Em 2019, em todos os campos e modalidades os resultados foram semelhantes. O controlo do pedrado foi conseguido nas 3 modalidades. Na modalidade 1 foram efetuadas 9 aplicações de produtos fitofarmacêuticos (PFs), na modalidade 2 e 3 foram efetuadas 12 aplicações, enquanto que na modalidade praticada pelo agricultor foram efetuadas 15 aplicações.

A modalidade 2 foi bastante mais cara que todas as outras (dados não apresentados).

Em 2020, verificou-se uma grande diferença entre as modalidades e a testemunha. O número de frutos com pedrado, a quantidade de manchas de pedrado foi mais elevada nas modalidades testemunha nos diferentes campos de ensaio (Figura 1 e Figura 2).

Na região, fora do campo de ensaio, a incidência da doença foi semelhante, mas registou-se um acréscimo de 7 tratamentos.

Fazendo o estudo económico as modalidades 1 e 3 foram mais económicas que a praticada pelo agricultor, tendo ainda benefícios ecológicos pela redução do número de tratamentos.

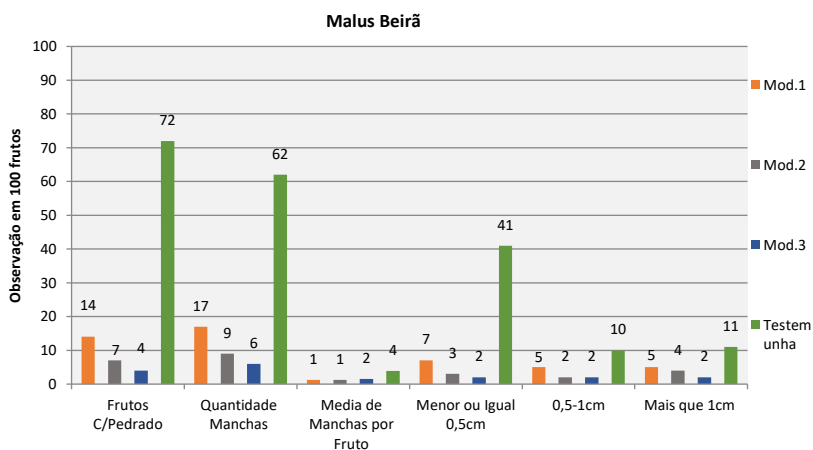


Figura 1- Resultados da incidência e caracterização das manchas de pedrado, no campo de Malus Beirã, ciclo 2020.

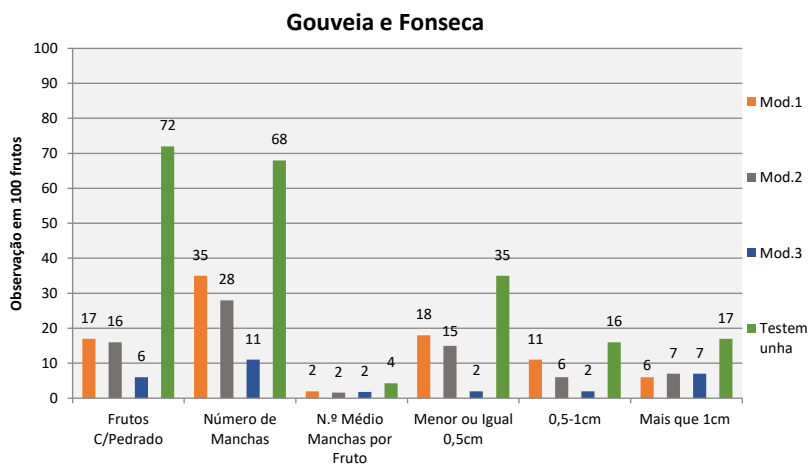


Figura 2- Resultados da incidência e caracterização das manchas de pedrado, no campo de Gouveia e Fonseca, ciclo 2020.

Bichado

Em 2019, para o conjunto dos campos acompanhados, o ciclo do bichado foi marcado por duas gerações distintas (Figura 3). A primeira geração foi bem marcada, em maio, e com nível elevado de capturas. A segunda geração foi mais difusa e prolongada, registando-se o maior número de capturas no campo Marta e Silva.

O controlo foi efectuado com recurso a um regulador de crescimento no pico da 1ª e da 2ª geração seguido da aplicação do vírus da granulose. Os 4 tratamentos revelaram boa eficácia, havendo, no entanto, praticamente o dobro da percentagem de frutos bichados à colheita em relação à modalidade do agricultor que rondou os 0,6%, mas que corresponde à aplicação de mais dois tratamentos.

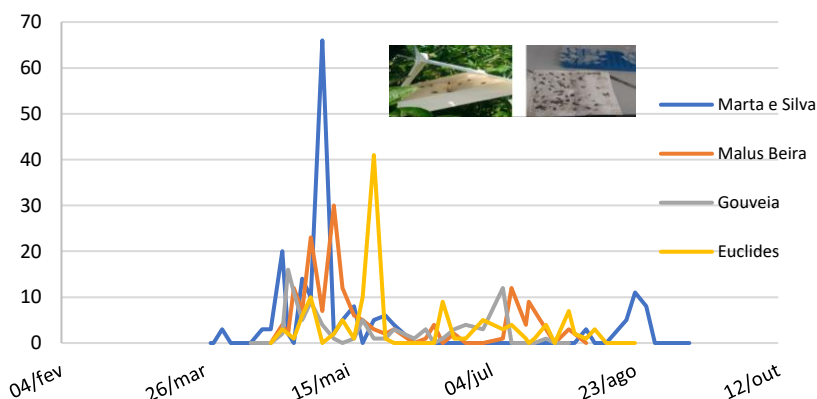


Figura 3 - Curva de voo da *C. pomonella* nos pomares de Armamar, 2019.

No pomar Marta e Silva foi onde se observou maior densidade populacional com mais de 60 capturas/semana em 15 de maio e outro pico bem marcado em 23 de agosto.

No pomar de Euclides a máxima densidade populacional registou-se em finais de maio com 40 capturas/semana, mas com capturas entre junho e agosto.

Relativamente à monitorização dos artrópodes associados à cultura da macieira. No campo de Carrazeda de Ansiães apresentam-se as ordens mais representativas na Figura 4.

A ordem hemiptera são o grupo com maior expressão representando 89% dos artrópodes recolhidos, seguida dos aracnídeos com 6%.

Em 2020 a curva de voo foi bastante irregular e com número de capturas extremamente baixo (Figura 5).

Com efeito o máximo de capturas foi de 12 capturas/semana, observado em 30 de abril no campo de Malus Beirão. Este facto dificultou muito o posicionamento dos tratamentos contra esta praga

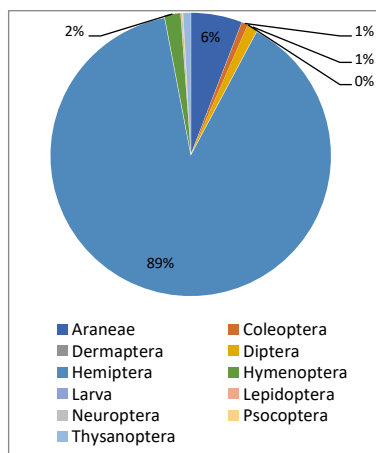


Figura 4- Artrópodes recolhidos num pomar comercial em modo de PI (total = 1 961). Carrazeda de Ansiães, 2019.

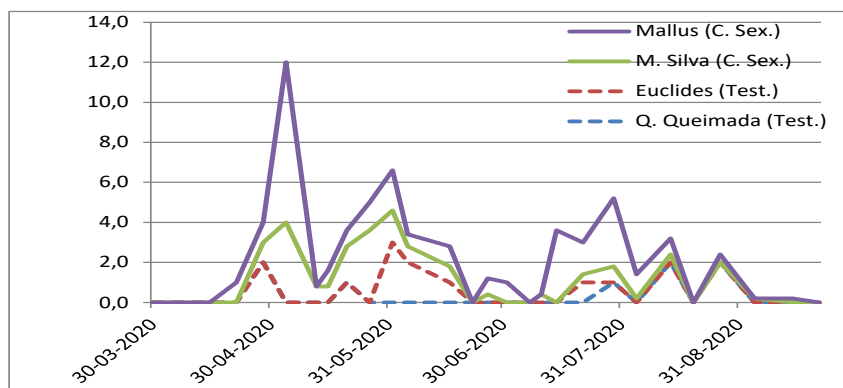


Figura 5- Curva de voo da *C. pomonella*, num pomar em modo de produção integrada e pomar em confusão sexual. Armamar, 2020

A utilização da confusão sexual através de Puffer difusor de feromona sexual complementado com aplicação de um regulador de crescimento à primeira geração e um inseticida larvicida na segunda geração, controlaram medianamente a praga.

Apesar de haver bastantes frutos bichados à colheita, os estragos foram menores do que na modalidade testemunha, que reflete as práticas utilizadas pelos produtores.

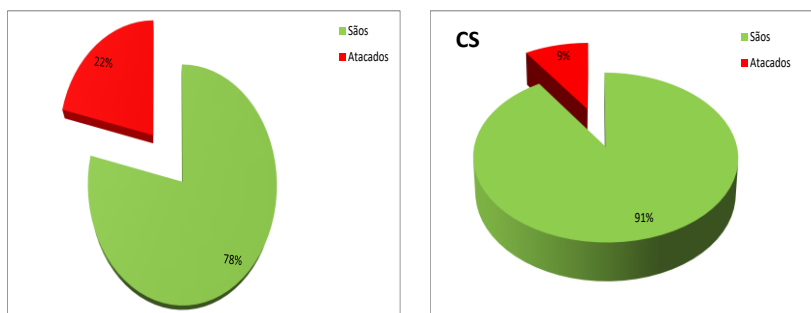


Figura 6 - Percentagem de maçãs atacadas por *C. pomonella* em Carrazeda de Ansiães, 2020. PI - pomar em modo de Produção Integrada; CS - pomar com Confusão Sexual.

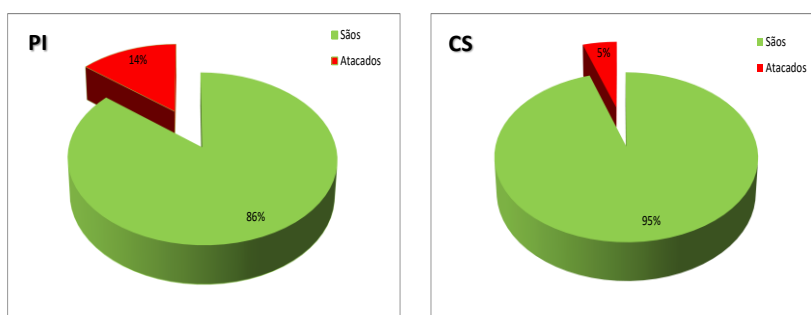


Figura 7 - Percentagem de maçãs atacadas por *C. pomonella*, em Armamar, 2020. PI - pomar e modo de Produção Integrada; CS - pomar com Confusão Sexual.

A monitorização dos artrópodos associados à cultura da macieira foi feita num pomar em modo de PI e também no campo com confusão sexual de Carrazeda de Ansiães. Do campo em confusão sexual para o bichado apresentam-se as ordens mais representativas dos artrópodos presentes na Figura 8.

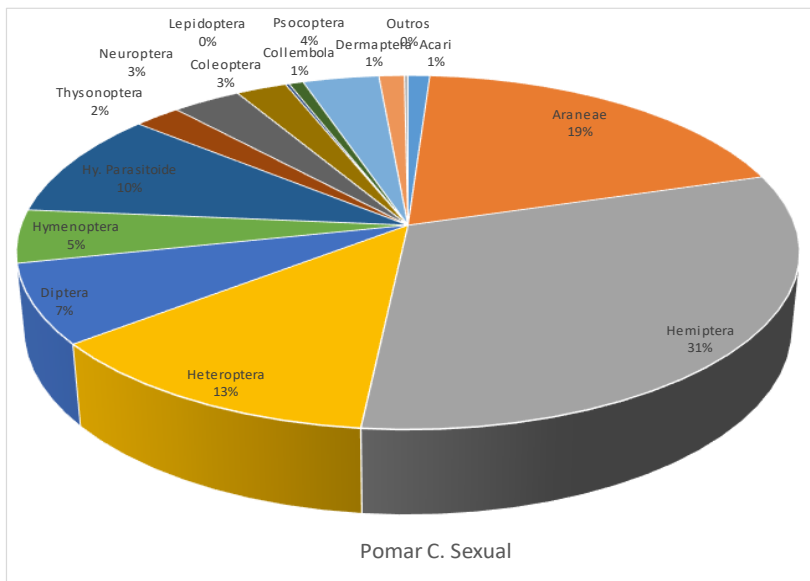


Figura 8 - Artrópodos recolhidos num pomar em confusão sexual (total = 571). Carrazeda de Ansiães, 2020

Aranhizo vermelho e fitoseídeos em 2019

Para o controlo do aranhizo vermelho foram utilizados três acaricidas diferentes: espirodiclofena; etoxazole e milbemectina para controlar a praga e, simultaneamente, testar a sua toxicidade sobre os fitoseídeos, apresentando-se na Figura 9 a população de fitoseídeos de acordo com o acaricida utilizado, e nas Figuras 10 e 11 a população de aranhizo vermelho e fitoseídeos nos dois campos de observação.

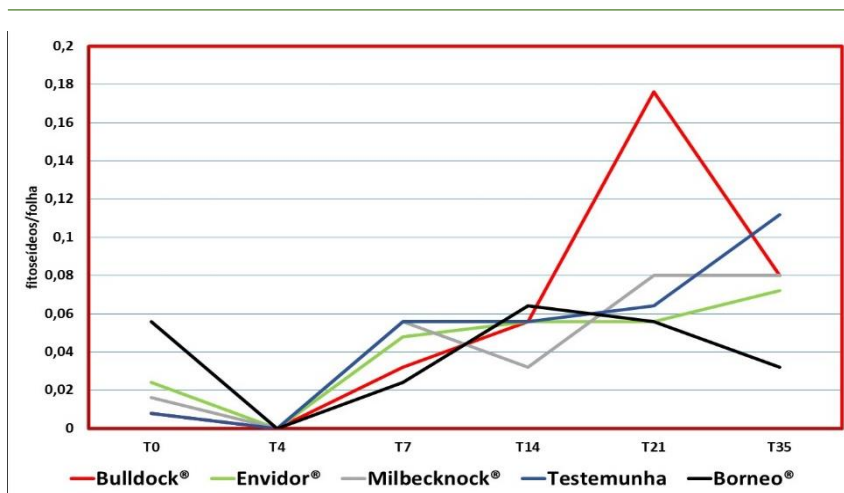


Figura 9 – Evolução da população de fitoseídeos ao longo do ensaio nas diferentes modalidades, campo de Queimada de Gouveia Fonseca, 2019

A beta-ciflutrina foi usada como referência tóxica e a água como testemunha. As populações foram avaliadas antes da aplicação e depois da aplicação, ao longo do tempo até aos 35 dias. Na contagem inicial verificou-se que a média de fitoseídeos por folha é baixa e para se tirarem resultados mais fiáveis deveria ser, pelo menos, de 2 formas móveis por folha.

Em 2020 relativamente à toxicidade sobre os fitoseídeos não foi possível fazer a correta avaliação por não haver densidade populacional suficiente nos campos de ensaio. No entanto, pelas amostragens que foram sendo efectuadas conseguimos avaliar a dinâmica populacional do aranhaço vermelho ao longo do tempo e dos seus principais predadores.

No campo de Queimada a população de aranhaço vermelho mantém-se baixa até 14 de julho ultrapassando 5 formas móveis /folha em 11 de agosto. A população de fitoseídeos manteve-se sempre baixa.

No campo de Santa Cruz, a população de aranhaço vermelho esteve sempre muito baixa, sempre inferior a 1 forma móvel/folha, assim como a população de fitoseídeos.

Os resultados evidenciam a necessidade de monitorização para evitar intervenções desnecessárias.

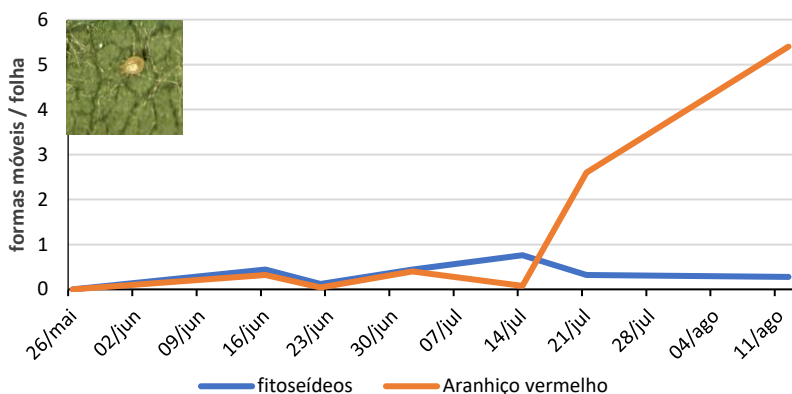


Figura 10 – Dinâmica populacional fitoseídeos/aranhiço vermelho, campo de Queimada de Gouveia Fonseca, ano 2020.

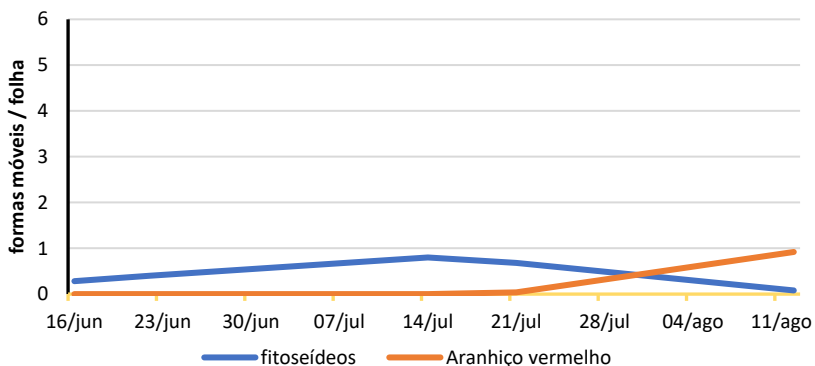


Figura 11 - Dinâmica populacional fitoseídeos/aranhiço vermelho, campo de Santa Cruz, de Frutas Marta & Silva, ano 2020.

Conclusão

Em relação ao pedrado da macieira, no ano 2019 nas testemunhas, sem tratamento, verificaram-se ataques severos da doença, enquanto que nas modalidades em estudo, a doença foi controlada. A modalidade 1 revelou-se a mais económica, a modalidade 2 a mais cara, devido ao preço elevado da quitosana e a modalidade 3, sendo idêntica à 2 sem quitosana, foi económica e com resultados semelhantes. A modalidade praticada pelo agricultor é quase sempre mais cara que as modalidades 1 e 3, tendo sempre um número mais elevado de tratamentos.

No ano 2020, em todas as repetições e modalidades foram observados frutos e folhas com pedrado. Verificou-se uma grande diferença entre as modalidades e a testemunha. O número de frutos com pedrado foi elevado na modalidade testemunha nos diferentes campos de ensaio. Apesar de não haver diferenças acentuadas entre as modalidades conclui-se que em todas elas houve um bom controlo da doença. À semelhança do ano anterior o número de tratamentos nas modalidades de ensaio foi bastante inferior à prática dos agricultores. As modalidades 1 e 3 são mais baratas que a praticada pelo agricultor, sendo a modalidade 3 a que melhor controla o pedrado.

Apesar de só existirem 2 anos de estudo podemos concluir que parece haver um efeito benéfico no uso de indutores de defesas em macieira para o controlo de pedrado.

Para o bichado revelou-se essencial a monitorização do ciclo biológico da praga para o posicionamento adequado dos tratamentos. No ano 2019, em todos os campos, verificou-se que a estratégia adotada levou à ocorrência de maior densidade da praga que na modalidade seguida pelo agricultor. No entanto foram efectuados menos dois tratamentos e os produtos utilizados enquadram-se dentro dos parâmetros da luta biotécnica e luta biológica contra a praga. No ano 2020, a estratégia de confusão sexual coadjuvada com dois tratamentos, um regulador e outro larvicida, revelou-se bastante eficaz como meio principal de controlo do bichado. Foi um ano em que a praga foi de difícil controlo,

tendo-se verificado alguns prejuízos na cultura que foram superiores na modalidade seguida pelo agricultor em relação aos campos de ensaio.

Quanto aos fitoseídeos e o aranhaço vermelho, os resultados devem ser interpretados com reserva uma vez que a densidade populacional dos fitoseídeos era muito baixa (0,11 fitoseídeos/folha). Em 2019, verificou-se que em todas as modalidades, após a aplicação, houve uma redução na população dos fitoseídeos e passado uma semana começaram a recuperar. Dos acaricidas em estudo podemos concluir que a milbectina e a espiroclorfenol apresentaram um perfil toxicológico mais favorável que o etoxazole. Em 2020 nos campos de Gouveia Fonseca e Marta e Silva os níveis de presença de fitoseídeos mantiveram-se entre 0 e 1 formas móveis/folha durante o ciclo.



GO Fortificação de pera Rocha em cálcio



Parceria

FCT-UNL – Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa (**Líder**);

FRUTALVOR – Central Fruteiros, CRL;

HBIO, LDA;

INIAV, I.P. – Instituto de Investigação Agrária e Veterinária, IP;

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

Produtor – António Peralta dos Santos;

RIBAMAIOR – Produção e Comércio de Frutas, LDA.

Palavras-chave: pera Rocha; biofortificação; cálcio; valorização.

Website: https://sites.fct.unl.pt/bio_perarocha_calcio/

Investimento total: 274 227 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO Fortificação de pera Rocha em cálcio

A biofortificação nutricional de alimentos vem constituindo uma opção na União Europeia, que tem justificado a constituição de consórcios internacionais (entre outros a COST Action FA0905 - http://www.cost.eu/COST_Actions/fa/FA0905manual, nos quais os proponentes desta proposta tiveram uma função preponderante no Conselho de Gestão em representação de Portugal.

A Pera Rocha é um produto DOP da Região Oeste de Portugal, cuja comercialização ascende a cerca de 200 milhões de euros, exportando-se cerca de 150 milhões de euros. Contudo, em Portugal, ao contrário do que já sucede com a biofortificação em cálcio da maçã (Projecto desenvolvido pelas instituições FCT/UNL e INIAV e envolvidas nesta proposta – Proder- PA24060/CaPolme - http://redagrotec.iniav.pt/images/Projetos/sistemas_agrarios/PA24059.pdf), a biofortificação agronómica da Pera Rocha ainda não foi implementada. Propõe-se assim a obtenção de Pera Rocha biofortificada, e disseminar informação técnica junto de produtores e indústria transformadora, satisfazendo-se as necessidades de competitividade da cadeia agro-industrial nacional nos mercados internacionais.

Não existindo, em Portugal, Pera Rocha biofortificada em cálcio, mas possuindo indicadores de competitividade elevada consideram-se os seguintes índices / objectivos:

A. Ao nível da produção e conservação:

1. Otimização da produção de Pera Rocha, com elevados índices de comercialização nacional e internacional, para biofortificação em cálcio, considerando a interação entre os diferentes sistemas, nomeadamente as interações entre os tipos de adubação e os momentos de aplicação.

2. Delineamento de um itinerário técnico para a produção de Pera Rocha biofortificada em cálcio destinada ao consumo direto e à transformação industrial.

3. Aferição do efeito dos processos de transformação em Pera Rocha biofortificada em cálcio na composição nutricional, considerando os requisitos envolvendo o sector agro-alimentar, assim como os mercados-alvo, de acordo com os requisitos da Alta Segurança Alimentar e as diretivas da União Europeia para o sector.

B. A nível económico:

1º-No âmbito da produção convencional de Pera Rocha em campos de produção plena, adoptando uma perspectiva minimalista, o valor médio de produção (considerando alguma heterogeneidade no calibre, poderá acender a 25 ton/ha, com um custo de 0,25€/kg, logo 6250 €/ha), sendo 70% da produção para consumo interno e os restantes 30% para exportação (índice médio de comercialização – 0,60 e 1,87€/kg, logo 600 e 1 870 €/ton e 15 000 e 46 750 €/ha respectivamente).

2º-No âmbito da biofortificação da Pera Rocha, também adoptando uma perspectiva maximalista estima-se um consumo adicional de 100 €/kg na aquisição de fertilizantes e uma mais-valia económica acrescida em 5-10 cêntimos por kg (assim, face a um custo de produção média de 6 350 €/ha, estima-se uma comercialização no mercado nacional de 0,65-0,70 €/kg de Pera Rocha biofortificada (logo 650-700 €/ton - 16 250- 17 500 €/ha) e 1,92-1,97€/kg no plano internacional (logo 1 920-1 970 €/ton -48 000- 49 250 €/ha).

3º-Em conclusão com a produção de Pera Rocha biofortificada em cálcio, o objectivo deste projecto será a criação de um produto inovador, sem factores concorrenciais a nível nacional / internacional e com um acréscimo de rentabilidade média que em relação à comercialização actual corresponde, no plano nacional e internacional, seguindo uma perspectiva minimalista, a 8-16% e 2,5-5,2%, respectivamente.

Equipa do GO Fortificação de pera Rocha em cálcio

Entidades	Pessoas
FCT-UNL	Cláudia Pessoa
	José António Almeida
	José António Oliveira
	José Kullberg
	Fernando Reboredo
	Fernando Lidon ¹
	Maria da Graça Brito
	Maria Fernanda Pessoa
	Maria Manuela Abreu da Silva ²
	Maria Manuela Ribeiro
	Nuno Leal
	Paulo Legoinha
	Sofia Verónica Barbosa
António Peralta dos Santos	António Peralta dos Santos
FRUTALVOR	Carla Simões
HBIO, LDA	José Henriques
INIAV, I.P.	Ana Paula Vasilenko
	Elsa Gonçalves
	Isabel Pais
	José Manuel Semedo
	Maria Paula Coelho
	Mário Santos
	Nuno Alvarenga
	Paula Afonso
	Paulo Gaspar
ISA	Ana Isabel Barros
	Ana Dias Rodrigues
	António Eduardo Leitão
	José Domingos Ramalho
	Maria José Silva
RIBAMAIOR	Maria Edite Peralta
Colaboração na FCT-UNL	Ana Marques (Colaboradora)
	Ana Rita Coelho (Colaboradora)
	Diana Daccak (Colaboradora)
	Inês Luís (Colaboradora)

¹Líder FCT-UNL; ²Membro do GeoBioTec, com afiliação em ESEAG-COFAC, Lisboa.

GO - Fortificação de Pera Rocha em Cálcio – Aplicação e monitorização de um itinerário técnico de fortificação agronómica de pera Rocha em cálcio.

Cláudia Campos Pessoa^{1,2*}, José C. Ramalho^{2,3,4*}, Ana Rita F. Coelho^{1,2}, Diana Daccak^{1,2}, Inês Carmo Luís^{1,2}, Ana Coelho Marques^{1,2}, Paula Scotti Campos^{2,5}, Isabel P. Pais^{2,5}, José N. Semedo^{2,5}, Nuno Alvarenga^{2,5}, Elsa M. Gonçalves^{2,5}, Mauro Guerra^{2,6}, Roberta G. Leitão⁶, Maria Manuela Silva^{2,7}, José Carlos Kullberg^{1,2}, Maria Graça Brito^{1,2}, Paulo Legoinha^{1,2}, Manuela Simões^{1,2}, Fernando H. Reboredo^{1,2}, Maria Fernanda Pessoa^{1,2} e Fernando C. Lidon^{1,2}

¹ FCT-UNL – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Departamento de Ciências da Terra, Campus da Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal

² Centro de Investigação GeoBioTec, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Campus da Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal.

³ ISA - Instituto Superior Agronomia, Universidade de Lisboa (ULisboa), Avenida da República, Quinta do Marquês, 2784-505 Oeiras, Portugal.

⁴ PlantStress & Biodiversity Lab, Centro de Estudos Florestais (CEF), Instituto Superior Agronomia (ISA), Universidade de Lisboa (ULisboa), Avenida da República, Quinta do Marquês, 2784-505 Oeiras, Portugal.

⁵ INIAV, I.P. – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Avenida da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal.

⁶ LIBPhys-UNL, Departamento de Física, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Campus da Caparica, 2829-516 Caparica, Portugal.

⁷ ESEAG-COFAC, Avenida do Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal.

*Email: c.pessoa@campus.fct.unl.pt; cochichor@isa.ulisboa.pt.

Resumo

O cálcio é um nutriente fundamental no organismo, podendo a sua deficiência estar relacionado com o desenvolvimento de patologias como a osteoporose. Por outro lado, a indústria alimentar deverá garantir a quantidade e qualidade de produtos alimentares comercializados, especialmente quando equacionando um aumento da população mundial no futuro.

Assim, este projecto teve como principal objectivo aprimorar um itinerário técnico de fortificação agronómica de pera Rocha em cálcio. Para tal, procedeu-se à instalação de ensaios de campo em dois pomares localizados na zona Oeste. Entre maio e agosto foram aplicadas 7 aplicações foliares, utilizando-se inicialmente três concentrações distintas ($0,1 - 1,6 \text{ kg ha}^{-1}$) de nitrato de cálcio ou cloreto de cálcio, transicionando-se posteriormente para o uso exclusivo de cloreto de cálcio ($4 - 8 \text{ kg ha}^{-1}$). Durante o ciclo de produção, utilizaram-se drones para efectuar o mapeamento dos campos de ensaio, efectuando-se paralelamente a monitorização do mecanismo fotossintético das pereiras com recurso a um analisador portátil de gás por infravermelhos. Procedeu-se ainda ao acompanhamento do desenvolvimento morfológico dos frutos, e a respectiva caracterização à colheita, utilizaram-se técnicas de fluorescência de raios-X, para quantificação e determinação da acumulação tecidual de cálcio nos frutos. Após processamento das polpas, efectuou-se ainda sua caracterização sensorial e físico-química.

Os indicadores relacionados com o mecanismo fotossintético das pereiras não atingiram níveis de toxicidade, e os aspectos morfológicos dos frutos não foram afectados. As concentrações utilizadas permitiram aumentos de cálcio de $1,21 - 1,67$ vezes, nomeadamente nas zonas da periferia e interior dos frutos. Após o processamento dos frutos, destaca-se a ausência de diferenças entre a amostra biofortificada e o controlo, em concordância com a análise sensorial.

Palavras-chave: cálcio; fortificação agronómica; pera Rocha; processamento alimentar; quantificação mineral por fluorescência de raios-X; parâmetros de fotossíntese.

Abstract

Calcium is an essential nutrient in the human body, being its deficiency related to the development of pathologies such as osteoporosis. On the

other hand, the food industry will have to focus on ways to guarantee the quantity and quality of marketed food products, especially when considering an increase in the world population in the future.

In this context, the main aim of this project was the build up of a workflow for the agronomic fortification of Rocha pear in calcium. Therefore, field trials were installed in two orchards located of the Portuguese West region. Between May and August, 7 foliar sprays were applied, using initially three different concentrations ($0.1 - 1.6 \text{ kg ha}^{-1}$) of calcium nitrate or calcium chloride, subsequently transitioning to the exclusive use of calcium chloride ($4 - 8 \text{ kg ha}^{-1}$). During the pear trees production cycle, UAV's were used to map the land, and a portable infrared gas analyzer was used to monitor the photosynthetic mechanism of the pear trees. Simultaneously, the morphological development of the fruits was monitored, and X-ray fluorescence techniques were used at harvest to quantify and determine the tissue accumulation of calcium in the fruits. After processing the pulps, their sensory and physical-chemical characterization was carried out. The indicators related to the photosynthetic mechanism of pear trees did not reach the threshold of toxicity, and the morphological aspects of the fruits were not affected. The concentrations used allowed calcium increases of $1.21 - 1.67$ times, namely in the periphery and interior areas of the fruit. After fruit processing, it was further found that there was no difference between the biofortified sample and the control, in agreement with the sensory analysis.

Keywords: agronomic fortification; calcium; food processing; mineral quantification by X-ray analysis; photosynthesis parameters; Rocha pear.

Introdução

O cálcio (Ca) é o mineral mais abundante no corpo humano, predominando nos ossos e dentes (IOM, 2011). Ainda assim, o défice de

Ca pode promover patologias como a osteoporose, raquitismo, hipertensão e deformação óssea infantil (IOM, 2011; EFSA, 2015). Para ultrapassar o défice em Ca (uma vez que a ingestão média diária deste nutriente pode variar entre 700 mg – 1300 mg, dependendo da idade, e no caso das mulheres, se estas se encontram numa fase de gravidez ou amamentação (NIH, 2021), os itinerários agronómicos de biofortificação podem ser adoptados como estratégias para potencializar o teor de minerais em produtos alimentares vegetais. No entanto, a acumulação de Ca nas partes comestíveis de produtos vegetais varia de forma acentuada (Dayod et al., 2010), estando dependentes da sua presença em formas assimiláveis (referenciando as suas taxas de solubilização) pelas raízes das plantas (face ao tipo e composição do solo), e das concentrações pulverizadas nas folhas e respectivos tempos de aplicação durante o ciclo de produção das plantas.

O Ca é o terceiro nutriente usualmente com maior disponibilidade no solo (Kabata-Pendias, 2011; D'Imperio et al., 2016). A absorção de iões solúveis (Ca^{2+}) prevalece nas regiões meristemáticas das extremidades das raízes (Bonomelli & Ruiz, 2010) e atua nos diferentes órgãos das plantas como um agente de transdução de sinal (Wei et al., 2017), promovendo a integridade das paredes celulares (Hocking et al., 2016). Adicionalmente, é um cofactor de algumas enzimas de ATP e do catabolismo de fosfolípidos e intervêm como mensageiro secundário nos processos de regulação do metabolismo (Taiz & Zeiger, 2002). Se as formas assimiláveis de Ca no solo forem limitadas, podem surgir sintomas de défice nas plantas, ocorrendo necrose das regiões meristemáticas jovens presentes em folhas novas ou nas extremidades das raízes. Além disso a alteração dos teores de Ca também pode promover a deformação em folhas mais recentes e afetar o desenvolvimento dos diferentes tecidos dos frutos (Taiz & Zeiger, 2002). Estes efeitos estão fortemente associados a baixas taxas de mobilização de Ca a partir de tecidos mais velhos, distribuição através da seiva circulante no floema e da sua captação via xilema de forma

unidireccional, decorrente do fluxo de transpiração (White & Broadley, 2003; Dayod et al., 2010).

Quando a absorção de elementos inorgânicos pela da raiz for limitada, ou caso existam objectivos agronómicos para aumentar a quantidade de um determinado nutriente na parte edível de alimentos vegetais, a aplicação foliar pode tornar-se uma alternativa. Aponte-se, contudo, que o processo de biofortificação agronómica em Ca apresenta uma baixa mobilidade em plantas (Dayod et al., 2010).

Verificou-se que em peras provenientes de árvores, em que as folhas foram pulverizadas com CaCl_2 após plena floração, com 2 - 5 kg CaCl_2 ha^{-1} , e antes da colheita a uma taxa de 20 ou 25 kg ha^{-1} , ocorreu um aumento das concentrações de Ca (respectivamente, 796 e 803 mg kg^{-1} de peso seco), após um e dois anos, relativamente ao controlo com 587 e 601 mg kg^{-1} de peso seco (Wójcik et al., 2014). Para compreender o efeito do CaCl_2 na patologia “hard end pear”, Wang et al. (2018) pulverizou com 2% de CaCl_2 os frutos ao fim de 30, 45 e 75 dias após a antese, verificando que o conteúdo de Ca nos mesmos, inibiu o respectivo endurecimento, de acordo com um mecanismo associado ao bloqueio da síntese de lignina. Noutros vegetais, tais como o manjeriço, mizuna, tatsoi e endívia, verificou-se que após a aplicação de duas soluções de Ca (100 e 200 mg L^{-1}), a acumulação deste nutriente também aumentou nestas plantas, sem afetar o seu crescimento (D’Imperio et al., 2016). Wei et al. (2017) constatou ainda que a pulverização de Ca inibiu o amadurecimento de peras armazenadas em câmaras de frio e aumentou o conteúdo de substâncias aromáticas voláteis. Chen et al. (2010), após a colheita, dividiu um ensaio de morangos em três grupos, sendo os mesmos submetidos a uma solução de 10 L de CaCl_2 (nas concentrações de 0%, 1% e 4%) durante 15 minutos. Posteriormente, os morangos foram armazenados a 4 °C por 15 dias e constatando-se que os tratamentos com CaCl_2 retardaram alterações nas propriedades físico-químicas e degradação de pectinas. Bonomelli & Ruiz (2010) observaram ainda

que a aplicação de CaCl_2 em uvas tornou os frutos maiores, mais turgentes, com menos matéria seca e células maiores.

A pera Rocha (*Pyrus communis* L., cv. Rocha) é oriunda de Sintra (Portugal), tendo sido descoberta em meados do século XIX. Actualmente é produzida maioritariamente na região Oeste de Portugal, dispondo de cerca de 11 300 ha (INE, 2021), para uma produção média de cerca de 170 000 t (ANP, 2021), sendo em grande parte exportada para países como o Brasil, França, Reino Unido e Rússia (Silva et al., 2010). Considerando a crescente importância desta cultivar em todo o mundo, e sendo poucos os estudos de biofortificação com Ca nesta cultivar, este projeto teve por objectivo desenvolver um itinerário agronómico para o enriquecimento deste mineral e caracterizar a sua acumulação nos tecidos da pera Rocha, atentando ainda às respectivas implicações físico-químicas em frutas frescas tratadas termicamente. Neste enquadramento, apresentam-se alguns resultados obtidos, assumindo como referencial o delineamento tecnológico adoptado em 2018, que no decurso dos dois anos subsequentes vieram a ser confirmados.

Materiais e métodos

Itinerário de biofortificação agronómico e instalação do ensaio de campo

Em dois pomares de pera Rocha localizados na região Oeste de Portugal (concelho das Caldas da Rainha e Alcobaça), efectuaram-se um total de 7 pulverizações foliares com diferentes concentrações de cloreto de cálcio (CaCl_2) e nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Seleccionaram-se três linhas de pereiras, sendo uma delas denominada de controlo (na qual não ocorreu qualquer tipo de aplicação foliar - 0 kg ha^{-1}). Deixando uma linha de intervalo, a fim de evitar contaminações, seleccionou-se uma linha paralela onde se procedeu à aplicações de nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) com três concentrações distintas ($0,1$; $0,3$; e $0,6 \text{ kg ha}^{-1}$), aplicadas em 4 árvores por concentração (totalizando

12 árvores por cada produto), deixando uma árvore de intervalo entre concentrações. O mesmo esquema foi aplicado numa linha paralela, porém utilizando-se cloreto de cálcio (CaCl_2) (0,4; 0,8 e 1,6 kg ha^{-1}). O esquema de um dos campos é apresentado na Figura 1.

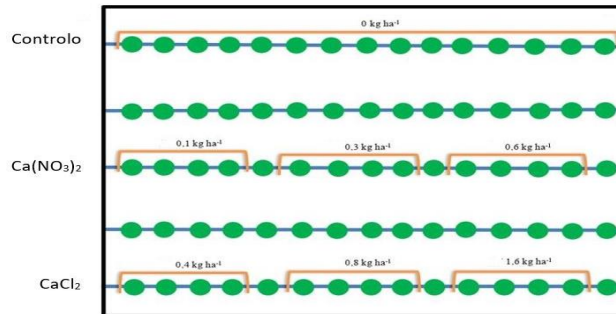


Figura 1 – Esquema da instalação do ensaio de campo no pomar das Caldas da Rainha.

O itinerário de biofortificação com as respectivas concentrações aplicadas encontra-se sistematizado no Quadro 1.

Quadro 1 – Produtos e respectivas concentrações aplicadas nos dois pomares em 2018.

Fase	Nº Aplicações Foliares	Tratamentos e Concentrações	
1ª	1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	CaCl_2
	2	0,1; 0,3; 0,6 kg ha^{-1}	0,4; 0,8; 1,6 kg ha^{-1}
2ª	3	4 kg ha^{-1} CaCl_2	
3ª	4		
	5		
	6	8 kg ha^{-1} CaCl_2	
	7		

Numa primeira fase, compreendida entre o vingamento e os frutos atingirem os 30 mm, efetuam-se duas aplicações com CaCl_2 ou $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, totalizando 6 concentrações distintas. A segunda fase

consistiu numa única aplicação com CaCl_2 a 4 kg ha^{-1} , em todas as pereiras previamente pulverizadas (24 árvores), exceptuando unicamente o controlo. Na terceira fase a concentração de CaCl_2 duplicou para 8 kg ha^{-1} no decorrer das restantes 4 pulverizações. As pulverizações (espaçadas cerca de 15 dias entre si) decorreram entre maio e agosto de 2018, tendo a colheita sido efectuada em inícios de setembro.

Nos pomares, nenhuma prática agrícola usual foi limitada (nomeadamente a aplicação de fitofármacos, adubos/fertilizantes, rega) porém, no final do ciclo de produção, foram solicitados registos contendo todos os produtos e respectivas datas de aplicação para definição de potenciais interacções.

Monitorização do pomar

Em ambos os terrenos, delimitou-se uma parcela com cerca de 500 m^2 (Figura 2).

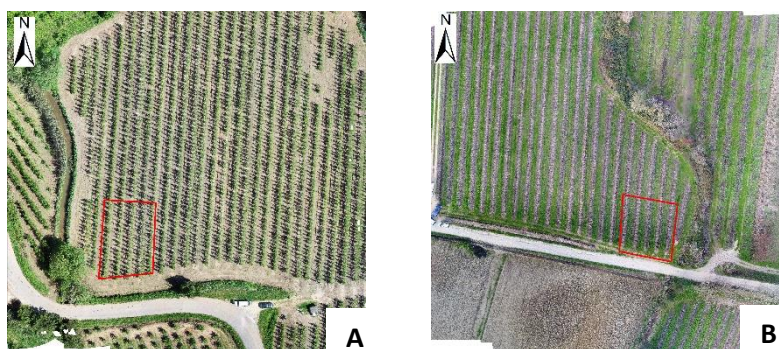


Figura 2 – Vista aérea e delimitação do ensaio de campo (vermelho); **A** - pomar das Caldas da Rainha; **B** – pomar de Alcobaça (adaptado de Pessoa et al. (2021)).

Durante o ciclo de produção das pereiras, utilizaram-se veículos aéreos não tripulados (drones) com duas câmaras multiespectrais distintas acopladas. Estas visaram a recolhas de imagens aéreas dos pomares

onde decorreram os ensaios, na banda do visível (RGB) e nas bandas RedEdge NIR. Foi possível a criação de ortofotomapas e respetivos modelos de altimetria dos terrenos, com recurso ao *softwar Agisoft*.

Tratando-se de um ensaio de campo, as condições meteorológicas associadas ao ciclo de produção de pera Rocha, de janeiro de 2018 a dezembro do mesmo ano, foram registadas por uma estação meteorológica (Base Aérea de Monte Real) (Figura 3, 4). Entre meados de maio e início de setembro, a temperatura média máxima foi de 23 °C e a média mínima de 15 °C. Valores máximos de 41 °C e mínimos de 6 °C foram atingidos. Segundo os boletins climatológicos sazonais referentes à Primavera e Verão de 2018 do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, 2018; IPMA, 2018a), para o período de Primavera reportaram-se valores da temperatura média do ar inferiores ao normal. Para o Verão, o mês de julho foi o mais frio desde 2000, e o mês de agosto foi o 2º mais quente dos últimos 88 anos (depois de 2003), sendo o dia 4 de agosto o dia mais quente do século XXI.

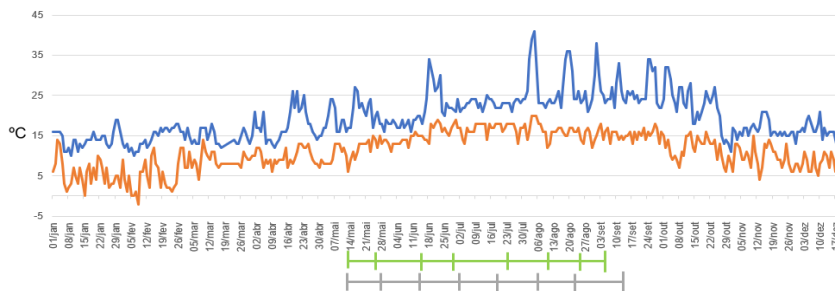


Figura 3 - Temperaturas máxima (azul) e mínima (laranja) diárias registadas durante o ano de 2018 na estação meteorológica (Base Aérea de Monte Real). A verde e cinzento assinalam-se os dias de aplicação dos tratamentos e colheitas nos campos experimentais das Caldas da Rainha e Alcobaça respetivamente.

Relativamente à precipitação (Figura 4), no decorrer do ensaio experimental, a média registada foi de 0,41 mm, com um máximo diário de 18,03 mm. Tendo o itinerário iniciado em maio, o boletim

climatológico sazonal (IPMA, 2018; Figura 4) indica que a quantidade de precipitação ocorrida nos meses de março a maio foi 429 mm, correspondendo a cerca de 200% do valor médio (*i.e.*, a 3ª Primavera mais chuvosa desde 1931). A nível nacional o mês de junho foi o 2º mês de junho mais chuvoso desde 2000 (IPMA, 2018a).

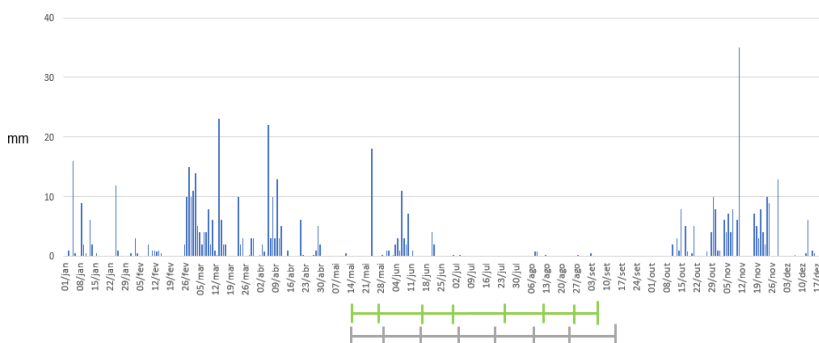


Figura 4 – Precipitação acumulada diária registada durante o ano de 2018 na estação meteorológica (Base Aérea de Monte Real). A verde e cinzento assinalam-se os dias de aplicação dos tratamentos e colheitas nos campos experimentais das Caldas da Rainha e Alcobça respetivamente.

O metabolismo fotossintético é responsável por toda a produção de biomassa das plantas, sendo por isso fundamental para a produtividade de qualquer cultura. Neste enquadramento, o pomar localizado nas Caldas da Rainha foi utilizado como sistema modelo, para monitorizar a resposta das pereiras perante as diferentes aplicações foliares com cálcio. As análises das trocas gasosas foliares realizaram-se com recurso a um analisador portátil de gás por infravermelhos – LiCor 6400, *LiCor, Lincoln, USA*, tal como descrito em Rodrigues et al. (2016) e Marques et al. (2021). Realizaram-se três momentos de análise (em meados de junho, julho e setembro de 2018), que permitiram o registo de parâmetros como: taxa da fotossíntese líquida (P_n), condutância estomática (g_s) e eficiência instantânea do uso da água ($iWUE$).

Complementarmente, foi monitorizada a morfologia dos frutos de ambos os pomares (i.e., altura e calibre) 5 vezes entre julho e setembro de 2018, após a 2ª, 3ª, 4ª e 5ª aplicação foliar e à colheita. Para tal foram seleccionados aleatoriamente 8 a 12 frutos de cada tratamento.

Quantificação e localização de cálcio nos frutos e aferição dos parâmetros de qualidade à colheita

A quantificação de Ca nos frutos foi efectuada sem extracção prévia dos elementos minerais, recorrendo à análise de fluorescência por aplicação de raios-X, utilizando-se um analisador de raios-X (*Niton Thermal Scientific*, modelo XL3t 950 He GOLDD+) tal como descrito em Luís et al. (2021), com adaptações para fruta. Para tal, após selecção aleatória de quatro frutos por tratamento procedeu-se à sua limpeza com água, corte e respectiva secagem em estufa a 60 °C seguindo-se uma moagem e leitura em atmosfera de hélio.

Procedeu-se complementarmente à determinação dos locais de acumulação de Ca nos diferentes tecidos do fruto. Utilizou-se um sistema fluorescência de dispersão de raios-X de micro-energia (μ -EDXRF) (M4 Tornado™, Bruker, Alemanha), como referido em Luís et al. (2021) com algumas modificações. Realizaram-se cortes na zona equatorial das peras obtendo-se fatias que em seguida foram colocadas a secar em estufa a 60 °C. Aquando da análise (9 leituras por tratamento), definiram-se 5 regiões na zona equatorial do fruto de cada tratamento (Figura 5), sendo a 1ª localizada na epiderme e a 5ª na região central do fruto.



Figura 5 - Identificação das 5 regiões da zona equatorial do fruto (1ª localizada na epiderme e a 5ª na região central), onde foram efectuadas as determinações de Ca e exemplar das amostras enviadas para análise.

Análise físicas, químicas e organoléptica de polpas de peras

Para monitorização das características físicas, químicas e sensoriais das polpas de pera após tratamento térmico, seleccionaram-se frutos controlo e 1,6CCa (sujeitos desde início à concentração mais elevadas de CaCl_2 - $1,6 \text{ kg ha}^{-1}$) proveniente do pomar das Caldas da Rainha (à colheita).

Procedeu-se à lavagem e descasque, sendo submetidas a tratamento térmico (a uma temperatura de 90°C durante 10 min, num sistema termolix), após adição de 1,5% de sumo de limão (Figura 6). Posteriormente e em triplicados, estas foram transferidas para recipientes devidamente higienizados e em banho-maria.



Figura 6 – Tratamento térmico das polpas de pera Rocha.

As propriedades reológicas como o índice de consistência (k , Pa.s^n) foi determinado com base nos valores de viscosidade aparente das polpas (três medições por amostra). Para esta medição utilizou-se um viscosímetro (Brookfield, modelo RVT), de acordo com o procedimento de Figueiredo (2012). Os valores do viscosímetro foram transformados em medidas reológicas (velocidade de deformação (s^{-1}) e viscosidade aparente (Pa.s)) para elaboração das curvas de fluência. A partir da lei da potência obtiveram-se os valores de índice de consistência (k) e índice de escoamento (n).

Os parâmetros colorimétricos foram determinados com o colorímetro Minolta CR 300 (Osaka, Japão) tal como descrito em Figueiredo (2012). A coordenada L traduz a luminosidade da amostra (variando entre 0 (preto) e 100 (branco)). As coordenadas a^* e b^* , traduzem variações de cor entre vermelho (+60) e verde (-60) e amarelo (+60) e azul (-60) respetivamente. A aproximação das coordenadas a zero traduz cores neutras (branco, o cinzento e o preto). O pH e o teor de sólidos solúveis foram determinados

com um potenciómetro Crison Micro pH 2001 (*Crison instrumentos*, Espanha), e com um refractómetro (DR-A1, ATAGO Co Ltd., Japão) respetivamente, como indicado em Figueiredo, 2012.

A análise sensorial realizou-se segundo a NP 4258:1993 (ISO 8589:1988). Utilizou-se um painel de 19 provadores semi-treinados e dispostos em cabines individuais. Após fornecimento das amostras, foi solicitado a classificação com base numa escala hedónica de 1 (Desgostei muito) a 5 (Gostei muito) dos seguintes atributos: aparência, cor, consistência, aroma/sabor e apreciação global

Resultados e Discussão

Monitorização do pomar

Através da análise dos parâmetros das trocas gasosas do pomar das Caldas da Rainha, constatou-se que relativamente a P_n (Figura 7), com o aumento das concentrações de CaCl_2 , ocorreu um decréscimo relativamente pequeno, mas persistente (até 18%) deste parâmetro, em qualquer uma das datas estudadas (após a 3ª, 5ª e 7ª aplicações). Por outro lado, a pulverização com $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ promoveu um padrão de variação distinto ao de CaCl_2 , observando-se um aumento marginal, nulo, ou um decréscimo de P_n após as 3ª, 5ª e 7ª aplicações. Tal sugere um efeito cumulativo do produto (nomeadamente em 0,6Nca após a 7ª aplicação). Apesar destes padrões distintos, apenas após a 3ª aplicação se registaram diferenças significativas entre os valores de P_n desses tratamentos. Assim, as variações não diferiram entre as doses aplicadas, excepto no caso mencionado após a 7ª aplicação.

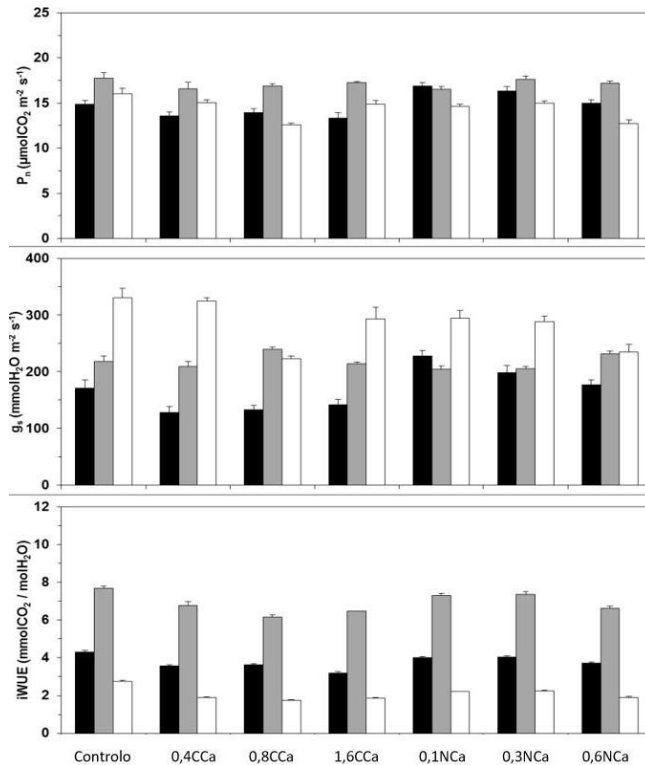


Figura 7 – Variação das taxas da fotossíntese líquida (P_n), condutância estomática (g_s), e eficiência instantânea do uso da água ($i\text{WUE} = P_n/E$), em pereiras cv. Rocha, do pomar das Caldas da Rainha. Determinações efectuadas em meados de junho, julho e setembro de 2018, após a 3ª (preto), 5ª (cinzento) e 7ª (branco - à colheita) aplicações foliares. 0,1Nca, 0,3Nca, 0,6Nca correspondem, respectivamente, à aplicação inicial de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,1, 0,3 e 0,6 kg ha^{-1}) enquanto 0,4CCa, 0,8CCa, e 1,6CCa, correspondem, respectivamente à aplicação inicial de CaCl_2 (0,4, 0,8 e 1,6 kg ha^{-1}).

Na Figura 7 pode observar-se que a g_s variou significativamente nas plantas controlo, aumentando da primeira para a última determinação. Salvo raras excepções, a aplicação de CaCl_2 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ não alterou o padrão de variação. Contudo, a aplicação de CaCl_2 atenuou o aumento de g_s , o que aliado à variação negativa de P_n , levou ao decréscimo de $i\text{WUE}$ (no máximo

27% até à 5ª aplicação e 36% após a 7ª aplicação) (Figura 7). Decréscimos ocorreram de forma mais ténue com a aplicação de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, no início (no máximo 14% até à 5ª aplicação), sendo mais acentuada após a 7ª aplicação, com destaque para a concentração mais elevada (reportando um decréscimo de 32%).

Complementarmente, as concentrações de CaCl_2 utilizadas no decorrer do itinerário não excederam os 8 kg ha^{-1} , pelo que se verificou que não ocorreram danos nas folhas (tais como os mencionados por Wójcik et al. (2014)), nem ocorreram alterações significativas na mobilização de fotoassimilados ao longo do ciclo produtivo (aspecto que poderia condicionar a produtividade e a qualidade da fruta).

Neste enquadramento, nos dois pomares do ensaio, ao longo dos diferentes estados fenológicos dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos (Figura 8), relativamente ao controlo, não se detectaram variações significativas na altura (excepto em junho, em três tratamentos 0,4CCa, 0,8CCa e 1,6CCa no campo das Caldas da Rainha; e em junho e julho, nos tratamentos 0,3NCa e 0,6NCa, no campo de Alcobaça) e diâmetro dos frutos. À colheita, a altura dos frutos oscilou entre 72 - 84 mm e 80 - 94 mm, tendo o calibre oscilado entre 61 – 70 mm e 61 – 71 mm para o pomar das Caldas da Rainha e Alcobaça respetivamente.

Equacionando a acumulação de cálcio nos tecidos, constatou-se assim que no decorrer do ciclo de produção, as diferentes concentrações deste macronutriente secundário, aplicadas por via foliar, não afectaram o desenvolvimento morfológico dos frutos ao longo dos diferentes estados fenológicos do pomar. Complementarmente, estes parâmetros morfológicos são utilizados não só para caracterizar a forma do fruto, mas no caso do calibre é equacionado como elemento diferenciador de preço aquando da venda ao consumidor. Aponte-se ainda que sendo o calibre médio da pera Rocha de 55 – 65 mm (ANP, 2021), nenhum dos tratamentos afetou a morfologia e respectiva

comercialização dos frutos, obtendo-se valores ligeiramente superiores ou enquadrados no intervalo mencionado.

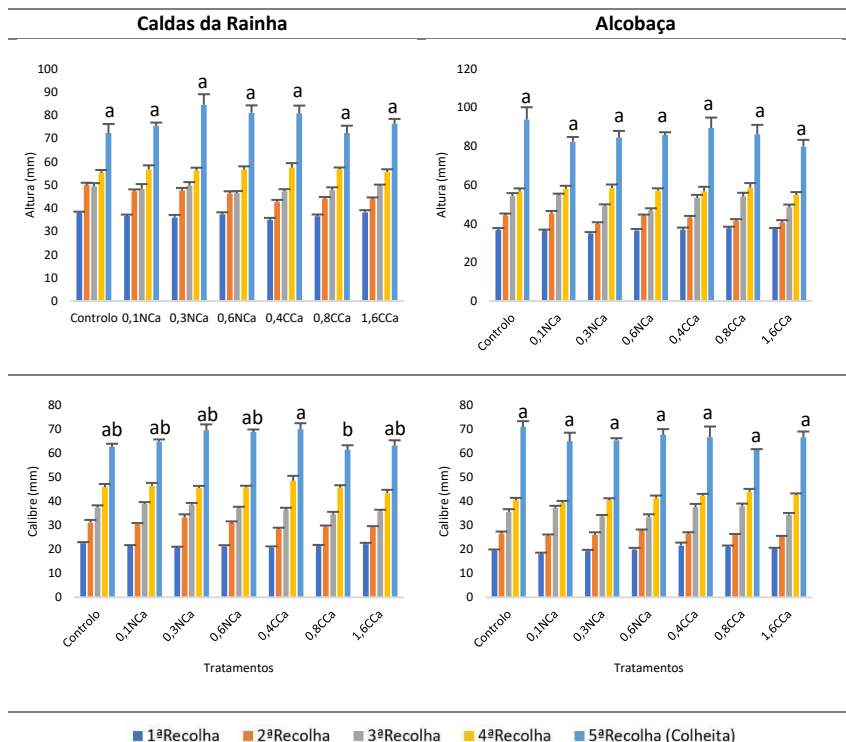


Figura 8 - Média e erro padrão da altura e calibre de frutos de pera Rocha dos pomares das Caldas da Rainha (azul) e Alcobaça (laranja) em 8 e 15 de Junho, 10 e 20 de Julho (após a 2ª, 3ª, 4ª e 5ª aplicação foliar) e à colheita em Setembro de 2018. As letras a, b indicam diferenças significativas de cada parâmetro entre os tratamentos à colheita (análise estatística com recurso à aplicação de teste ANOVA de factor único, $P \leq 0,05$). 0,1Nca, 0,3Nca, 0,6Nca correspondem, respectivamente, à aplicação inicial de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,1, 0,3 e 0,6 kg ha^{-1}) enquanto 0,4CCa, 0,8CCa, e 1,6CCa, correspondem, respectivamente à aplicação inicial de CaCl_2 (0,4, 0,8 e 1,6 kg ha^{-1}).

Quantificação e localização de cálcio nos frutos e aferição dos parâmetros de qualidade à colheita

Os valores de Ca nos frutos provenientes do campo localizado nas Caldas da Rainha à colheita (Figura 9), evidenciaram um controlo significativamente inferior com os restantes tratamentos a apresentarem aumentos de 1,33 – 1,67 vezes. No geral o campo das Caldas da Rainha apresentou valores de Ca inferiores ao campo de Alcobaça. Neste último, três tratamentos (0,3NCa, 0,8CCa e 1,6CCa) foram significativamente superiores ao controlo, atingindo aumentos de 1,21 – 1,57 vezes.

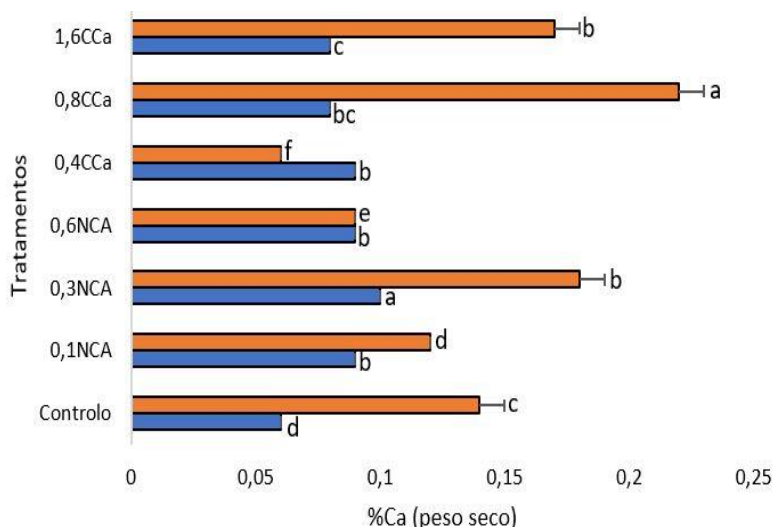


Figura 9 – Teor médio de Ca em frutos de pera Rocha à colheita, do pomar das Caldas da Rainha (azul) e Alcobaça (laranja). As letras a, b, c, d, e, f indicam diferenças significativas entre os tratamentos de cada campo (análise estatística com recurso à aplicação de teste ANOVA de factor único, $P \leq 0,05$). 0,1NCA, 0,3NCA, 0,6NCA correspondem, respectivamente, à aplicação inicial de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,1, 0,3 e 0,6 kg ha^{-1}) enquanto 0,4CCa, 0,8CCa, e 1,6CCa, correspondem, respectivamente à aplicação inicial de CaCl_2 (0,4, 0,8 e 1,6 kg ha^{-1}).

Porém, para ambos os pomares, constatou-se uma distribuição heterogénea de Ca na região equatorial dos frutos (Figura 10), com os tratamentos a apresentarem valores superiores na zona central (5) e nos tecidos perto da epiderme (1). À semelhança da análise anterior, para as duas zonas mencionadas, o campo de Alcobaça apresentou valores de Ca superiores.

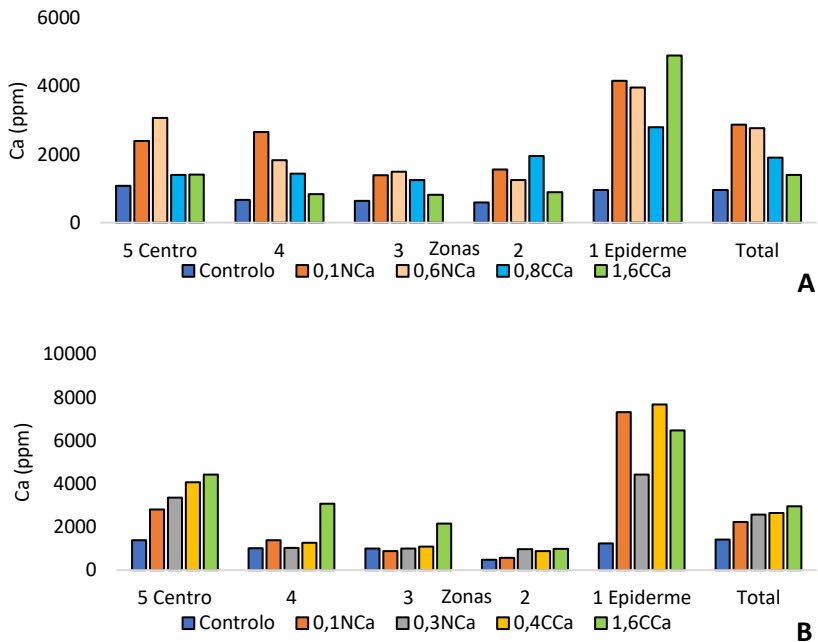


Figura 10 – Teor médio de Ca total ou considerando 5 zonas (da epiderme (1) até ao centro (5)) em frutos de pera Rocha provenientes do pomar de Caldas da Rainha (A) e Alcobaça (B) à colheita. 0,1Nca, 0,3Nca, 0,6Nca correspondem, respectivamente, à aplicação inicial de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,1, 0,3 e 0,6 kg ha^{-1}) enquanto 0,4CCa, 0,8CCa, e 1,6CCa, correspondem, respectivamente, à aplicação inicial de CaCl_2 (0,4, 0,8 e 1,6 kg ha^{-1}).

Estes resultados parecem relacionar-se com a heterogeneidade decorrente das diferentes localizações dos campos experimentais (nomeadamente, solo, qualidade da água de rega, microclima), mas também com a distribuição de Ca através dos tecidos de transporte da

planta, uma vez que a mobilidade deste nutriente no floema é inferior à do xilema (Dražeta et al., 2004).

À colheita, o valor de Ca mais elevado do controlo localizou-se no centro do fruto (zona 5), seguindo-se uma distribuição relativamente homogénea nos restantes tecidos. Considera-se que o Ca presente no coração do fruto resulta da absorção pela via radicular e conseguinte distribuição pelos vasos xilémicos. Nos frutos com aplicações foliares, observa-se um aumento do Ca na zona 1, correspondente aos tecidos perto da epiderme estando estes relacionados com as aplicações foliares. Este acumular relaciona-se com a baixa mobilidade deste elemento e de uma velocidade de transporte reduzida entre as células da polpa.

Análise física, química e organoléptica de polpas de peras

Relativamente à caracterização física e química das polpas sujeitas a tratamento térmico, verificou-se a ausência de diferenças significativas para os parâmetros de pH, parâmetros colorimétricos (exceptuando a componente b*) e teor em sólidos solúveis totais. Porém deve assinalar-se a ocorrência de uma consistência/viscosidade mais elevada no controlo (Quadro 2).

Quadro 2 - Características físicas e químicas das polpas de pera Rocha controlo e 1,6CCa (frutos sujeitos desde início à concentração mais elevada de CaCl_2 - $1,6 \text{ kg ha}^{-1}$) provenientes do pomar de Caldas da Rainha, após tratamento térmico ($90^\circ\text{C}/10 \text{ min.}$).

Parâmetros		Controlo		Tratamento 1,6CCa	
		Média	D.P.	Média	D.P.
Viscosidade	k(Pa.s ⁿ)	5459a	+296	3118a	+1215
	n	0,23a	±0,04	0,20a	±0,01
Parâmetros Colorimétricos	L	35,61a	±0,36	34,67a	±0,01
	a*	2,69a	+0,48	1,25a	±0,30
	b*	3,65a	±0,02	3,44b	±0,03
pH		4,58a	±0,08	4,66a	±0,00
Brix (%)		11,53a	±0,31	11,10a	±0,14

Neste contexto, a análise sensorial das amostras de polpas de pera Rocha (Controlo e 1,6CCa) após tratamento térmico (Figura 11), revelou uma ligeira tendência para uma maior aceitabilidade dos parâmetros “Aparência” e “Cor” do controlo (apenas atributos exteriores). Os parâmetros “Aroma/sabor” e “Consistência” e por conseguinte, a “Apreciação Global” foram muito semelhante.

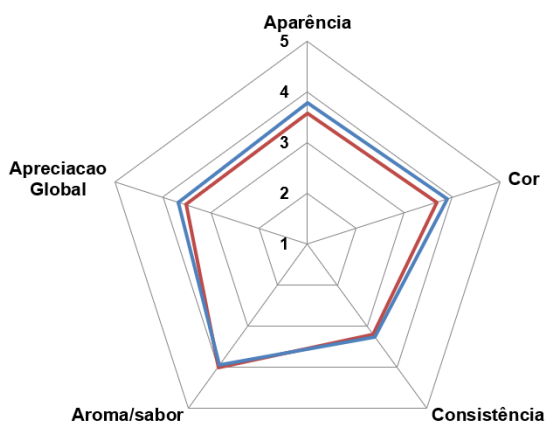


Figura 11 – Resultados médios da análise sensorial das polpas de pera Rocha controlo (azul) e de frutos do tratamento 1,6CCa (sujeitos desde início à concentração de $1,6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ CaCl}_2$ (vermelho)) provenientes do pomar de Caldas da Rainha, após tratamento térmico.

Das diferentes análises efectuadas às polpas, concluiu-se que as amostras no plano sensorial foram semelhantes, não tendo a biofortificação influenciado a aceitabilidade das mesmas. Estes resultados estão de acordo os resultados dos parâmetros físico-químicos e organoléptidos, que demonstraram a ausência de danos depreciativos decorrentes de aplicações de Ca na fase de pré-colheita.

Conclusão

A aplicação do itinerário de biofortificação em cálcio da pera Rocha no ano de 2018, e que viria a ser confirmada em 2019 e 2020, permitiu o desenvolvimento de um produto funcional, com características

profiláticas para a saúde humana, nomeadamente osteoporose, sem prejuízo de índices de produtividade ou de características organolépticas. Sendo um produto com características totalmente inovadoras poderá ser ainda uma mais valia para a obtenção de ganhos de competitividade no sector agro-alimentar nacional.

Referências Bibliográficas

- ANP - Associação de Produtores de Pera Rocha, 2021. Pera Rocha [web page]. URL <https://perarocha.pt/pera-rocha/> (accessed 13.9.21)
- Bonomelli, C., Ruiz, R., 2010. Effects of foliar and soil calcium application on yield and quality of table grape cv. *Thompson seedless*. J. Plant Nutr. 33, 299-314. <https://doi.org/10.1080/01904160903470364>
- Chen, F., Liu, H., Yang, H., Lai, S., Cheng, X., Xin, Y., Yang, B., Hou, H., Yao, Y., Zhang, S., 2010. Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. Food Chem. 126, 450–459. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.009>
- D’Imperio, M., Renna, M., Cardinali, A., Buttaro, D., Serio, F., Santamaria, P., 2016. Calcium biofortification and bioaccessibility in soilless “baby leaf” vegetable production. Food Chem. 213, 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.071>
- Dayod, M., Tyerman, S.D., Leigh, R.A., Gilliam, M., 2010. Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. Protoplasma 247, 215-231. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0182-0>
- Dražeta, L., Lang, A., Hall, A.J., Volz, R.K., Jameson, P.E., 2004. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. Ann. Bot-London 93, 275–282. <https://doi.org/10.1093/aob/mch040>
- EFSA - European Food Safety Authority, 2015. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium. EFSA Journal 13, 4101. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4101>
- Figueiredo, T.F.C., 2012. Desenvolvimento tecnológico de polpas refrigeradas

- de pêra Rocha e outros hortofrutícolas. Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa.
<http://hdl.handle.net/10400.5/5342>
- Hocking, B., Tyerman, S.D., Burton, R.A., Gilliam, M., 2016. Fruit calcium: transport and physiology. *Front. Plant Sci.* 7, 569.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00569>.
- INE – Instituto Nacional de Estatística, 2021. Estatísticas agrícolas – 2020 [web page]. URL
https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=437147278&PUBLICACOESmodo=2 (accessed 15.9.21)
- IOM - Institute of Medicine, 2011. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. The National Academies Press, Washington DC. ISBN 978-0-309-16395-8
- IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2018. Boletim Climatológico Sazonal – Primavera 2018 [pdf document]. URL
https://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20180625/EkcKqHdfNomyJTUthWk/cli_20180301_20180531_pcl_sz_co_pt.pdf (accessed 14.9.21)
- IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2018a. Boletim Climatológico Sazonal – Verão 2018 [pdf document]. URL
https://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20181009/ZleRMcpJCTGhikBOrCKP/cli_20180601_20180821_pcl_sz_co_pt.pdf (accessed 14.9.21)
- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace Elements in Soils and Plants, fourth ed. CRC Press, United States, pp. 548.
- Luís, I.C., Lidon, F.C., Pessoa, C.C., Marques, A.C., Coelho, A.R.F., Simões, M., Patanita, M., Dôres, J., Ramalho, J.C., Silva, M.M., Almeida, A.S., Pais, I.P., Pessoa, M.F., Reboredo, F.H., Legoinha, P., Guerra, M., Leitão, R.G., Campos, P.S., 2021. Zinc Enrichment in Two Contrasting Genotypes of *Triticum aestivum* L Grains: Interactions between Edaphic Conditions and Foliar Fertilizers. *Plants* 10, 204. <https://doi.org/10.3390/plants10020204>

Marques, A.C., Lidon, F.C., Coelho, A.R.F., Pessoa, C.C., Luís, I.C., Campos, P.S., Simões, M., Almeida, A.S., Pessoa, M.F., Galhano, G., Guerra, M., Leitão, R.G., Legoinha, P., Ramalho, J.C., Semedo, J.N., Rodrigues, A.P., Marques, P., Silva, C., Ribeiro-Barros, A., Silva, M.J., Silva, M.M., Oliveira, K., Ferreira, D., Pais, I.P., Reboredo, F.H., 2021. Effect of Rice Grain (*Oryza sativa* L.) Enrichment with Selenium on Foliar Leaf Gas Exchanges and Accumulation of Nutrients. *Plants* 10, 288. <https://doi.org/10.3390/plants10020288>

NIH - National Institutes of Health, 2021. Calcium – Fact sheet for Health Professionals [web page]. URL <https://ods.od.nih.gov/Factsheets/Calcium/> (accessed 14.9.21)

NP 4258: 1993 (ISO 8589:1988). Análise Sensorial. Directivas gerais para a concepção dos locais apropriados para análise.

Pessoa, C.C., Lidon, F.C., Coelho, A.R.F., Caleiro, J.C., Marques, A.C., Luís, I.C., Kullberg, J.C., Legoinha, P., Brito, M.G., Ramalho, J.C., Guerra, M.A.M., Leitão, R.G., Simões, M., Campos, P.S., Semedo, J.M.N., Silva, M.M., Pais, I.P., Leal N., Alvarenga, N., Gonçalves, E.M., Silva, M.J., Rodrigues, A.P., Abreu, M., Pessoa, M.F., Reboredo, F.H., 2021. Calcium biofortification of Rocha pears, tissues accumulation and physicochemical implications in fresh and heat-treated fruits. *Sci. Hortic-Amsterdam* 277, 109834. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109834>

Rodrigues, W.P., Martins, M.Q., Fortunato, A.S., Rodrigues, A.P., Semedo, J.N., Simões-Costa, M.C., Pais, I.P., Leitão, A.E., Colwel, F., Goulao, L., Máguas, C., Maia, R., Partelli, F.L., Campostrini, E., Scotti-Campos, P., Ribeiro-Barros, A.I., Lidon, F.C., DaMatta, F.M., Ramalho, J.C., 2016. Long-term elevated air [CO₂] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-optimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. *Global Change Biol.* 22, 415-431. <https://doi.org/10.1111/gcb.13088>

Silva, F.J.P., Gomes, M.H., Fidalgo, F., Rodrigues, J.A., Almeida, D.P., 2010. Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of Rocha pear: Effects of maturity and storage conditions. *J. Food Quality* 33, 1-20. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00289.x>

- Taiz, L., Zeiger, E., 2002. Plant Physiology, third ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 665 p.
- Wang, Y., Zhang, X., Wang, Y., Yang, S., Qu, H., 2018. The changes of intracellular calcium concentration and distribution in the hard end pear (*Pyrus pyrifolia* cv. 'Whangkeumbae') fruit. Cell Calcium 71, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2017.11.002>
- Wei, S., Qin, G., Zhang, H., Tao, S., Wu J., Wang, S., Zhang, S., 2017. Calcium treatments promote the aroma volatiles emission of pear (*Pyrus ussuriensis* 'Nanguoli') fruit during post-harvest ripening process. Sci. Hortic-Amsterdam 215, 102–111. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.008>
- White, P.J., Broadley, M.R., 2003. Calcium in plants. Ann. Bot-London 92, 487–511. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg164>
- Wójcik, P., Skorupinska, A., Filipczak, J., 2014. Impacts of preharvest fall sprays of calcium chloride at high rates on quality and 'Conference' pear storability. Sci. Hortic-Amsterdam 168, 51–57. <https://doi.org/10.1080/01904169309364651>

GO FruitFlyProtec - Melhorar o combate a moscas da fruta por monitorização e avaliação de eficácia de meios de proteção alternativos para *Ceratitis capitata* e *Drosophila suzukii* e avaliação do risco de introdução e distribuição potencial para *Bactrocera dorsalis*



Parceria

COTHN-CC – Centro operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências (**Líder**);

DRAPCAlg – Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve;

FRUSOAL – Frutas Sotavento Algarve, LDA;

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

IPS-ESA – Instituto Politécnico de Santarém – Escola Superior Agrária;

MADRE FRUTA – Centro de Vendas Hortofrutícolas LDA;

O MELRO.OP, S.A.

Palavras-chave: *Drosophila suzuki*; *Ceratitis capitata*; *Bratocera dorsalis*; meios de proteção alternativos.

Website: <https://fruitflyprotec.webnode.pt/>

Investimento total: 419 950,99 € | **Investimento elegível:** 326 959,41€

Logótipos dos Parceiros



Objectivos do GO FruitFlyProtec

1. ***Drosophila suzukii***: (i) desenvolver métodos expeditos para monitorizar populações em diferentes condições ecológicas; (ii) identificar os principais fatores de risco como hospedeiros alternativos às culturas (repositórios) e temperaturas limites para desenvolvimento e voo; (iii) definir estratégias de proteção da cultura, em especial medidas preventivas e avaliação de eficácia de técnicas de captura em massa ou outros meios de proteção inovadores;
2. ***Ceratitis capitata***: prospeção e avaliação da atividade e eficácia de limitação por predadores e parasitóides, avaliação de iscos, armadilhas e extratos de plantas com bioatividade;
3. ***Bactrocera dorsalis***: (i) identificar os fatores de risco, (ii) distribuição geográfica potencial no Continente e nas Regiões Autónomas dos Açores e Madeira, (condições ótimas e limitantes de desenvolvimento e voo e hospedeiros potenciais), (iii) zonagem de risco potencial, (iv) da Região Autónoma da Madeira (proximidade a Cabo Verde e importância económica da cultura da banana e outras culturas subtropicais) prever monitorização no arquipélago e avaliar métodos de captura em massa (trabalhos em conjunto com equipas das regiões onde existe a praga em parceria com instituições das regiões autónomas).
4. Para todas as espécies pretende-se avaliar os estragos, desenvolver e implementar ferramentas de SIG para mapeamento das populações e apoio à decisão, assim como melhorar a divulgação da informação.

Equipa do GO FruitFlyProtec

Entidades	Pessoas
COTHN-CC	Carmo Martins
	Hélder Coelho
	Ana Paula Nunes
Frusoal	Silvino Silva
IPS-ESA	Maria do Céu Godinho
	Elsa Valério
DRAP Algarve	Celestino Soares
	Dora Tomé
	Eugénia Neto
	Humberto Lopes
	Maria Catarina Pica
ISA	Elisabete Figueiredo
	António Mexia
	Tomás Mendonça
	Paulo Alexandre ⁽¹⁾
Madrefruta	Carla Monteiro
	Bruno Oliveira
COOPVAL, CRL	Carla Rasteiro
O Melro	João Abreu
	João Dias

(1)-bolseiro no ISA e na ESAS.

FruitFlyProtec - Melhorar o combate a moscas da fruta por monitorização e avaliação de eficácia de meios de proteção alternativos para *Ceratitis capitata* e *Drosophila suzukii* e avaliação do risco de introdução e distribuição potencial para *Bactrocera dorsalis*

Paulo Alexandre¹, Tomás Mendonça¹, Maria Godinho^{2*}, Elsa Valério², Elisabete Figueiredo^{1,3*}, António Mexia^{1,3}, Celestino Soares⁴, Dora Tomé⁴, Eugénia Neto⁴, Humberto Lopes⁴ e Maria Catarina Pica⁴

¹ ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

² IPS-ESAS – Instituto Politécnico de Santarém – Escola Superior Agrária, Quinta do Galinheiro, S. Pedro, 2001-904 Santarém

³ Centro de Investigação em Agronomia, Alimentos, Ambiente e Paisagem, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

⁴ Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, Apart. 282, Patação, 8001-904 Faro, Portugal

Email: carmo@cothn.pt

Resumo

Este projeto tem como objetivos:

- Para *Drosophila suzukii* propõe-se (i) desenvolver métodos expeditos para monitorizar populações em diferentes condições ecológicas; (ii) identificar os principais fatores de risco como hospedeiros alternativos às culturas (repositórios); (iii) definir estratégias de proteção da cultura, em especial medidas preventivas e avaliação de eficácia de técnicas de captura em massa ou outros meios de proteção inovadores;
- Para *Ceratitis capitata* pretende-se realizar a prospeção e avaliação da atividade e eficácia de limitação por predadores e parasitoides, avaliação de iscos, armadilhas e extratos de plantas com bioatividade;

- Para *Bactrocera dorsalis* pretende-se identificar os fatores de risco e a distribuição geográfica potencial no Continente e nas Regiões Autónomas dos Açores e Madeira, tendo em conta as condições ótimas e limitantes do seu desenvolvimento e voo e os hospedeiros potenciais – zonagem de risco potencial.

Palavras-chave: *Drosophila suzuki*; *Ceratitis capitata*; *Bactrocera dorsalis*; meios de proteção alternativos.

Abstract

This project aims to:

- For *Drosophila suzukii* it is proposed (i) to develop expeditious methods to monitor populations in different ecological conditions; (ii) identify the main risk factors as alternative hosts to cultures (repositories); (iii) define crop protection strategies, in particular preventive measures and evaluation of the effectiveness of mass capture techniques or other innovative means of protection;
- For *Ceratitis capitata* it is intended to carry out the prospection and evaluation of activity and limitation effectiveness by predators and parasitoids, evaluation of baits, traps and plant extracts with bioactivity;
- For *Bactrocera dorsalis*, it is intended to identify the risk factors and the potential geographic distribution on the mainland and in the Autonomous Regions of the Azores and Madeira, taking into account the optimal and limiting conditions of its development and flight and the potential hosts - potential risk zoning.

Keywords: *Drosophila suzuki*; *Ceratitis capitata*; *Bactrocera dorsalis*; alternative means of protection.

A. Contribuição para o conhecimento de pragas em fruteiras no âmbito do GO FruitFlyProtec: drosófila-da-asa-manchada

Introdução - Breves notas sobre a espécie e trabalhos realizados

A drosófila-da-asa-manchada, *Drosophila suzukii*, é nativa da Ásia, foi detetada em 2012 em Portugal e rapidamente entrou no grupo dos inimigos chave de várias culturas como pequenos frutos, mirtilos, amora e framboesa e ainda cereja, uva, ameixa, pêssago e damasco.

Devido aos significativos prejuízos que causa, o controle das populações da mosca-da-asa-manchada, constitui um dos principais desafios da fileira frutícola nacional. Para obter um produto com padrões de qualidade elevada com o respeito pelo ambiente que se exige, é fundamental dispor de ferramentas eficazes. O Grupo Operacional Fruitflyprotec, constituído em 2017, acompanha pontos de monitorização e estudo das populações desta espécie em diversos pontos do país, para melhoria do conhecimento e definição de estratégias e soluções para a proteção das culturas em relação a esta praga, no enquadramento legal atual. Exige-se segurança alimentar para o consumidor, respeito pelos recursos naturais e viabilidade económica.

Para responder a questões relacionadas com a proteção de culturas no combate a *D. suzukii*, reuniu-se um consórcio, onde, entre outros parceiros, a Escola Superior Agrária de Santarém e o Instituto Superior de Agronomia. Um dos Postos de Observação Biológica (POB) foi colocado numa parcela de uva de mesa e o outro numa parcela com cultura de framboesa, respetivamente, no Ribatejo e Sudoeste Alentejano, onde foram testadas armadilhas alimentares para monitorização e/ou captura em massa de *D. suzukii*.

Estes pontos de monitorização são acompanhados com a realização de contagens e observação laboratorial do material recolhido. Este aspeto tem especial importância, devido à enorme dificuldade de identificar a espécie em causa por observação simples de campo, já que morfologicamente esta espécie pode ser facilmente confundível com

outras drosófilas. Este aspeto será tratado mais à frente, para o qual solicitamos especial atenção, pois a deteção da presença da praga e a estimativa da densidade populacional são de erro fácil, com consequências incorretas ao nível da tomada de decisão.

Além da melhoria das técnicas para estimativa do risco estão a ser desenvolvidos estudos para incorporar outros meios de proteção, com recurso a estratégias de atração-repulsão e a nemátodes entomopatogénicos.

Estimativa do risco / captura em massa

Material e métodos

i) Dispositivos selecionados para o estudo

A recolha de dados iniciou-se em outubro de 2018 e, inicialmente, para estudo comparativo de dispositivos de atração, foram utilizadas quatro armadilhas: duas disponíveis no mercado e dois dispositivos construídos artesanalmente. As soluções comerciais selecionadas foram a placa adesiva vermelha da marca comercial Econex®, com atrativo da mesma marca (Figura 1) e o dispositivo da marca Koppert® com 200 ml de atrativo específico da mesma marca (Figura 2). Os outros dois dispositivos, construídos pela equipa, foram a designada Garrafa PET com bandas adesivas vermelha e preta orifícios de 4 a 5 mm (Figura 3) e atrativo de 100 ml de vinagre, comercializado para o efeito pela empresa Mendes & Gonçalves (Figura 4) e a designada “armadilha Lasa”, com orifícios de 4 mm, e com 50 ml de vinagre Mendes & Gonçalves e fermento de padeiro como atrativos (Lasa et al., 2017).

ii) Postos de observação biológico

O Posto de Observação Biológico do Ribatejo, situado em Vale de Figueira, concelho de Santarém foi instalado numa vinha de uva de mesa, da casta Cardinal, com condução em pérgula. As armadilhas foram suspensas nos arames tutores.

O Posto de Observação Biológico do Sudoeste Alentejano, situado na Zambujeira do Mar, concelho de Odemira, foi instalado em framboesa, em túnel alto e as armadilhas foram suspensas no fio tutor, no interior dos abrigos. As armadilhas estiveram instaladas no POB do Sudoeste Alentejano entre 2 de outubro de 2018 e 24 de julho de 2020 e no POB de Santarém estão colocadas desde 14 de agosto de 2018.



Figura 1 – Placa adesiva e respetivo isco da Econex® para *Drosophila suzukii*.



Figura 2 – Armadilha para *Drosophila suzukii* da marca Koppert®.



Figura 3 – Garrafa PET adaptada para captura de *Drosophila suzukii*.



Figura 4 – Armadilha Lasa (Lasa et al., 2017).

Foi ainda realizado um pequeno estudo numa exploração em Pontével (Ribatejo), com 2,3 ha de mirtilos das cultivares Roki Noee e Kati Blue (polinizadora). Este trabalho decorreu entre 2 de junho e 21 de julho de 2020 e pretendeu avaliar o poder atrativo das quatro armadilhas. Houve, contudo, uma diferença relevante: a dimensão dos orifícios. Neste caso, a armadilha Lasa possuía orifícios de 2 mm. Foi usado em ambos os casos o atrativo alimentar comercializado pela empresa Mendes & Gonçalves, com 140 ml/armadilha. Nas armadilhas comerciais foi colocado 300 ml do mesmo atrativo. As recolhas de amostras e a troca de iscos foram realizadas com periodicidade semanal.

iii) Procedimento

Os iscos foram trocados semanalmente no verão e quinzenalmente no Inverno e as amostras recolhidas foram encaminhadas para os Laboratórios de Entomologia do ISA e da ESAS para observação. O material rececionado foi filtrado e os indivíduos foram separados e

acondicionados em frascos de plástico com etanol a 70 % para conservação (Figura 5).

Com recurso a lupa binocular (microscópio estereoscópico), identificaram-se os exemplares *D. suzukii* a partir das características morfológicas. Registou-se o número de machos, com e sem a mancha típica nas asas, de fêmeas de *D. suzukii*, de indivíduos de outras espécies de *Drosophila* e, ainda, de outros insetos.



Figura 5 – Exemplares de *Drosophila suzukii* conservados em etanol a 70 %.

Apresentam-se os resultados mais relevantes relativos a armadilhas para estimativa do risco e captura em massa da drosófila-de-asa-manchada.

Resultados

Dispositivos e atrativos

No posto do Ribatejo, em vinha, durante os anos de 2018 e de 2019 não foram capturados exemplares de mosca-da-asa-manchada. As dúvidas relativas à sua presença em uva de mesa nesta região foram clarificadas. Todavia optou-se por manter o posto, mas apenas com as armadilhas Koppert® e PET, com a finalidade de prospeção e possível primeira deteção.

No posto do Sudoeste Alentejano, salienta-se, como primeiro resultado, a inexistência de capturas de drosófila-da-asa-manchada nas placas adesivas da Econex®. Foram analisadas 15 placas, no período

compreendido entre o início de outubro 2018 e o final de fevereiro

2019, não tendo existido nenhuma captura de *D. suzukii*, apesar de todas as outras armadilhas, no mesmo período, terem registado a presença da espécie. Pelo contrário, foram capturados mosquitos da família *Psychodidae* em número elevado. Assim, optou-se por substituir, no desenho experimental, esta armadilha por uma outra e, em maio de 2019, foi instalada a armadilha da Biobest® (dispositivo e atrativo líquido da mesma marca) (Figura 6).



Figura 6 – Armadilha da Biobest®.

Esta armadilha, apesar de ser eficaz na captura de mosca-da-asa-manchada, acabou por ser descartada em julho de 2020, pois o atrativo apresentava, quando da recolha para observação das moscas-do-vinagre presentes, uma consistência gelatinosa e cor castanha (Figura 7) que impossibilitava a correta filtragem e contabilização dos exemplares capturados e, provalvemente, também será responsável por menor captura nos últimos dias do período entre recolhas, o que poderá pôr em causa a fiabilidade dos dados obtidos com o uso desta armadilha.



Figura 7 – Amostra recolhida na armadilha Biobest®, com a característica consistência gelatinosa e cor castanha.

No período analisado, a armadilha que capturou um número mais elevado de *D. suzukii* foi a Garrafa PET, com diferenças significativas para a armadilha comercial da Koppert®, quer para as capturas totais quer

de fêmeas (Figura 8), portanto deverá ser a mais indicada para captura em massa.

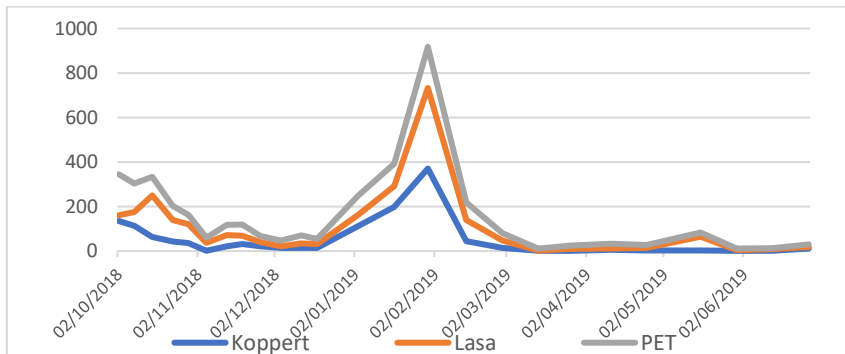


Figura 8 – Número total de indivíduos de *Drosophila suzukii* capturados nas armadilhas Koppert®, Lasa e PET de 2 outubro 2018 a 27 junho 2019.

Contudo, a armadilha da Koppert® foi mais específica (Figura 9), isto é, a proporção de *D. suzukii* em relação a todas as drosófilas capturadas foi mais elevada com esta armadilha. Este indicador é de grande relevância para a melhoria das técnicas de estimativa do risco. Neste caso em particular, as semelhanças entre muitas das espécies do género *Drosophila* e os erros associados à identificação podem implicar incorretas decisões para a proteção da cultura. Acresce que em algumas datas, apenas 4% das mosca-do-vinagre capturadas se confirmou pertencerem à espécie *D. suzukii*.

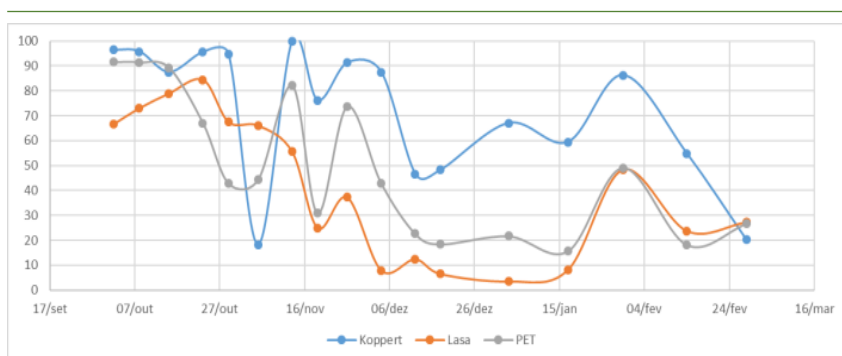


Figura 9 – Especificidade das armadilhas Koppert®, Lasa e PET para *Drosophila suzukii* (proporção de indivíduos de *Drosophila suzukii* capturados em relação ao total de indivíduos de todas as moscas-do-vinagre).

Diâmetro dos orifícios

Os dados obtidos no ensaio em Pontével (Figura 10) revelaram uma maior preferência das moscas de *D. suzukii* pela armadilha com dispositivo comercializado pela Biobest® durante uma parte da campanha. Os dispositivos Lasa e PET, com diâmetro de 2 mm e 140 ml de atrativo, demonstraram menor capacidade para capturar esta espécie durante o período de cultura monitorizado, quando comparados com as duas soluções comerciais, mas também capturaram menos insetos de espécies não alvo.

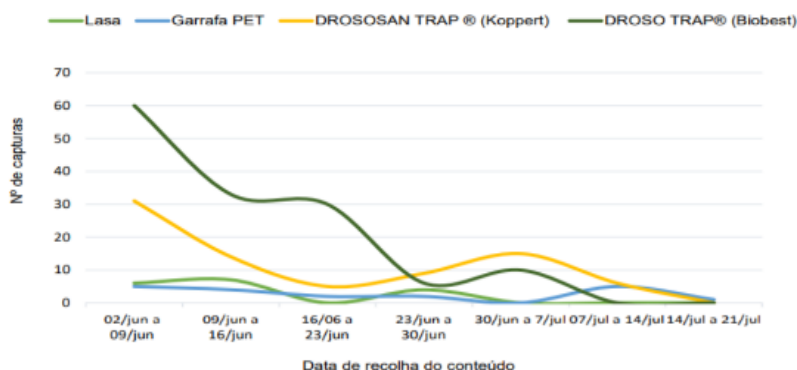


Figura 10 – Capturas de *Drosophila suzukii* no ensaio no POB de Pontével em 2020.

Há também a referir que no decurso do ensaio se observou que as armadilhas PET colocadas pelo produtor na restante área da parcela capturaram em maior quantidade, comparativamente à armadilha PET utilizada no ensaio. O maior diâmetro dos orifícios nas armadilhas PET da empresa parece ser a razão desta diferença. Recorde-se que as armadilhas que revelaram maiores capturas no ensaio apresentavam, também, orifícios de maior diâmetro. Assim, a causa dos valores relativamente inferiores de capturas das armadilhas artesanais está possivelmente ligada ao menor diâmetro dos orifícios.

Este é um ponto que carece de aprofundamento, pois o diâmetro dos orifícios também interfere com a seletividade da armadilha ao nível do tamanho de artrópodes não alvo que pode capturar. Uma possível solução seria aumentar o número de orifícios, de 2 mm, que permitia equiparar a área de volatilização do atrativo, com maior especificidade da armadilha. Estas soluções mantêm-se em estudo.

Identificação da espécie - aspetos a reter

Ausência de mancha nos machos recém emergidos e presença de formas de inverno

A drosófila-de-asa-manchada pode exibir variações no aspeto morfológico em determinados ambientes ecológicos o que cria dificuldades na sua identificação. Em relação às formas de verão (Figura 11), as designadas “formas de inverno” são de coloração mais escura e têm asas mais compridas, devido à diminuição da temperatura (Figura 12). Estas variações foram referidas em trabalhos recentes, sendo que foram encontradas no norte de Portugal.

Nos trabalhos efetuados no âmbito deste GO, não se detetaram formas invernais de drosófila-de-asa-manchada no Sudoeste Alentejano mesmo no inverno bastante frio de 2020-2021, com temperaturas muito baixas em janeiro.



Figura 11 – Forma de verão de fêmea de *Drosophila suzukii*.



Figura 12 – Forma de inverno de fêmea de *Drosophila suzukii* (fotografia de Joana Neto, FCUP).



Figura 13 – Fêmea da espécie de mosca-do-vinagre do grupo de *Drosophila obscura*.

Contudo, em ambos os POB, capturaram-se exemplares de drosófilas do grupo de *Drosophila obscura* que podem confundir-se muito facilmente com as formas de inverno de *D. suzukii*. A fêmea desta espécie (Figura 13) apresenta um oviscapto um pouco mais esclerotizado e castanho (Figura 14), mas não com a mesma dureza e forma do oviscapto de *D. suzukii* (Figura 15) e o macho apresenta também um pente sexual na pata anterior (Figura 16), mas cujos pêlos são menos rígidos e têm orientação perpendicular à direção da pata, enquanto que no caso da drosófila-de-asa-manchada apresentam a orientação da direção da pata (Figura 17).



Figura 14 – Oviscapto da fêmea da espécie de mosca-do-vinagre do grupo de *Drosophila obscura*.



Figura 15 – Oviscapto serrilhado da fêmea de *Drosophila suzukii*.



Figura 16 – Pente sexual da pata anterior do macho da espécie de mosca-do-vinagre do grupo de *Drosophila obscura*.

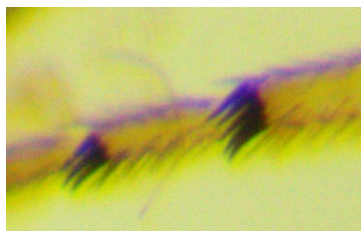


Figura 17 – Pente sexual da pata anterior do macho de *Drosophila suzukii*.

Foi ainda registado e deve ser realçado o facto da mancha negra na asa não ser exibida por 15% dos machos de *D. suzukii*, de acordo com os dados obtidos no âmbito deste GO. Acresce que há outras moscas que apresentam esta mancha, pelo que é importante observar o pente sexual e não a mancha alar para a sua correta identificação. Esta mancha só é visível cerca de 24h depois da emergência e pode até nunca ser visível nos machos de menor dimensão.

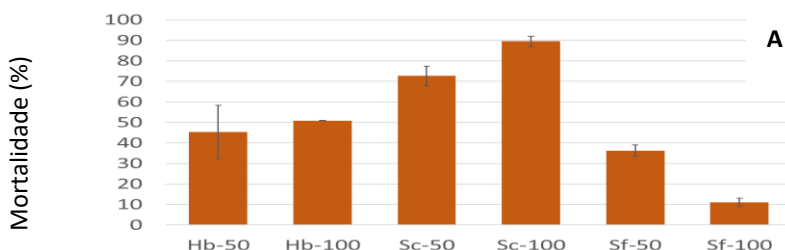
Métodos alternativos de proteção contra *Drosophila suzukii*

Material e métodos

No âmbito do GO foi efetuado um ensaio de avaliação de eficácia de nemátodes entomopatogénicos. Foram selecionadas três espécies, duas com estratégia de esperar pelo hospedeiro (emboscada), *Steinernema carpocapsae* e *Steinernema feltiae*, e um com estratégia de procura ativa do hospedeiro, *Heterorhabditis bacteriophora*. As três espécies foram usadas contra larvas L₃ completamente desenvolvidas de *D. suzukii* (ou seja, quando, no campo, saíam do fruto, se deixariam cair no solo e se enterrariam para pupar); *H. bacteriophora* foi testada, também, em pupas. Os ensaios foram desenvolvidos em placa de Petri e em vaso com mistura de terra e turfa (neste último caso, as larvas ou pupas foram colocadas a 2 cm de profundidade), para avaliar a mortalidade potencial e em condições mais semelhantes às condições de campo, respetivamente. Testaram-se duas doses, 50 e 100 IJ/cm². Usaram-se 20 larvas ou pupas em cada uma das três repetições de cada modalidade (placa ou vaso, nemátode entomopatogénico e dose).

Resultados

Só se obteve mortalidade em larvas. *S. carpocapsae* foi o nemátode entomopatogénico que apresentou melhores resultados, induzindo mortalidade de cerca de 90% e 50%, em placa de Petri e vaso, respetivamente, na dose mais elevada (Figura 18).



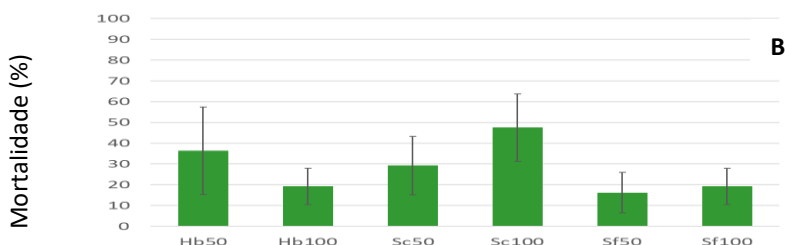


Figura 18 – Mortalidade induzida (média e erro padrão) pelos nemátodes entomopatogênicos *Steinernema carpocapsae* (Sc), *S. feltiae* (Sf) e *Heterorhabditis bacteriophora* (Hb) em larvas de *Drosophila suzukii*, aplicados em duas doses, 50 e 100 IJ/cm² em placas de Petri (A) e em terra em vaso (B).

Perspetivas

No âmbito deste GO, está a ser testada técnica de atração-repulsão, em condições de campo, comparando 3-octenol e limoneno, como repelente, e usando armadilhas com isco alimentar como atrativo.

A proteção contra esta praga terá de passar pela integração de meios de proteção, começando pelos meios de proteção cultural. Destacam-se, a colheita temporã e frequente, a recolha de frutos sobremaduros e dos que caíram no solo seguidos da sua destruição por enterramento fundo ou “pasteurização” (colocação em recipiente escuro, hermeticamente fechado, ao sol) e colocação de plástico negro sob as plantas para impedir o enterramento no solo para pupação; refira-se que a compostagem permite a sobrevivência da praga. A condução da cultura e a poda devem diminuir a humidade relativa e zonas de ensombramento que são favoráveis ao desenvolvimento da praga. É importante a gestão dos hospedeiros alternativos em redor das explorações. Estes procedimentos são cruciais.

Devem ser seguidos modelos de dinâmica populacional (em desenvolvimento atualmente) que permitirão prever melhor o crescimento das populações da praga nas diferentes regiões.

São conhecidos predadores generalistas e comuns que se alimentam de *D. suzukii*, como mosca-tigre, crisopas, hemerobídeos, antocorídeos,

estaflinídeos, carabídeos, bicha-cadela e aranhas, e parasitóides que urge preservar no ecossistema. Estão já disponíveis, comercialmente, parasitóides autóctones, assim como soluções microbiológicas que apresentam intervalo de segurança de 0 dias e, portanto, compatíveis com a colheita frequente.

Apesar de ser necessária a gestão dos hospedeiros alternativos em redor das explorações, nem todas as espécies vegetais que são hospedeiros são prejudiciais. Alguns são hospedeiros de espécies benéficas, cruciais para a proteção biológica de conservação; outros apesar de serem atrativos para postura, não permitem o desenvolvimento do ovo ou da larva e são, por isso, considerados como plantas armadilha. Estes últimos, podem ser usadas em sebes junto às parcelas de cultura. Entre estas plantas, estão *Prunus lusitanica* e *Prunus padus* (azereiro), *Phytolacca americana* (tintureira), *Pyracantha coccinea* (piracanto) e *Rubia tinctorum* (granza).

Os estudos sobre o efeito de voláteis que atraem ou repelem *D. suzukii*, no sentido de os usar em diferentes táticas, devem também ser considerados na integração de meios de proteção da cultura. A pulverização das plantas para repelir posturas, o aumento da eficiência da captura em massa, a implementação de soluções de atração-repulsão, combinando repelentes na parcela de cultura e atrativos no seu exterior, ou de atração e morte com estações armadilha, usando uma combinação de volátil e inseticida são exemplos de soluções de sua aplicação prática.

Incluem-se na bibliografia referências de artigos de revisão recentes sobre alguns destes aspetos que esperamos possam ser introduzidos em breve na estratégia de proteção das culturas contra a drosófila-de-asa-manchada.

Agradecimentos

Na execução destes trabalhos tivemos a colaboração das empresas Oceanis - Cultura de Flores e Frutos, Lda., na Zambujeira do Mar (Odemira), Sociedade Agrícola Dr. Augusto Gomes, em Vale Figueira (Santarém),

Francisco Manuel Machado Parente Unipessoal, Lda., em Pontével (Cartaxo), Summer Berry Company, em Longueira-Almograve, (Odemira), dos estudantes Miguel Simões (ISA) e Catarina Cândido (ESAS). Agradecemos, também, ao Eng. Mário Oliveira (Oceanis) pelo apoio na recolha das capturas do POB do Sudoeste Alentejano e à Eng. Silvína Morais (Summer Berry Crops) pela supervisão no campo do ensaio de atração-repulsão.

B. Contribuição para o conhecimento de pragas em fruteiras no âmbito do GO FruitFlyProtec: *Ceratitis capitata*

Dispositivo experimental

Foram desenvolvidas ações experimentais nos campos piloto localizados no Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT) e no pomar da Assêca, nomeadamente:

Pomar D. João - pomar localizado no CEAT, constituído pela variedade de laranja Valencia Late – D. João, plantando em 1976, num compasso de 6 m x 4 m, com 1,2 ha.

Instalação do seguinte dispositivo experimental de monitorização:

- 4 armadilhas Tephry com atrativos econex;
- 4 armadilhas tipo Dome: duas com os atrativos: putrescina + acetato de amónio + trimetilamina e duas com trimedlure.
- Observação periódica de 100 frutos em fase de maturação para avaliação dos ataques de *C. capitata*;
- Recolha de frutos caídos no chão.

Pomar Newhall - pomar localizado no CEAT, constituído pela variedade de laranja Newhall, plantando em 1994, num compasso de 5,5 m x 4 m, com 0,4 ha.

Instalação do seguinte dispositivo experimental de monitorização:

-
- 4 armadilhas Tephry: duas com os atrativos econex e duas com trimedlure.
 - Observação periódica de 100 frutos em fase de maturação para avaliação dos ataques de *C. capitata*;
 - Recolha de frutos caídos no chão.

Centro de Experimentação Agrária de Tavira (CEAT) - Centro que apresenta uma área de cerca de 29 ha constituído por diversas espécies fruteiras.

- Ações complementares às referidas para os pomares anteriores e que consistiram na recolha de frutos de diferentes espécies fruteiras existentes no CEAT e que à época das observações se encontravam em situação de poderem ser picadas por *C. capitata*.

Pomar da Assêca - pomar localizado na Assêca, de laranjeira Valencia Late – D. João, plantando em 1980, num compasso de 6 m x 4 m, com 3 ha.

Instalação do seguinte dispositivo experimental de monitorização:

- 4 armadilhas Tephry: duas com os atrativos econex e duas com trimedlure.
- Observação periódica de 100 frutos em fase de maturação para avaliação dos ataques de *C. capitata*;
- Recolha de frutos caídos no chão.

Resultados obtidos e sua discussão

Pomar D. João

Neste campo piloto optou-se por nos anos de 2018 e 2019 seguir uma estratégia de luta contra *C. capitata* baseada na realização de

tratamentos fitossanitários, a partir do momento em que fosse atingido o Nível Económico de Ataque (NEA). Em 2020 e já em 2021 optou-se por instalar armadilhas de captura em massa do produto comercial Ceratrap (hidrolisado de proteínas), através da colocação de 192 armadilhas na área total do pomar.

Em termos gerais pode referir-se que em 2018 foi realizado um tratamento fitossanitário contra *C. capitata* e quatro com o mesmo objetivo, em 2019 e 2020. Em 2020, adicionalmente foi aplicada a estratégia de luta baseada na captura em massa através da utilização de armadilhas com Ceratrap (hidrolisado de proteínas) (Figura 19).

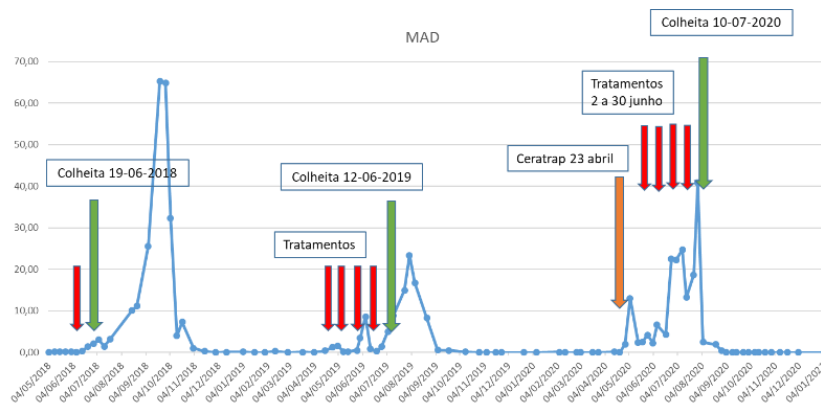


Figura 19 – Dinâmica populacional de *Ceratitis capitata* obtida no Campo Piloto no Pomar D. João (armadilhas com o atrativo Econex).

Em 2018, 2019 e 2020 a data de colheita foi respetivamente em 19 de junho, 12 de junho e 10 de julho.

As populações de *C. capitata* de uma forma geral aumentam a partir do mês de maio, estando a sua evolução muito dependente das temperaturas e precipitação ocorridas no decurso do Inverno e Primavera. As populações mais elevadas foram obtidas durante o mês setembro, mesmo sem que neste pomar existam frutos em fase de maturação. A evolução populacional neste campo é muito influenciada

pelos hospedeiros alternativos que se encontram numa das bordaduras deste pomar, as figueiras.

A época da colheita influencia diretamente a necessidade de aumentar o número de tratamentos que são necessários realizar para manter a fruta sã no pomar. Em 2018 pelo facto da primavera ter sido muito atípica, com temperaturas abaixo do normal e precipitação elevada, levou a que as populações de *C. capitata* tenham sido inicialmente inferiores, tendo atrasado a necessidade de realização de tratamentos fitossanitários.

Em 2020, a instalação do dispositivo baseado na captura em massa, permitiu atrasar a necessidade de realização do primeiro tratamento fitossanitário contra *C. capitata*, contribuindo assim para a redução do número de tratamentos realizados, apesar de neste ano a colheita ter sido atrasada comparativamente com o ano anterior.

As capturas de indivíduos adultos de *C. capitata* obtidas nas armadilhas Thephri com o atrativo Econex permitiram obter 29 % de machos e 71% de fêmeas. As armadilhas tipo Dome com a feromona trimedlure capturam um número mais elevado de indivíduos, assim como anteciparam a referida captura, comparativamente com os dispositivos Econex e o vulgarmente designado por Tripack (putrescina + acetato de amónio + trimetilamina).

Pomar Newhall

Neste campo piloto optou-se por utilizar uma estratégia de luta contra *C. capitata* diferenciada ao longo do período de vigência do projeto. Em 2018, realização de tratamentos de acordo com os níveis populacionais existentes; em 2019, aplicação de caulino e em 2020, instalação de armadilhas de captura em massa com o produto comercial Decis Trap, através da colocação de 19 armadilhas na área total do pomar.

Em 2018 foi realizado um tratamento fitossanitário contra *C. capitata* (Figura 20). Em 2019 não foi realizado qualquer tratamento e em 2020

utilizou-se a técnica da captura em massa, sem que se tenha tido necessidade de realizar qualquer tratamento fitossanitário.

Em 2018, 2019 e 2020 a data de colheita foi respetivamente em 6 de dezembro, a 23 de janeiro de 2020 e a 14 de janeiro de 2021.

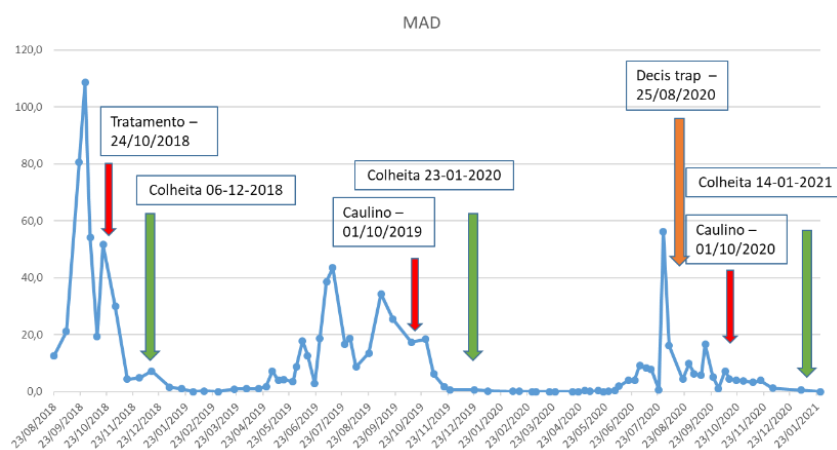


Figura 20 – Dinâmica populacional de *Ceratitidis capitata* obtida no Campo Piloto no Pomar Newhall (armadilhas com o atrativo Econex / trimedlure).

As populações de *C. capitata* de uma forma geral seguem a dinâmica normal, iniciando o seu incremento a partir do mês de maio. As populações mais elevadas foram obtidas durante os meses de agosto/setembro, dependendo dos anos.

Esta variedade de laranja (Newhall), por se tratar de uma variedade de maturação temporã /meia estação, inicia a mudança de cor dos frutos numa fase em que as populações de *C. capitata* são ainda muito elevadas (setembro /outubro), podendo as mesmas variar em função das condições climáticas que ocorrem nesta época do ano (precipitação, maior arrefecimento noturno, etc.).

Trata-se de uma variedade que entra em maturação numa fase em que *C. capitata* inicia a diminuição das suas populações, sendo por este motivo mais fácil controlar os níveis populacionais através da adoção de uma estratégia de luta integrada, comparativamente com as variedades de maturação tardia. Em 2019 e em 2020 foi possível evitar a aplicação de tratamentos fitossanitários, sem que se registassem frutos picados em níveis considerados elevados (verificaram-se valores abaixo de 1%).

A aplicação do caulino não se mostrou eficaz, muito motivado pelo facto de, nesta fase do ano, terem ocorrido chuvas que contribuíram para minimizar o efeito pretendido.

A utilização da técnica da captura em massa mostrou-se suficiente para controlar as populações de *C. capitata*.

A localização desta parcela numa zona em que os hospedeiros alternativos se localizam a uma distância considerável, permite em nosso entender manter as populações de *C. capitata* controladas.

Centro de Experimentação Agrária de Tavira

Nas observações realizadas em frutos de citrinos (laranjas e clementinas), damascos, figos, maçãs, nêspas, romãs e uvas (colheitas de 155 amostras), foi possível assinalar presença de ataques de *C. capitata* em citrinos (laranjas e clementinas), damascos, figos e maçãs, num período compreendido entre maio e novembro. Foi nos damascos e nos figos que se obtiveram maiores taxas de indivíduos por kg de fruto.

Pomar da Assêca

Este campo piloto encontra-se numa fase de conversão para o Modo de Produção Biológico, razão pela qual o proprietário não realiza tratamentos fitossanitários contra *C. capitata*.

Em 3 de maio de 2019 e a 1 de maio de 2020 foi instalado um dispositivo de captura em massa para o combate de *C. capitata*, através da colocação de armadilhas (garrafas de plástico de 1,5 L adaptadas) com

o atrativo Ceratrap, reforçadas com idênticas armadilhas, conteúdo fosfato diamónio. Nas 234 árvores que serviram de base às observações ($\approx 5.600 \text{ m}^2$) foram instaladas 78 armadilhas com Ceratrap e 50 com fosfato diamónio.

Em 2019 e 2020 a data de colheita neste pomar foi respetivamente, a 14 de junho e a 27 de maio.

Nas observações efetuadas aos frutos não foi possível identificar frutos picados por *C. capitata*.

A localização deste campo numa zona de baixa, num vale junto a uma ribeira (terreno de aluvião), sujeito a encharcamento no período outono – invernal, com baixas temperaturas neste período, contribuem certamente para manter as populações de *C. capitata* reduzidas, permitindo que através da estratégia de luta utilizada seja possível manter a fruta no pomar até finais de maio inícios de junho sem ter que recorrer a tratamentos fitossanitários para manter os frutos sem picadas.

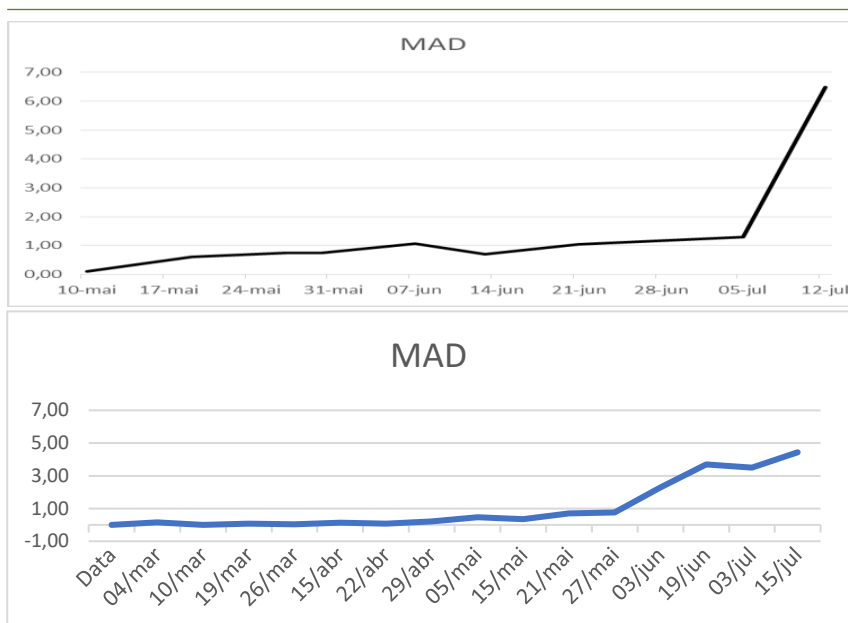


Figura 21 – Dinâmica populacional de *Ceratitidis capitata* obtida no Campo Piloto do Pomar da Assêca - Tavira (armadilhas com o atrativo Econex / trimedlure).

Conclusões

As ações experimentais desenvolvidas permitiram obter um conjunto de informações de importância assinalável, que contribuirão para melhorar o conhecimento sobre o comportamento das espécies de inimigos estudadas (*C. capitata*).

Referências bibliográficas

- Alkema, J.T., Dicke, M. e Wertheim, B. 2019. Context-dependence and the development of push-pull approaches for integrated management of *Drosophila suzukii*. *Insects* 10(12), 454. <https://doi.org/10.3390/insects10120454>
- Asplen, M.K., Anfora, G., Biondi, A. et al. 2015. Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *J. Pest Sci.* 88(3), 469–494. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0681-z>

- Figueiredo, E. e Lopes-Dias, A. (coord.). 2016. Mosca da asa manchada *Drosophila suzukii*. Cadernos Técnicos nº 4, Sustinia, Lisboa.
- Hamby, K.A. e Becher, P.G. 2016. Current knowledge of interactions between *Drosophila suzukii* and microbes, and their potential utility for pest management. J. Pest Sci. 89(3), 621–630. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0768-1>
- Kruitwagen, A., Beukeboom L.W. e Wertheim B. 2018. Optimization of native biocontrol agents, with parasitoids of the invasive pest *Drosophila suzukii* as an example. Evol. Appl. 11(9), 1473–1497. <https://doi.org/10.1111/eva.12648>
- Lasa, R., Tadeo, E., Toledo-Hernández, R.A., Carmona, L., Lima, I. e Williams, T. 2017. Improved capture of *Drosophila suzukii* by a trap baited with two attractants in the same device. PLoS ONE, 12(11), e0188350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188350>
- Sario, S., Santos, C., Gonçalves, F., Torres, L. 2021. DNA screening of *Drosophila suzukii* predators in berry field orchards shows new predatory taxonomical groups. PLoS ONE 16(4), e0249673. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249673>
- Schoneberg, T., Lewis, M.T., Burrack, H.J., et al. 2021. Cultural control of *Drosophila suzukii* in small fruit-current and pending tactics in the US. Insects 12(2), 172. <https://doi.org/10.3390/insects12020172>
- Winkler, A., Jung, J., Kleinhenz, B. e Racca, P. 2020. A review on temperature and humidity effects on *D. suzukii* population dynamics. Agric. Forest Entomol. 22, 179–192. <https://doi.org/10.1111/afe.12381>

GO Fruta Dragão: Validar a capacidade produtiva da pitáia vermelha



Parceria

AJAP - Associação de Jovens Agricultores de Portugal (**Líder**);

UAlg - Universidade do Algarve;

Consulai - Consultadoria Agro-Industrial;

Luís Sabbo;

Mil Plantas;

Desafio Tropical.

Palavras-chave: Cactaceae; fruticultura; inovação; frutos exóticos.

Website: www.frutadragao.com

Investimento total: 508 239,52€

Logótipo dos parceiros



Objetivos do GO Fruta Dragão

1. Implantação de campos de testagem da pitaia vermelha;
2. Monitorização de campos de testagem da pitaia vermelha;
3. Validação de dados agronómicos e de produtividade e qualidade dos frutos
4. Divulgação e disseminação

Equipa do GO Fruta Dragão

Entidades	Participantes
AJAP	Ana Catarina Ramos
	Jaime Leitão Carneiro
	João Mira
	Jorge Miguel Pires
	José Brunhoso Cordeiro
	Nelson Carraça Figueira
	Teresa Peixoto
	Valentina Castilho
Consulair	Pedro Falcato
	Rui Almeida
Desafio Tropical	Luís Sabbo
Luís Sabbo	Ricardo Martins
Mil Plantas	Diamantino Trindade
	Fernando André
UAlg	Amílcar Duarte
	Ana Rita Trindade
	Lídia Dionísio
	Luís Mascarenhas Neto
	Maria Alcinda das Neves
	Maria da Graça Miguel
	Maribela Correia
	Natália Marques

GO Fruta Dragão: Validar a capacidade produtiva da pitaia vermelha

Ana Rita Trindade^{1,2} Diamantino Trindade³ Fernando André³ e Amílcar Duarte^{1,2}

¹ UAlg – Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro.

² MED, FCT, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro.

³ Mil Plantas, Sítio do Pereiro, caixa postal 250 X, 8700-123 Moncarapacho

***Email:** aduarte@ualg.pt

Resumo:

No Algarve existem condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo de algumas espécies frutícolas exóticas, oriundas de climas tropicais ou subtropicais. O interesse no cultivo da pitaia baseia-se na sua compatibilidade com as condições algarvias, mas também na necessidade de diversificar a fruticultura da região. Apresentando altas produções em alguns países e sendo adequada para terrenos de pequenas dimensões, a pitaia, de aparência exótica e elevado valor nutritivo, é uma cultura que tem atraído tanto produtores como consumidores. Sendo esta uma cultura tão interessante por ser produtiva, sustentável e benéfica para a saúde humana, foi criado o grupo operacional “Fruta Dragão: Validar a capacidade produtiva da pitaia vermelha” (PDR2020-101-031201). Financiado por fundos da União Europeia, através do programa PDR2020, o seu objetivo é estabelecer as necessidades e problemas inerentes ao cultivo desta espécie, desenvolvendo tecnologias de produção sustentáveis e competitivas, adaptadas às condições edafoclimáticas do Algarve, potenciando condições para a sua expansão.

Para cumprir este propósito foram instaladas plantas de variedades de polpa branca (*Hylocereus undatus*) e de polpa vermelha (*Hylocereus*

costaricensis) ao ar livre e em estufa. Estão a decorrer ensaios de densidade de plantação, estruturas de suporte, cobertura de solo, indução floral, caracterização de variedades e ainda ensaios em solos de diferente textura.

Quando cultivada em condições adequadas, a primeira floração da pitaia ocorre cerca de um ano após a plantação, desde o final da primavera até princípios do outono, consoante as variedades sejam temporãs ou serôdias. A pitaia é uma planta dependente do fotoperíodo, sendo a floração induzida pelos dias longos. No entanto, o efeito do fotoperíodo depende da temperatura e a emergência dos botões florais só ocorre quando as temperaturas forem similares às ocorridas na altura normal de produção (média de 23°C).

No campo, as plantas foram instaladas em agosto de 2019 e por isso, a produção do verão de 2020 foi ainda muito residual. Dados recolhidos junto de produtores de pitaia da região revelam que, em estufa e com plantas de 2 e 3 anos, foi possível alcançar uma produção aproximada de 0,5 kg/m².

Apesar de não ter sido possível ainda avaliar com rigor a produtividade da cultura nas condições do Algarve, bem como as suas preferências exatas em termos de cultivo, os resultados obtidos até agora revelam que a pitaia poderá ter um papel de destaque como cultura fruteira na região. Isto deve-se a uma série de pontos de interesse que têm particular destaque por não serem comuns a outras frutas produzidas na região. Entre eles podemos considerar: a sua aparência altamente exótica e atrativa; a sua eficiência hídrica; o alto valor nutritivo e a versatilidade de consumo; a facilidade de produção em modo de produção biológico ou com reduzido impacto ambiental; a elevada adaptabilidade a terrenos mais áridos e a capacidade superior de suportar seca; e a perspetiva de atingir boas produtividades.

Não obstante os pontos vantajosos que o cultivo desta espécie traz para os produtores e para a dinamização da fruticultura da região, é

imprescindível avaliar a aceitação deste fruto no mercado nacional. Com base nos resultados obtidos nas provas organoléticas realizadas na Universidade do Algarve, com frutos provenientes dos ensaios de campo do GO, a perspetiva de aceitação é muito positiva. A grande maioria dos provadores considera possível a inclusão da pitaia como alimento regular da sua dieta futura. Isto está relacionado não só com a sua aparência e sabor exóticos, como também com a crescente preocupação com o bem-estar e a saúde humana.

Palavras-chave: Algarve; cactáceas; fruticultura; frutos exóticos; *Hylocereus* spp.

Abstract:

In the Algarve there are edaphoclimatic conditions favorable to the cultivation of some exotic fruit species from tropical or subtropical climates. The interest in the cultivation of pitaya is based on its compatibility with Algarve conditions, but also on the need to diversify the region's fruit production. With high yields in some countries and being suitable for small plots, pitaya, with an exotic appearance and high nutritional value, is a culture that has attracted both producers and consumers. As this culture is so interesting for being productive, sustainable, and beneficial to human health, the operational group “Dragon Fruit: Validating the productive capacity of the red pitaya” (PDR2020-101-031201) was created. Funded by European Union funds, through the PDR2020 program, its objective is to establish the requirements and problems inherent to the cultivation of this species, developing sustainable and competitive production technologies, adapted to the edaphoclimatic conditions of the Algarve, and enhancing conditions for its expansion.

To fulfill this purpose, plants of white pulp (*Hylocereus undatus*) and red pulp (*Hylocereus costaricensis*) varieties were installed outdoors and in a greenhouse. Tests for planting density, support structures, ground cover, floral induction, variety characterization and soil texture are in place.

When cultivated under suitable conditions, the first flowering of pitaya occurs about a year after planting, from late spring to early autumn, depending on whether the varieties are early or late. The pitaya is a photoperiod dependent plant and, as such, flowering is induced by long days. However, the photoperiod effect depends on the temperature and the emergence of flower buds only occurs when temperatures are similar to those occurring at the normal time of production (average of 23°C).

In the field, the plants were installed in August 2019 and therefore, the production of the summer of 2020 was still very residual. Data collected from pitaya producers in the region reveal that, in a greenhouse and with 2 and 3 years old plants, it was possible to achieve an approximate production of 0.5 kg/m².

Although it has not yet been possible to rigorously assess the crop's productivity under Algarve conditions, as well as its exact preferences in terms of cultivation, the results obtained so far reveal that pitaya may play a prominent role as a fruit crop in the region. This is due to a series of points of interest that are particularly noteworthy because they are not common to other fruits produced in the region. Among them we can consider its highly exotic and attractive appearance; its water efficiency; the high nutritional value and the versatility of consumption; the ease of production in organic production mode or with reduced environmental impact; the high adaptability to more arid terrains and the superior capacity to withstand drought; and the prospect of achieving good productivity.

Notwithstanding the advantages that the cultivation of this species brings to producers and to the dynamization of fruticulture in the region, it is essential to evaluate the acceptance of this fruit in the national market. Based on the results obtained in the organoleptic tests carried out at the University of Algarve, using fruits from field trials at the GO, the prospect of acceptance is very positive. Most tasters consider it possible to include pitaya as a regular food in their future diet. This is related not only to their exotic appearance and taste, but also to the growing concern for human health and well-being.

Keywords: Algarve; Cactaceae; Exotic fruits; Fruit crops; *Hylocereus* spp.

Introdução

A procura de novos frutos nos mercados europeus tem tido um crescimento acentuado nos últimos anos. No caso dos frutos tropicais e subtropicais, o seu cultivo na Europa é limitado pelo clima e, por isso, está restringido aos países do sul do continente. Portugal é um desses países. Além disso, Portugal, pela sua dimensão e pelo predomínio do minifúndio, tem dificuldade em competir nas grandes culturas e poderá ser mais competitivo no cultivo de novas espécies, particularmente das subtropicais.

A região do Algarve, além de apresentar condições ímpares no que diz respeito ao cultivo de algumas espécies fruteiras exóticas, tem condições para a produção de fruta temporã que se apresenta no mercado fora da época normal de produção de outras regiões. Esta fruta é comercializada no mercado nacional e internacional com preços mais vantajosos para os agricultores.

Alguns agricultores da região algarvia têm vindo a sentir a necessidade de diversificar as suas culturas. A pitaia possui características que parecem fazer dela uma espécie adaptável às condições em questão.

O GO “Fruta Dragão: Validar a capacidade produtiva da pitaia vermelha”, financiado por fundos da União Europeia, através do programa PDR2020, tem como propósito o estudo das necessidades e problemas associados ao cultivo desta espécie, para que possam ser estabelecidas tecnologias de produção sustentáveis e competitivas, adaptadas às condições edafoclimáticas do Algarve, assim como, potenciar condições para a sua expansão.

Pertencente à família das cactáceas, a pitaia caracteriza-se pela elevada adaptabilidade a ambientes adversos, sendo capaz de sobreviver sob condições ambientais adversas, nomeadamente de seca, que seriam fatais para outras espécies fruteiras (Nerd e Neumann, 2004). Estas particularidades devem-se a mecanismos de adaptação, tais como modificações no caule (classificado morfológicamente como cladódio), que lhes permite a acumulação de água, a ausência de folhas, a presença de uma camada cerosa no caule (apenas em algumas variedades) e a presença do mecanismo ácido das crassuláceas (CAM) (Fournet, 2002). Este mecanismo possibilita-lhes a abertura dos estomas durante a noite e o fecho dos mesmos durante o dia, o que conduz a um uso mais eficiente dos recursos hídricos disponíveis (Weiss et al., 2010) e, como tal, há minimização dos impactos negativos das alterações climáticas que se têm agravado nos últimos anos (Nunes et al., 2006).

Para que a otimização da técnica de produção seja alcançada, estão a decorrer ensaios que permitem testar a produtividade, rusticidade, qualidade dos frutos e características organoléticas das pitaias de polpa branca e vermelha. Isto implica experimentar diferentes práticas culturais essenciais à cultura, tais como podas, rega, fertilização e colheita. Sendo necessário também estabelecer quais os inimigos da cultura na região, é indispensável a avaliação da fitopatologia, através da identificação nos campos de testagem, do ataque de insetos, fungos, bactérias ou vírus. Por último, deverá proceder-se à análise dos compostos bioativos não só nos frutos como também na planta em si.

As características organoléticas dos frutos e a sua aceitação por parte dos consumidores são os últimos pontos chave do estudo desta cultura. Estas características (sabor, açúcares, acidez, textura e aroma) das diferentes espécies de pitaia vermelha deverão satisfazer as exigências dos consumidores.

Material e métodos

No âmbito do projeto de I&D PDR2020101-031201 – Fruta dragão - "Fruta dragão: Validar a capacidade produtiva da pitaia vermelha", a primeira tarefa baseou-se no levantamento da situação desta cultura em Portugal, em plantações ou como plantas isoladas, recolhendo informação sobre a presença da pitaia no país, mas atribuindo particular ênfase aos produtores sediados no Algarve. O estabelecimento dos contactos com produtores de pitaia, que a cultivam em diferentes condições edafoclimáticas e de cultivo, permitiu fazer observações sobre essas plantas, de forma a relacionar o crescimento e a produção da planta com as condições de cultivo e práticas culturais. Este levantamento ajudou na definição dos ensaios que seria mais interessante instalar.

Assim, instalaram-se ao ar livre, em Cacela Velha (Figura 1 e 2):

- a. Plantas de diferentes espécies e cultivares e provenientes de várias origens, formando assim uma coleção que já tem cerca de 15 acessos, e que é atualizada conforme a aquisição de novo material vegetal;
- b. Plantas de *H. undatus* para os ensaios de:
 1. cobertura de solo, onde se compara a performance das plantas com mulching e com tela anti-ervas, como cobertura de solo;
 2. estrutura de suporte, com sistemas de condução modernos e um outro convencional;

3. densidade de plantação, onde se têm plantas colocadas a 1 m e a 0,5 m uma da outra;
4. técnicas de indução floral, baseadas na quebra da noite e no sombreamento, para potenciar a produtividade em botões florais (Figura 3, 4 e 5).

Com o objetivo de analisar e comparar o desenvolvimento destas plantas em diferentes sistemas de cultivo, para além dos ensaios de campo, estão a decorrer ensaios em estufa, no viveiro Mil Plantas, em Estoi. Aqui está estabelecida também uma coleção de variedades, um ensaio que visa estabelecer as preferências desta cultura quanto à textura de solo (Figura 6 e 7), e ainda um ensaio com uma estrutura de suporte inovadora para testar a vertente ornamental da cultura (Figura 6).



Figura 5 - Vista aérea do campo de ensaios ao ar livre, em Cacela Velha.



Figura 6 - Exemplo de sistema de condução inovador, no campo de ensaios ao ar livre, em Cacela Velha.



Figura 7 - Ensaio de indução floral, com recurso à iluminação artificial no campo de ensaios ao ar livre, em Cacela Velha.



Figura 8 - Botões florais e flor aberta nas primeiras horas da manhã da variedade 'Tesoro', nos ensaios em estufa.



Figura 9 - Ensaio de indução floral com rede de sombreamento no campo de ensaios ao ar livre, em Caceia Velha.



Figura 10 - Vista geral dos ensaios em estufa no viveiro Mil Plantas, em Estoi.



Figura 11- Plantas do ensaio de textura de solo, em estufa.

Principais Resultados:

Nas condições do Algarve, o aparecimento dos primeiros botões florais dá-se no final da primavera, mas a floração prolonga-se até princípios

do outono (N'Guyen, 1996), sendo mais intensa em pleno verão. O desenvolvimento do botão floral é considerado muito rápido (25 a 35 dias) e vão surgindo novos botões, por camadas, ao longo daquele período (Figura 4).

Uma das particularidades desta cultura tem que ver com a abertura da flor: cada flor abre apenas uma vez e mantém-se aberta durante um período de apenas algumas horas, durante a noite. Encontra-se completamente aberta às 22 h e mantém-se assim até às primeiras horas da manhã, altura em que começa a murchar gradualmente. Sendo assim, seria natural que a polinização estivesse maioritariamente dependente de insetos polinizadores noturnos tais como morcegos, cuja presença na região é escassa (Horáček, 1984). Apesar disto, como as flores de pitaia são bastante aromáticas e estão ainda abertas ao amanhecer, as abelhas são fortemente atraídas por esse odor (Le Bellec et al., 2006).

No campo de ensaios estabelecido ao ar livre, em Cacela Velha, os primeiros botões florais surgiram no final de julho de 2020, cerca de um ano após a plantação, e os últimos, em setembro. Aqui foi possível testar duas modalidades de polinização: 1) livre, pela ação das abelhas nas primeiras horas do dia, e 2) manual, através da aplicação sobre o estigma de uma mistura de pólen das flores que se encontravam abertas naquela noite. Todos os frutos vingaram e como tal, ambas as modalidades de polinização se revelaram eficazes. Para além disso verificou-se que, desde que estejam presentes em abundância, as abelhas podem ser eficazes na polinização durante as primeiras horas da manhã, antes da flor murchar (Muniz et al., 2019). Pelas observações realizadas, as abelhas são ainda consideradas as visitantes mais abundantes das flores de pitaia na região.

A antese da última flor da temporada ocorreu a finais de setembro e, devido ao decréscimo da temperatura característico do início do

outono, o processo de desenvolvimento do fruto até à maturação foi prolongado, chegando a demorar dois meses e meio, em vez dos típicos 30-35 dias que demora em pleno verão. O fruto correspondente à última flor polinizada foi colhido em dezembro.

No primeiro ano após a plantação só 7% das plantas produziram frutos. De entre as que produziram, a produção média foi de 1,5 frutos por planta, tendo havido plantas que produziram 6 frutos. As diferenças de produtividade no primeiro ano podem estar relacionadas com o tamanho da planta no momento da plantação e também com o estado fisiológico da mesma. Em estufa não se obteve produção, possivelmente devido à temperatura excessivamente alta (superior a 38°C).

Todos os frutos dessa temporada seguiram para laboratório, onde se procedeu a análises não destrutivas (peso, diâmetro longitudinal, diâmetro equatorial, contagem do número de brácteas e medição das mesmas) e a análises destrutivas (medição da espessura da casca, do teor de sólidos solúveis totais e da acidez titulável).

De seguida, os mesmos frutos foram sujeitos a provas organoléticas, onde o objetivo foi apurar a aceitabilidade do consumidor (80%). Foi possível aferir algumas preferências em relação às variedades, mas os dados acabaram por não ser conclusivos, uma vez que a maior parte dos frutos era de *H. undatus* (polpa branca) e havia poucos frutos de variedades de polpa vermelha. O aspeto mais positivo teve que ver com o desejo dos consumidores em inserir a pitaia numa dieta futura.

No segundo ano após a plantação, quase todas as plantas apresentaram alguma floração e frutificação. Nos ensaios em estufa, os primeiros botões florais surgiram em meados de abril em diversas variedades de polpa vermelha e numa de polpa branca, a 'Connie Mayer', muito apelativa para fins ornamentais (Figura 13).



Figura 12- Ação das abelhas numa flor de pitáia nas primeiras horas da manhã.



Figura 13 - Flor da variedade 'Connie Mayer'.

Nas plantas de *H. undatus* instaladas sob as mesmas condições os primeiros botões florais só surgiram em junho de 2021, o que pode ser demonstrativo do seu carácter mais tardio.

A variedade que se tem revelado como a mais produtiva em botões florais durante a primavera é a 'Tesoro', tendo sido registados mais de dez botões por planta na primeira floração, entre abril e maio de 2021. Ainda assim, estas plantas têm apenas um ano de idade e muitos dos botões abortaram.

Nos ensaios de campo, as primeiras flores a surgir foram as da cultivar 'JC01'. A espécie *H. undatus* só iniciou a floração no princípio do mês de julho. O pico de floração desta cultivar foi registado na primeira semana de agosto. Neste período foram contabilizadas em média 1,25 flores por planta, num ensaio de quatrocentas plantas. A partir daí foram surgindo novas camadas de botões florais, sendo que até setembro estão

registados cerca de quatro picos de floração. A média de frutos por planta ronda os quatro frutos.

Referências Bibliográficas

- Fournet, J. 2002. Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique, Famille des Cactaceae. Inra-Cirad-Gondwana 224–240.
- Horáček, I. 1984. Remarks on the causality of population decline in european bats. *Myotis* 21/22, 138–147.
- Le Bellec, F., Vallant, F. e Imbert, E. 2006. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits* 61, 3–7. <https://doi.org/10.1051/fruits>
- Muniz, J.P. de O., Bomfim, I.G.A., Corrêa, M.C. de M. e Freitas, B.M. 2019. Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. *Rev. Cienc. Agron.* 50, 640–649. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20190076>
- N’Guyen, V.K. 1996. Floral induction study of dragon fruit crop (*Hylocereus undatus*) by using chemicals. Univ. Agric. For. Fac. Agron., Hô Chi Minh-ville, Vietnam 54.
- Nerd, A. e Neumann, P.M. 2004. Phloem Water Transport Maintains Stem Growth in a Drought-stressed Crop Cactus (*Hylocereus undatus*). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 129, 486–490. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.4.0486>
- Nunes, L., Monteiro, J.P., Cunha, M.C., Vieira, J., Lucas, H. e Ribeiro, L. 2006. The water crisis in southern Portugal: How did we get there and how should we solve it. *WIT Trans. Ecol. Environ.* 99, 435–444. <https://doi.org/10.2495/RAV060431>
- Weiss, I., Mizrahi, Y. e Raveh, E. 2010. Effect of elevated CO₂ on vegetative and reproductive growth characteristics of the CAM plants *Hylocereus undatus* and *Selenicereus megalanthus*. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 123, 531–536.

GO GoFigoProdução - Melhorar a qualidade e produtividade dos figueirais através da modernização das técnicas utilizada e da eficiente utilização do solo



Parceria

ROSAGRO – Sociedade Agrícola, Lda (**Líder**);

Casal dos Cardos – Sociedade Agrícola;

COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P.;

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

Qualifica – oriGIn Portugal

Palavras-chave: fertilização; coberto vegetal; poda; pragas e doenças; competitividade.

Website: <https://gofigo.webnode.pt/>

Investimento total: 269 844,95€

Logótipos dos Parceiros



Casal dos Cardos
Sociedade
Agrícola, Lda



Objetivos do GO GoFigoProdução

1. Aumentar a qualidade e quantidade de produção de figos nas cultivares “Figo Preto de Torres Novas” e “Pingo de Mel”.
2. Reduzir custos com mão-de-obra, através da redução do porte das figueiras.
3. Aumentar o calibre dos frutos e da resistência da epiderme, através de fertilizações equilibradas.
4. Conservar e/ou aumentar o teor de matéria orgânica no solo, através da manutenção do coberto vegetal natural.
5. Tornar a cultura ambientalmente sustentável, através da identificação de algumas pragas e doenças e métodos adequados para o seu controlo.
6. Divulgar boas práticas com base nos resultados e garantir a competitividade do figo torrejano.

Equipa do GO GoFigoProdução

Entidade	Pessoas
Casal dos Cardos	Pedro Carvalho
COTHN	Carmo Martins;
	Clara Ramalho
	Helder Coelho
INIAV	Cláudia Sanchez
	João Vieira
	Rui Maia de Sousa
ISA	Cristina Oliveira
Qualifica	Ana Soeiro
	Paula Lourenço
Rosagro	Ana Calapez
	Michele Lascasas Rosa
	Nelson Prazeres

GoFigoProdução - Melhorar a qualidade e produtividade dos figueirais através da modernização das técnicas utilizada e da eficiente utilização do solo

Rui M. Sousa¹, Cristina Oliveira², Cláudia Sanchez¹, Ana Calapez⁴, João Vieira¹ e Michele Rosa^{3*}

¹INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – Polo de Alcobaça, Rua de Leiria, 2460-065 Alcobaça

²ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017

³Rosagro, Sociedade Agrícola, Lda., Rua da Escola, 9, Adofreire, 2350-221 Pedrógão, Torres Novas

*E-mail: rosagrodoceterra@gmail.com

Resumo

O Grupo Operacional GoFigoProdução nasceu da necessidade, sentida por alguns produtores da região de Torres Novas, de relançar a produção de figo, retomando em moldes mais modernos, produtivos e sustentáveis, uma tradição antiga do território. Para isso, delineou-se um projeto que visou comparar os resultados das técnicas de cultivo e manutenção das figueiras de “Figo Preto de Torres Novas” e “Pingo de Mel” tradicionalmente usados por agricultores locais, com os resultados da aplicação de métodos racionais, ou seja, baseados em análises laboratoriais e práticas mais sustentáveis. A escolha destas duas cultivares está relacionada com a sua presença e importância na região. O principal objetivo do Grupo Operacional GoFigoProdução é a melhoria da qualidade e produtividade das figueiras, através da modernização das técnicas utilizadas e do eficiente uso do solo de forma a tornar a cultura ambientalmente sustentável. O projeto visa igualmente garantir a competitividade do figo torrejano.

Logo no primeiro ano de vigência do projeto demarcaram-se campos de demonstração, em que foram introduzidas práticas alternativas de cultivo. As diferenças na quantidade e qualidade dos figos, assim como

o pH, o teor de matéria orgânica e de nutrientes no solo, foram aferidas através de análises ao solo e de nutrientes nas folhas através da análise de folhas.

Ao fim de quatro anos as tendências começam a observar-se. Corrigiram-se as práticas tradicionais de fertilização, resultando em mais frutos com maior calibre, mais peso e menos suscetíveis de queda precoce. A não mobilização do solo permite concentrar mais nutrientes. A poda de inverno e verão influencia positivamente o calibre.

Parece que as técnicas de cultivo racionais resultam num aumento da quantidade e qualidade dos frutos, sustentabilidade dos pomares e aumento da rentabilidade. Na sequência destes resultados já foi criado um agrupamento de produtores, que está a instalar pomares seguindo as novas técnicas propostas, as quais serão fixadas em caderno de encargos.

Palavras-chave: fertilização; coberto vegetal; poda; pragas e doenças; competitividade.

Abstract

This project is based on the needs of fig producers from Torres Novas region. It aims to modernize fig production techniques, regarding for sustainability. Demonstration fields were demarcated, in which alternative cultivation practices were introduced and compared to farmers practices. Two different cultivars were used namely “Figo Preto de Torres Novas” e “Pingo de Mel” that are the most important at the region. Pruning, fertilization and soil maintenance were considered. Soil analysis as well as foliar analysis were the base for fertilization. Impact of studied techniques were evaluated through productivity and quality of the figs. After four years, trends are clearly outlined. Traditional fertilization practices have been corrected, resulting in more

fruits with a higher caliber, more weight and less susceptible to early fall. The non-mobilization of the soil allows to concentrate more nutrients. Winter and summer pruning positively influences the caliber. Rational cultivation techniques result in an increase in the quantity and quality of the fruits, sustainability of the orchards and an increase in profitability. Following these results, a grouping of producers has already been created, which is installing orchards following the new techniques proposed, which will be set out in the specifications.

Keywords: fertilization; soil management; pruning; pests and diseases; competitiveness.

Introdução

A produção do Figo Preto de Torres Novas ou também conhecido como “Mulato” ou “Industrial” remonta ao princípio do século XIX. Foi por esta altura que começou a plantação de figueirais em Torres Novas, como alternativa para a produção de matéria-prima para o fabrico do álcool, isto porque a cultura da vinha estava a ser dizimada pela filoxera, doença que destruiu grandes áreas desta cultura no país. Surgiram assim vastos figueirais, predominando a variedade Figo Preto de Torres Novas que, bem-adaptada às condições edafoclimáticas existentes, foi ganhando importância económica. Até aos finais da década de 70, do século passado, a Administração Geral do Açúcar e do Alcool garantia o escoamento de todo o figo para fabrico de álcool. O surgimento de alternativas mais baratas para a produção do álcool, como a beterraba sacarina, fez com que esse destino comercial do figo deixasse de ser rentável.

A produção de figo seco continuou a fazer-se, mas unicamente para o consumo humano ou animal e residualmente para a produção de aguardente. O preço da mão-de-obra para a colheita e a não valorização

do figo seco tornou-se mais um entrave à continuidade da cultura de uma forma extensiva e rentável.

No entanto, devido ao conhecimento dos benefícios do figo para a saúde humana, o consumo está a aumentar um pouco por todo o mundo, pelo que faz todo o sentido relançar esta cultura, tanto mais que a cultura da figueira ainda é tradicional na região de Torres Novas.

Para tentar mudar o rumo das coisas começou a constituir-se, em 2016, um Grupo Operacional (GO), denominado GoFigoProdução, liderado por uma empresa produtora de figo, a Rosagro – Sociedade Agrícola, Lda., que formou um consórcio com mais cinco entidades no âmbito deste GO e que são: COTHN, Associação Qualifica/oriGIn Portugal, Casal dos Cardos – Sociedade Agrícola Lda., INIAV, I.P.- ENFVN e ISA.

Os objetivos deste GO são melhorar a produtividade dos figueirais através da modernização das técnicas utilizadas e da eficiente utilização do solo; aumentar a qualidade e quantidade de produção de figos nas cultivares ‘Preto de Torres Novas’ e ‘Pingo de Mel’; reduzir os custos com mão-de-obra através da redução do porte das figueiras; aumentar o calibre dos frutos e a resistência da epiderme, através de fertilização equilibrada; conservar e/ou aumentar o teor de matéria orgânica no solo, através da manutenção do coberto vegetal natural; tornar a cultura ambientalmente sustentável, através da identificação de algumas pragas e doenças e métodos adequados para o seu controlo. No último ano divulgam-se as boas práticas com base nos resultados obtidos.

Material e Métodos

Para atingir os objetivos propostos definiu-se que deveriam ser comparadas técnicas culturais tradicionais com técnicas mais sustentáveis. As técnicas culturais a comparar são três: poda, fertilização e manutenção do solo. Para cada técnica cultural utilizam-se duas modalidades fazendo a sua comparação.

No caso da poda compara-se a poda de inverno (Pinv), que é o tradicional na região e a poda de inverno e verão (Pinv+ver), sendo a poda de verão a técnica cultural introduzida.

Na fertilização compara-se a fertilização tradicional (Ft), sem base em análises de solo e folhas, mas sim na intuição/tradição do produtor, com a fertilização racional (Fr) baseada em análises de solo e de folhas.

Na manutenção do solo é comparada a manutenção do solo através de gradagem (mobilização) (MSm), prática tradicional realizada pela maioria dos produtores, com a manutenção do solo através do corte mecânico do coberto vegetal natural (MScv).

Para cada uma das técnicas culturais selecionaram-se dois campos de demonstração por cada variedade.

Cada modalidade é composta por 5 árvores com 3 repetições, totalizando 15 árvores/modalidade (Figura 1).



Figura 1 – Figueira marcada em campo de ensaio.

A demonstração de cada uma das técnicas culturais incide sobre duas variedades cultivadas na região de Torres Novas, ‘Preto de Torres Novas’ e ‘Pingo de Mel’ (Figuras 2 e 3).

A produção do Figo Preto de Torres Novas ou também conhecido como “Mulato” ou “Industrial” remonta ao princípio do século XIX. Foi por esta altura que começou a plantação de figueirais em Torres Novas,

como alternativa à cultura da vinha que foi dizimada pela filoxera, doença que destruiu grandes áreas desta cultura no país.



Figura 2 - Variedade “Figo Preto de Torres Novas.”



Figura 3 - Variedade “Pingo de Mel”.

A variedade de figo ‘Preto de Torres Novas’ é bífera (produz figos lampos e vindimos), não necessitando de caprificação. A produção de figos lampos é pequena. A maturação dos figos vindimos dá-se no início de agosto. Os frutos são de pequeno calibre e arredondados. A epiderme é totalmente violácea, lisa, baça, com pouco polvilho e com fendilhamento irregular pouco marcado (Figura 2). Os frutos apresentam um elevado teor em açúcar sendo por isso a variedade de melhor rendimento em álcool (Sousa, 1988).

É uma variedade com pouco interesse cultural para consumo em fresco dado que os frutos são muito pequenos, pouco resistentes ao transporte e perecíveis. Estes figos, que outrora eram transformados em álcool, são hoje em dia comercializados e muito apreciados em seco ou “passa”.

A variedade ‘Pingo de Mel’ é também bífera, não necessitando de caprificação, mas fundamentalmente produtora de figos vindimos devido à produção diminuta e grande queda natural de figos lampos. A maturação dos figos vindimos é escalonada, iniciando-se em agosto e podendo ir até finais de setembro. Os figos são de calibre médio, a epiderme é verde-amarelada e são muito resistentes ao transporte (Figura 3). Esta variedade produz um pingo no ostíolo do figo maduro que se assemelha a um pingo-de-mel e impede a passagem de insectos ou fungos. Os figos têm aptidão e podem ser comercializados em fresco ou em seco (Sousa, 1988).

No primeiro ano da demonstração (2018) analisou-se o solo de cada um dos locais das unidades de demonstração. Analisaram-se ainda as folhas das figueiras de cada uma das modalidades por técnica cultural. As folhas são colhidas no terço médio do lançamento do ano (Figura 4 e 5).

A fertilização tradicional foi realizada em março e a fertilização racional em março e maio, sendo os fertilizantes aplicados a lanço na projeção da copa das figueiras.

A fertilização racional no primeiro ano (2018) foi com base nas análises de solo existentes. Nos anos seguintes, 2019 e 2020, a fertilização racional baseou-se na análise de solos efetuada em 2018 e análise de folhas. As unidades aplicadas em cada ano tiveram como referência os valores constantes no Manual de fertilização das culturas (LQARS, 2006).

Na demonstração das técnicas de manutenção do solo, a mobilização do solo realizou-se em maio, assim como o corte do coberto vegetal. Na modalidade solo mobilizado, na primeira quinzena de agosto foi utilizado um rojão debaixo das figueiras para alisar o solo e facilitar a secagem e colheita dos figos.

Para avaliar os figos em fresco e determinar o rendimento em figo seco realizaram-se três colheitas por variedade e modalidade em cada ano. A primeira colheita realizou-se sensivelmente uma semana após o início

da maturação dos figos, a segunda quinze dias depois, e a terceira quinze dias depois da segunda. Em cada colheita, nas 15 figueiras de cada modalidade, colheram-se ao acaso 60 figos, ou seja, quatro por figueira sendo um por cada quadrante.



Figura 4 - Colheita de folhas por cada quadrante de cada figueira.



Figura 5 - Recolha de folhas para análise.

Na demonstração das técnicas culturais de poda, a poda de inverno realizou-se em fevereiro em ambas a modalidade, e a poda de verão na primeira quinzena de junho (Figura 6).



Figura 6 - Demonstração das técnicas de poda. Poda de verão (em verde).

Destes 60 figos, 40 foram pesados e colocados a secar pelo processo tradicional, ao sol. Passado cerca de 10 a 15 dias, dependendo do calor, os 40 figos foram novamente pesados. Pela diferença do peso inicial e final determinou-se o rendimento em figo seco. Estes 40 figos secos foram observados individualmente em laboratório para avaliar o seu estado sanitário e classificá-los segundo o peso em figos flor ($> 13g$), figos tulha (7 a $12g$) e figos caldeira ($< 7g$).

Os restantes 20 figos de cada amostra foram analisados individualmente. O calibre, a altura e o comprimento do pedúnculo foram medidos com uma craveira (em mm) (Figura 7); a massa (g) foi determinada numa balança de bancada; a dureza foi determinada através do equipamento Durofel e expressa em unidades Durofel (Figura 7); o teor de sólidos solúveis totais (TSS) foi medido com um refratómetro e os valores são expressos em graus Brix ($^{\circ}\text{Brix}$).



Figura 7 - Medição de parâmetros do figo fresco (variedade Pingo de Mel)

A determinação da produção total/ha de cada modalidade foi determinada através da contagem de todos os figos colhidos em seco e pesados, em cinco figueiras de cada modalidade. Esta contagem e colheita foi efetuada pelo proprietário de cada campo de demonstração.

A análise estatística dos resultados foi efetuada com recurso ao programa 'AgroEstat', através da análise de variância (ANOVA) a dois fatores (localização e modalidade). Para cada varável analisada foi calculado o valor médio e o respetivo erro padrão médio. Foi efetuada a comparação múltipla entre as médias através do teste de Tukey para um nível de significância (α) igual a 0,05.

Resultados e discussão

Os solos nos quais estão instalados os campos de demonstração são de uma forma geral pouco alcalinos a alcalinos ($7,5 < \text{pH} < 8,3$). Os teores de calcário total (expresso em $\% \text{CaCO}_3$) variam entre 1,0 e 4,3% e o calcário ativo está acima de 10% em 6 das 9 amostras analisadas. Os teores de matéria orgânica são baixo a média (1,4 – 2,9%) com exceção de um campo com 3,9%. As concentrações de potássio (K_2O) variam entre 121 e 379 mg kg^{-1} sendo em todos os solos acima da classe média. As concentrações de fósforo (P_2O_5) variam entre 48,5 a 145 mg kg^{-1} sendo médias a altas à exceção de uma amostra que é baixa (15,8 mg kg^{-1}). Os teores de zinco são baixos ($< 1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e os teores de boro são médios ($> 0,31$ e $< 0,84 \text{ mg kg}^{-1}$).

Em relação às análises de folhas de 2019, os teores de potássio nas folhas da variedade 'Pingo de Mel' são muito menores na modalidade solo mobilizado (MSm) quando comparados com os da modalidade coberto vegetal (MScv). Os teores de zinco encontram-se baixos em todas as modalidades.

Nas folhas da variedade 'Preto de Torres Novas' os teores de enxofre e fósforo são superiores na modalidade fertilização racional (Fr) quando

comparados com os da modalidade fertilização tradicional (Ft), possivelmente devido à aplicação de superfosfato 18% que contém na sua composição 11,6% de enxofre.

Os teores em cálcio e magnésio nas folhas da variedade 'Pingo de Mel' são baixos, enquanto nas folhas da variedade 'Preto de Torres Novas' os teores destes nutrientes encontram-se acima do valor adequado.

Parece que as exigências nutricionais das variedades 'Pingo de Mel' e 'Preto de Torres Novas' são distintas, especialmente no caso do azoto, cálcio e magnésio. Aksoy & Akyuz (1993) referem que na Turquia determinaram diferenças significativas nos teores de K, Ca e Mg entre variedades de figueiras nas mesmas condições de solo.

Variedade 'Preto de Torres Novas' – figo seco

Os resultados preliminares dos primeiros dois anos dos campos de demonstração revelam que na variedade 'Preto de Torres Novas' e no caso da técnica cultural fertilização, a modalidade Fr apresenta maior produção com diferenças significativas em relação à modalidade Ft, tanto em 2018 como 2019 (Figura 8).

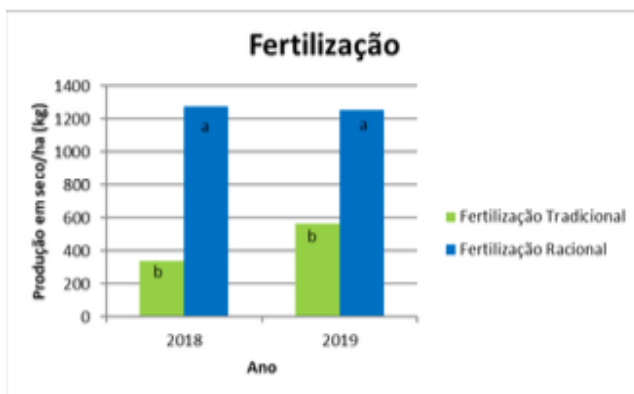


Figura 8 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Preto de Torres Novas' nas modalidades Fertilização nos anos de 2018 e 2019.

Em relação ao rendimento em figo seco, em 2019, a modalidade Fr teve maior rendimento (36,48%) embora sem diferença significativa para a modalidade Ft (34,35%). Na apreciação dos figos secos não existiram diferenças significativas.

Nas modalidades de poda a produção foi idêntica entre modalidades, sem diferenças significativas, no entanto superior na modalidade Pinv+ver (Figura 9). O rendimento teve comportamento idêntico. Na apreciação dos figos secos o peso dos figos foi superior na modalidade Pinv + ver, no entanto sem diferenças significativas.

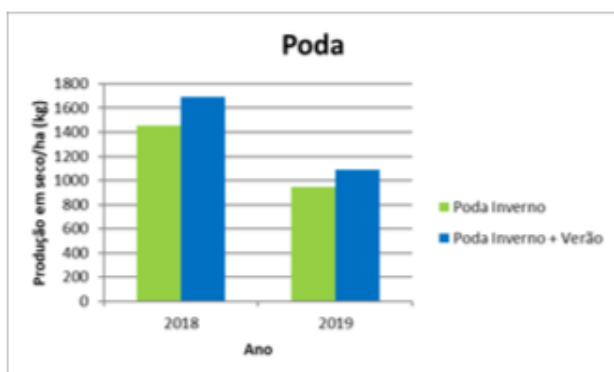


Figura 9 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Preto de Torres Novas' nas modalidades Pinv e Pinv+ver anos de 2018 e 2019.

Em 2018, não houve diferenças significativas entre as modalidades da manutenção do solo. Contudo, em 2019, a modalidade MSm teve uma produção superior a MScv, com diferenças significativas (Figura 10). O rendimento em figo seco também foi ligeiramente superior na modalidade MSm. Também não existem diferenças significativas em relação à apreciação dos figos secos, no entanto em 2019, a modalidade MScv teve maior percentagem de figos sãos.

No Quadro 1 apresenta-se um resumo dos resultados das diferenças modalidades para a variedade Figo Preto de Torres Novas.



Figura 10 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Preto de Torres Novas' nas modalidades MSm e MSCv nos anos de 2018 e 2019.

Quadro 1 - Quadro resumo comparativo dos resultados da aplicação de técnicas tradicionais e racionais. Figo Preto de Torres Novas (seco).

Variedade	Modalidade		Dados Produção	Rendimento figo seco	Apreciação dos figos secos
Figo Preto Torres Novas	Poda	Inverno	Produtividade em fresco 0,7 a 35,97g/cm ² ; peso figo fresco 20,44 a 10,47g. Ainda não é possível aferir a influência do tipo de poda, comportamentos diferentes em ambos os locais.	Rendimento do figo seco 33,41% e 36,7%. Os comportamentos são semelhantes em ambos os locais pelo que não é possível aferir o efeito da poda.	O peso dos figos é superior na modalidade poda de inverno e verão em ambos os anos. O TSS não apresenta diferenças significativas entre as modalidades.
		Inv + Verão			
	Fertilização	Tradicional	A fertilização racional apresenta maior produtividade em ambos os locais.	As modalidades tiveram comportamentos opostos entre os locais .	Não existem diferenças significativas entre as modalidades relativamente ao peso dos figos em ambos os anos. No entanto na fertilização racional, o peso dos figos é ligeiramente superior.
		Racional			
	Manutenção do solo	Mobilização	A produtividade em seco mostrou-se mais elevados no coberto vegetal em ambos os campos.	As modalidades tiveram comportamentos opostos entre os locais .	Não existem diferenças significativas entre as modalidades, também não existem alterações significativas nos valores de calibre, peso e TSS de um ano para o outro
		Não Mobilização			

Variedade 'Preto de Torres Novas' - figo fresco

O efeito da fertilização é significativamente diferente no parâmetro calibre e peso dos figos fresco, tendo estes parâmetros valores superiores na modalidade Fr. Em relação ao parâmetro SST não existem diferenças significativas.

Na técnica cultural poda, os figos das diferentes modalidades não revelaram diferenças significativas nos três parâmetros em análise.

Na técnica cultural manutenção do solo as modalidades também não revelaram diferenças significativas.

Variedade 'Pingo de Mel' - figo seco

A variedade 'Pingo de Mel' tem revelado um comportamento distinto da variedade 'Preto de Torres Novas'. Na técnica cultural fertilização, a Ft apresenta maior produção embora sem diferenças significativas para a modalidade Fr (Figura 12). Em relação ao rendimento em seco a Fr induziu maior rendimento, mas sem diferenças significativas para a modalidade Ft. Na apreciação dos figos secos não existiram diferenças significativas entre modalidades.



Figura 12 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Pingo de Mel' nas modalidades Ft e Fr nos anos de 2018 e 2019.

Nas modalidades de poda a produção foi superior na modalidade Pinv + ver mas sem diferenças significativas entre modalidades (Figura 13). Em 2018, o rendimento foi de 1400 kg/ha a 1900 kg/ha, e, em 2019 de 2100 kg/ha e 2700 kg/ha, sendo estatisticamente semelhante entre modalidades, assim como na apreciação dos figos.

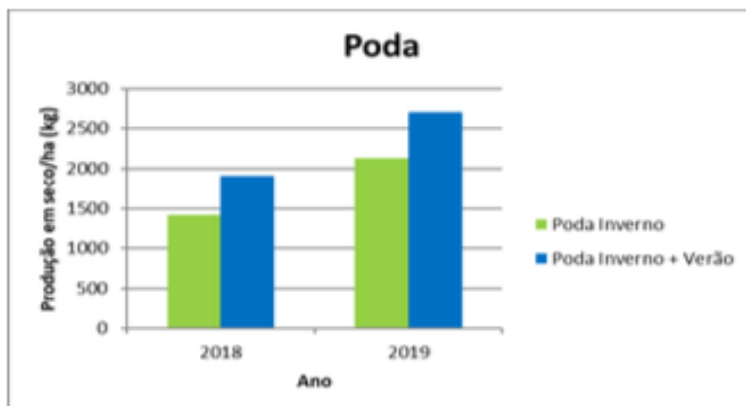


Figura 13 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Pingo de Mel' nas modalidades Pinv e Pinv+ver nos anos de 2018 e 2019.

Na técnica cultural manutenção do solo a produção foi de 1500 kg/ha em 2018 e 2400 kg/ha em 2019 na mobilidade MSm, sendo superior à da modalidade MScv, que foi de aproximadamente 750 kg/ha em 2018 e 1400 kg/ha em 2019, observando-se diferenças significativas entre modalidades, tanto em 2018 como em 2019 (Figura 14).



Figura 14 - Produção de figo seco/ha na variedade 'Pingo de Mel' nas modalidades MSm e MScv nos anos de 2018 e 2019.

O rendimento em figo seco não foi conclusivo uma vez que os valores foram divergentes nos anos de 2018 e 2019.

Os figos da modalidade MScv revelaram-se mais sãos do que os da modalidade MSm.

No Quadro 2 apresenta-se um resumo dos resultados das diferenças modalidades para a variedade Pingo de Mel.

Quadro 2 - Quadro resumo comparativo dos resultados da aplicação de técnicas tradicionais e racionais. Pingo de Mel (seco).

Variedade	Modalidade		Dados Produção	Rendimento figo seco	Apreciação dos figos secos
Figo Pingo de Mel	Poda	Inverno	Produtividade em fresco 26,37 a 328,16g/cm ² ; peso figo fresco 16,22 a 42,9g. A poda de inv + verão teve maior produtividade em ambos os locais do ensaio.	Não existem diferenças significativas em ambos os anos.	Não é clara.
		Inv + Verão			
	Fertilização	Tradicional	A fertilização racional parece ter um influência na produtividade e no peso médio dos figos. No entanto a fertilização tradicional teve maior produtividade.	A fertilização racional influencia positivamente o rendimento do figo em seco.	Não existem diferenças significativas em ambos os ensaios.
		Racional			
	Manutenção do solo	Mobilização	O solo mobilizado mostrou uma maior produtividade em ambos os locais.	Não existem diferenças significativas em ambos os campos.	Existem tendência de aumento do peso nos frutos com coberto vegetal, mas vamos aguardar mais um ano.
		Não Mobilização			

Variedade 'Pingo de Mel' - figo fresco

Ainda não é claro o efeito das modalidades da fertilização e da manutenção do solo na qualidade dos figos frescos. Na técnica cultural poda, a modalidade Pinv + ver parece influenciar positivamente o calibre e o peso dos figos. A modalidade Pinv parece ter um efeito positivo no SST dos figos.

Conclusões

Os campos de demonstração foram instalados, na maioria dos casos, em pomares com mais de 30 anos de idade, em que a reação das figueiras às técnicas que se pretendem demonstrar é morosa. Decorridos três anos de observações nos diferentes campos de demonstração e com base nos resultados dos dois primeiros anos as tendências começam a surgir. No caso da variedade 'Preto de Torres Novas' parece que a fertilização racional (Fr) está a influenciar positivamente a produção.

Na variedade 'Pingo de Mel' a fertilização racional não está a influenciar positivamente a produção. No caso da poda, a de inverno e verão (Pinv+ver) parece induzir maior produção.

Com os resultados comparativos das análises de solo efetuados no início e no final do projeto, esperamos também obter resultados positivos a nível do teor de matéria orgânica no solo, assim como dos macronutrientes.

Esperamos que no final dos trabalhos nestes campos de demonstração (dezembro 2021) as 5 tendências sejam mais claras contribuindo assim para o cumprimento dos objetivos a que nos propusemos.

Na sequência deste consórcio e das ações de divulgação já realizadas (realização de 3 dias de campo), criou-se uma dinâmica num grupo de produtores que já levou à criação de um agrupamento de produtores denominado “Gofigo: Agrupamento de Produtores de Figo, Lda.” que pretende incorporar nos seus pomares as técnicas culturais mais adequadas.

Agradecimentos

O presente trabalho foi financiado pelo programa PDR2020, operação 1.0.1 - Grupos Operacionais – projeto n.o 030783 – GoFigoProdução.

Referências Bibliográficas

- Aksoy U. e Akyuz, D. (1993). Changes in K, Ca and Mg contents in different parts of the fig fruit during development. In: Fragoso, M.A.C. e Beusichem, M.L.van, Optimization of plant nutrition (eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- INIAP – Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva. (2006). Manual de fertilização das culturas. Lisboa. INIAP
- M.L., Houwers, A. (eds) Optimization of Plant Nutrition. Developments in Plant and Soil Sciences, vol 53. Springer, Dordrecht. Disponível online em https://doi.org/10.1007/978-94-017-2496-8_48.

GO GojiBerries - Promover a cultura de Goji em modo biológico



Parceria

CONSULAI, Lda (**Líder**);

AJAP – Associação dos Jovens Agricultores de Portugal;

FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

Monte das Bagas.

Palavras-chave: biofertilizante; *Lycium barbarum*; MPB; performance index; *Serendipita indica*.

Website: <https://www.gogojiberries.com>

Investimento total: 388 094,08€

Logótipos dos Parceiros



Ciências
ULisboa



Objetivos do GO GojiBerries

1. Promover a cultura de plantas Goji em modo de produção biológico com recurso a biofertilizantes;
2. Analisar as características de *Lycium barbarum* e *L. chinense*, e identificar a cultivar mais produtiva;
3. Analisar e comparar os principais componentes de bagas e folhas, divulgando-os numa tabela acessível;
4. Possibilitar o consumo, no mercado nacional, de bagas Goji frescas e folhas, de qualidade comprovada.

Equipa do GO GojiBerries

Entidades	Pessoas
AJAP	João Pacheco
	Teresa Peixoto
	Valentina Castilho
CONSULAI	Marisa Simões
	Ricardo Zanatti
	Tânia Figueiredo
FCUL	Anabela Bernardes da Silva
	Ana Cristina Figueiredo
	Ana Rita Matos
	Cristina Cruz
	Jorge Marques da Silva
	José Barroso
	Juliana Melo
	Luís Pedro
	Mafalda Pastaneira
	Marília Antunes
Monte das Bagas	Bruno Beires
	Melanie Baptista

GO GojiBerries – Promover a cultura de Goji em modo biológico

Juliana Melo^{1,2,3}, Mafalda Pastaneira^{1,2}, Cláudia Tavares^{1,4}, Jorge Marques da Silva^{1,2}, Marília Antunes^{1,4}, Luís G. Pedro^{1,3}, José G. Barroso^{1,3}, Marta Mendes⁶, Carolina Ramos⁶, Ana Rita Matos^{1,2}, A. Cristina Figueiredo^{1,3}, Cristina Cruz^{1,2} e Anabela Bernardes da Silva^{1,2*}

¹ FCUL - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

² BioISI, Instituto de Biosistemas e Ciências Integrativas, FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

³ CE3C, Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes, FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

⁴ CESAM Lisboa, CBV, DBV, FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

⁶ CEALUL – Centro de Estatística e Aplicações, FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

⁶ CONSULAI, Rua da Junqueira, 61 G, 1300-307, Lisboa, Portugal

*Email: arsilva@ciencias.ulisboa.pt

Resumo

No GO-GojiBerries pretende-se potenciar a produção em modo biológico de plantas de Goji, uma das culturas emergentes em Portugal, promovendo uma agricultura sustentável e resiliente que produza alimentos mais saudáveis. Neste sentido, utilizaram-se em plantas de *L. barbarum* e *L. chinense* microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) como biofertilizante, de modo a avaliar o efeito da sua adição na constituição do solo, desenvolvimento da cultura, perfil volátil e principais constituintes dos frutos e folhas.

O MPCP utilizado como biofertilizante foi o fungo endofítico *Serendipita indica* que coloniza as raízes de muitas espécies de plantas, produzido na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL). A biofertilização ocorreu por adição de inóculo (≈30 esporos) junto à raiz das plantas.

Os ensaios têm decorrido em produções biológica de Goji no litoral e no interior do Alentejo, respectivamente no Monte das Bagas (Lagoa de Santo André, Santiago do Cacém), e GojiNatur (Vidigueira), e na FCUL. Os ensaios de campo iniciaram-se no Monte das Bagas, em pomares das duas espécies com 2 anos, sendo inoculadas 126 plantas/espécie e analisadas 30 plantas inoculadas e 30 não inoculadas como controlo. Nos pomares da GojiNatur a inoculação ocorreu na fase de implantação da cultura, em 60 plantas jovens de *L. barbarum* obtidas em viveiro a partir de sementes e estacas e, posteriormente, transplantadas para o campo. Do total de plantas inoculadas, analisaram-se 15 plantas que não se encontravam nas bordaduras e outras 15 não inoculadas como controlo. Análise de MPCP no solo mostraram aumento de bactérias totais e fixadoras de azoto com o biofertilizante.

A avaliação de parâmetros fisiológicos, determinados com equipamentos portáteis que permitem medições rápidas não destrutivas e não intrusivas, incluiu a análise de curvas de indução rápida da fluorescência da clorofila a, e da reflectância espectral e transmissão de luz. Nos ensaios de campo tem sido determinada uma maior vitalidade geral das plantas com o biofertilizante, avaliada um e /ou dois meses após inoculação, e quantificada por um maior valor dos índices de performance fotoquímica (PI), corroborado por outros parâmetros fisiológicos determinados por fluorescência da clorofila.

Tem vindo a decorrer a quantificação dos principais componentes dos frutos, tais como: açúcares, aminoácidos, fenóis, flavonoides, carotenoides e antocianinas, por cromatografia líquida de ultra performance acoplada a espectrometria de massa (UPLC/MS); vitaminas A, C e E por cromatografia líquida de elevada performance (HPLC) e vitamina K por espectrometria de massa com plasma acoplado; perfil iónico por TXRF (Total X-ray Fluorescence Spectroscopy); perfil volátil obtido por microextração em fase sólida (SPME) e hidrodestilação (H) e analisado por Cromatografia Gasosa (GC) e por CG acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS); e perfil de ácidos gordos (AG), determinado por trans-esterificação direta de amostras secas e

análise por CG. A análise do perfil volátil indica uma predominância de um hidrocarboneto sesquiterpénico, nos voláteis isolados com ambas as metodologias de extração, SPME e H, de frutos frescos. Já no caso das bagas Goji secas, compostos azotados, no caso da SPME, e ácido palmítico, no caso da H, parecem constituir os compostos dominantes dos seus voláteis. Resultados preliminares dos perfis de AG demonstram a predominância dos AG palmítico, linoleico, alfa-linolénico e oleico, assim como dos ácidos esteárico, tras-hexadecaenoico e hexadecadienoico em menores quantidades. A determinação de índices de insaturação e parâmetros nutricionais indicam que os lípidos presentes nas bagas Goji apresentam características nutricionais benéficas para a saúde humana.

Limitações causadas pela situação pandémica atípica, que restringiram o acesso aos laboratórios da FCUL ao mínimo, assim como problemas de fitossanidades surgidos em alguns pomares, atrasaram os trabalhos previstos, incluindo os ensaios para determinar o potencial do uso de folhas.

Contamos que a finalização dos ensaios em curso e a posterior análise global dos resultados obtidos, permitam conclusões que contribuam para uma maior produção em modo biológica da cultura de Goji e o maior consumo de frutos e folhas frescos ou desidratados de qualidade. Também a divulgação dos resultados junto de produtores, em particular jovens agricultores, consumidores e público em geral, que tem sido possível realizar exclusivamente em modo não presencial (www.gogojiberries.com), irá ser intensificada.

Palavras-chave: biofertilizante; *Lycium barbarum*; MPB; performance index; *Serendipita indica*.

Abstract

The GO-GojiBerries project aims to enhance the organic production of Goji plants, one of the emerging crops in Portugal, promoting a sustainable and resilient agriculture that produces healthier food. In this

sense, we used in plants of *L. barbarum* and *L. chinense* plant growth promoting microorganisms (PGPM) as biofertilizer, in order to evaluate the effect of its addition on soil constitution, crop development, volatile profile and main constituents of the fruits and leaves. The PGPM used as biofertilizer was the endophytic fungus *Serendipita indica*, that colonizes the roots of many plant species, and was produced at the Faculty of Science, University of Lisbon (FCUL). Biofertilization occurred by adding inoculum (≈ 30 spores) near the plants' roots.

Assays occurred in organic Goji orchards on the coast and inland Alentejo, Monte das Bagas (Lagoa de Santo André, Santiago do Cacém), and GojiNatur (Vidigueira) respectively, and at FCUL. The field experiments started at Monte das Bagas, in two years old plants (*L. barbarum* and *L. chinense*), being inoculated 126 plants/species and analyzed 30 inoculated plants and 30 non-inoculated as control. In the GojiNatur orchards, inoculation occurred at the crop establishment phase, on 60 young *L. barbarum* plants obtained in the nursery from seeds and cuttings, and later transplanted to the field. Fifteen plants of the total inoculated plants and fifteen non-inoculated plants were analyzed as controls. PGPM analysis in the rhizospheric soil showed increases in total bacteria and nitrogen-fixing bacteria with the biofertilization with *S. indica*. Evaluation of physiological parameters, determined with portable equipment that allows rapid non-destructive and non-intrusive measurements, included analysis of rapid induction curves of chlorophyll a fluorescence, and spectral reflectance and light transmission. One and/or two months after inoculation, overall vitality of inoculated plants increased and was quantified by a higher value of photochemical performance indices (PI), corroborated by other physiological parameters.

The quantification of the main components of the fruit is in progress, and include: sugars, amino acids, phenols, flavonoids, carotenoids and anthocyanins, by ultra-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC/MS); vitamins A, C and E by high performance liquid chromatography (HPLC) and vitamin K by plasma coupled mass

spectrometry; ion profile by TXRF (Total X-ray Fluorescence Spectroscopy); volatile profile obtained by solid phase microextraction (SPME) and hydrodistillation (H) and quantified by Gas Chromatography (GC) and by GC coupled to Mass Spectrometry (GC-MS); and fatty acid (FA) profile, determined by direct trans-esterification of dry samples and analysis by GC. The volatile profile analysis indicates a predominance of a sesquiterpene hydrocarbon, in the volatiles isolated from fresh fruits with both extraction methodologies, SPME and H. In dried fruits results seems dependent of the extraction methodology, with the dominant compounds being nitrogen compounds in the case of SPME, and palmitic acid in the case of H. Preliminary results of the GA profiles show the predominance of palmitic, linoleic, alpha-linolenic and oleic GAs, as well as stearic, trans-hexadecaenoic and hexadecadienoic acids in smaller amounts. The determination of unsaturation indices and nutritional parameters confirm that the lipids present in Goji berries have nutritional characteristics beneficial to human health.

Limitations caused by the atypical pandemic situation, which restricted access to FCUL laboratories to a minimum, as well as plant health problems that arose in some orchards, delayed the planned work, including the trials to determine the potential use of leaves.

We hope that the finalization of the ongoing tests and the subsequent global analysis of the results will allow for conclusions that will contribute to a greater organic production of Goji and a greater consumption of fresh or dehydrated quality fruits and leaves. Also, the dissemination of the results to producers, in particular young farmers, consumers and the general public (www.gogojiberries.com), will be intensified.

Keywords: biofertilizer; *Lycium barbarum*; MPB; performance index; *Serendipita indica*.

Introdução

As plantas Goji pertencem ao género *Lycium* (*Solanaceae*), do qual se conhecem 97 espécies e seis variedades (Yao et al., 2018). Mais de 1/3 destas espécies têm sido usadas tradicionalmente na alimentação e/ou para fins terapêuticos, variando a parte da planta usada para um ou outro fim consoante as espécies e a cultura popular (Yao et al., 2018). Apesar da diversidade de espécies e constituintes da planta com valor nutritivo e/ou terapêutico (Qian et al., 2017), só os frutos de *L. barbarum* L. e *L. chinense* Mill., as chamadas bagas Goji, têm valor económico relevante. Em Portugal, esta é uma cultura emergente (AJAP, 2017).

Atualmente, há uma procura significativamente crescente das bagas de *L. barbarum*, impulsionada pela sua indicação como alimento funcional ou nutracêutico, embora bagas de outras espécies e outras partes das plantas tenham potencial de valorização.

A grande maioria dos frutos comercializadas à escala global provem da China, existindo muita dificuldade em assegurar uma identificação visual fiável da espécie e em garantir a presença de fitoquímicos importantes e ausência de compostos endógenos nocivos e de contaminantes. O uso de pesticidas e herbicidas, por exemplo, pode afetar negativamente a qualidade das plantas medicinais, pelo que a cultura local em modo de produção biológico (MPB) surge cada vez mais como uma alternativa a considerar.

As plantas de *Lycium*, com vasta distribuição em condições abióticas adversas como ambientes áridos e semi-áridos de zonas temperadas, são capazes de desenvolver mecanismos adaptativos favoráveis para a sua sobrevivência, como simbioses mutualísticas com fungos. O fungo *Serendipita indica* é um fungo endofítico da família Sebacinaceae, que coloniza as raízes de muitas espécies de plantas melhorando o seu desempenho, incluindo plantas medicinais (Das et al., 2012), e em MPB. A utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas como biofertilizante, sejam de vida livre ou estejam em simbiose com a

planta como *S. indica*, pode contribuir para uma agricultura mais sustentável, resiliente e capaz de produzir alimentos mais saudáveis, indo ao encontro da recente “Estratégia do Prado ao Prato”, da União Europeia (PAC, 2021-2027).

No GO GojiBerries, no sentido de promover a produção em modo biológico de *Lycium barbarum* L., pretendeu-se: i) avaliar o efeito da adição de microrganismos promotores de crescimento de plantas como biofertilizante no desenvolvimento da cultura, através de técnicas rápidas, não destrutivas, que permitam detetar precocemente alterações na produtividade potencial, e avaliar, também, o seu impacto na constituição do solo, recorrendo à análise das principais populações de microrganismos funcionais; ii) determinar o perfil volátil e os principais constituintes dos frutos em fresco e após desidratação; iii) avaliar o potencial de utilização de subprodutos da cultura, como o uso de folhas para tisanas; iv) divulgar os resultados junto dos jovens agricultores, produtores e público em geral.

Material e métodos

O projeto GojiBerries iniciou-se em outubro de 2018, com testagem dos métodos e produção do fertilizante biológico composto pelo fungo simbiote *Serendipita indica* (Bernardes da Silva et al., 2020).

Delineamento experimental

Os ensaios decorreram em duas localizações, no Alentejo: Santiago do Cacém (Monte das Bagas, Lagoa de Santo André) e Vidigueira (pomares da GojiNatur).

No Monte das Bagas, os ensaios iniciaram-se em março de 2019, em pomares com 2 anos, tendo-se definido 4 sectores: 1 e 2, com plantas de *L. barbarum*; 3 e 4, com *L. chinense*. Em cada sector, inocularam-se 63 plantas (7 plantas/linha X 9 linhas) adicionando na rizosfera 5 mL de inóculo (~30 esporos). Do total de plantas inoculadas foram analisadas 30 plantas e outras tantas não inoculadas utilizadas como controlo, evitando efeito de bordadura.

Nos pomares da GojiNatur, Vidigueira, os ensaios iniciados em 2021 foram realizados em plantas jovens de *L. barbarum* obtidas em viveiro a partir de sementes e estacas e posteriormente transplantadas para o campo. Foram delimitados 4 setores, dos quais dois plantados recentemente: sector 2 com plantas obtidas de estacas e sector 3 com plantas obtidas de sementes. Nos sectores foram delimitadas 4 ou mais linhas para o ensaio e em cada linha inoculadas 30 plantas no momento do transplante. Do total de plantas inoculadas, analisaram-se 15 plantas que não se encontravam nas bordaduras e outras 15 plantas não inoculadas foram utilizadas como controlo.

Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas

As medições dos parâmetros fisiológicos foram realizadas em folhas totalmente expandidas, em plantas controlo e com biofertilizante, numa média de 3 medições por planta, um e/ou dois meses após inoculação. Utilizaram-se equipamentos portáteis, simples, baseados na fluorescência da clorofila a, reflectância espectral e transmissão de luz, que permitem determinações rápidas, não invasivas e não destrutivas (Bernardes da Silva et al., 2020).

Análises microbianas do solo

Para as análises microbianas foi realizada uma amostragem composta dos solos rizosféricos de plantas controlo e inoculadas de cada setor em estudo, após um ou dois meses da inoculação das plantas.

a) Isolamento de bactérias totais

As bactérias cultiváveis totais foram isoladas por diluições seriadas numa suspensão homogénea de 10 g de solo em 90 mL de solução salina (0,85% NaCl), agitada 30 min a 28 °C. Após esse período foram realizadas diluições de 10^{-3} a 10^{-4} , inoculadas em meio nutritivo de agar (placas de Petri) e incubadas 48 h a 28 °C. Finalizado o período de incubação realizou-se a contagem das colónias formadas, expressa em unidades formadoras de colónias (CFU) por mL (Grantina et al. 2011).

**b) Bactérias solubilizadoras de fosfato**

As bactérias solubilizadoras de fosfato cultiváveis totais foram isoladas tal como as bactérias totais, realizadas diluições de 10^{-2} a 10^{-3} e inoculadas em placas de Petri contendo meio sólido de fosfato NBRIP (National Botanical Research Institute). Após incubação por 10 dias a 28°C , as bactérias que apresentavam um halo claro ao redor da colônia foram consideradas capazes de solubilizar o fosfato tricálcico, e determinadas as CFUs/mL (Grantina et al., 2011).

c) Bactérias fixadoras de azoto

As bactérias fixadoras de azoto foram isoladas como referido para as bactérias totais, realizadas diluições de 10^{-2} a 10^{-3} e inoculadas em placas de Petri contendo meio sólido NFb (New Fabian broth) (Döbereiner, 1980), por 72 h a 28°C . Após incubação as colônias que apresentavam mudança na cor do meio de cultura foram consideradas fixadoras de azoto e determinadas as CFUs/mL (Grantina et al., 2011).

d) Análises de frutos

Em amostras compostas de frutos proveniente das plantas de *L. barbarum* em estudo, tem vindo a decorrer a quantificação dos principais componentes. Em síntese, os componentes e respetivos métodos utilizados têm sido: açúcares, aminoácidos, fenóis, flavonoides, carotenoides e antocianinas, por cromatografia líquida de ultra performance acoplada a espectrometria de massa (UPLC/MS); vitaminas A, C e E por cromatografia líquida de elevada performance (HPLC) e vitamina K por espectrometria de massa com plasma acoplado; perfil iónico por TXRF (Total X-ray Fluorescence Spectroscopy). A quantificação da componente volátil e do perfil de ácidos gordos dos frutos, de que se apresentam resultados, foi detalhada em seguida.

Componente volátil

Caracterizou-se o perfil volátil de dois tipos de amostras de bagas Goji, a) frescas (posteriormente desidratadas e também analisadas), e b) embaladas secas, sob vácuo (Figura 1A e 1B). A extração da componente volátil foi realizada por a) microextração em fase sólida (SPME), à

temperatura ambiente (Figura 1C), e por b) hidrodestilação das bagas, (Figura 1D), como descrito (Gonçalves et al., 2020). A extração foi realizada em duplicado, utilizando-se duas amostras coletivas de bagas intactas por condição de análise (Figura 1). Os voláteis foram extraídos e analisados de acordo com metodologia utilizada no laboratório (Tavares et al., 2020).



Figura 1 - Bagas Goji frescas (A), e embaladas secas, sob vácuo (B). Recolha de voláteis por microextração em fase sólida (SPME), de amostras coletivas de bagas Goji frescas, colocadas em exsicadores, à temperatura ambiente (C). Isolamento dos voláteis por hidrodestilação num destilador de Clevenger. (barra = 1 cm)

Perfil de ácidos gordos

O perfil de ácidos gordos (AG) de bagas secas foi determinado por transesterificação direta (Feijão et al., 2017). Os ésteres metílicos (FAMES) foram recuperados após adição de éter de petróleo (2 mL) e água ultrapura (3 mL), e secos sob atmosfera de azoto. O perfil de AG foi



determinado por cromatografia gasosa (Varian 430-GC gas-chromatograph) acoplada a um sistema de ionização de chama, numa coluna capilar (50 m x 0.25 mm; WCOT Fused Silica, CP-Sil 88 for FAME) através da injeção de 1 µL de FAMES em hexano, utilizando o software Galaxie. O ácido margárico (C17:0) foi usado como padrão interno e a identificação dos AG realizada por comparação com os tempos de retenção de padrões comerciais (Supelco 37 component FAME mix). Os parâmetros de insaturação e índices nutricionais calculados como descrito (Maia et al., 2019; Ilić et al., 2020).

Análise estatística

Os resultados apresentados foram analisados por um teste t (GraphPad Prism 7.0), considerando diferentes a $p < 0,5$.

Principais resultados

Apresenta-se uma síntese dos principais resultados que se tem vindo a obter nos ensaios de campo. São, também, apresentadas algumas quantificações realizadas em frutos.

Avaliação de parâmetros fisiológicos das plantas

Todos os parâmetros fisiológicos determinados em 2019 nas folhas das plantas *L. barbarum* cultivadas em modo de produção biológico (Monte das Bagas, Santiago do Cacém), um e dois meses após inoculação, mostraram resultados semelhantes entre as plantas inoculadas e controlo. A análise dos parâmetros indicou limitações variadas do desempenho da folha, provavelmente resultantes de problemas de fitossanidade existente nas plantas. Ensaio idênticos em *L. chinense*. evidenciaram uma superior eficiência fotoquímica das folhas devido à inoculação das plantas com *S. indica* (Bernardes da Silva, et al., 2020). O facto das plantas de *L. chinense*. estarem menos afetadas por doenças do que as de *L. barbarum*, apesar da cultura biológica ocorrer em condições idênticas, pode ter contribuído para as diferenças observadas na análise dos parâmetros fisiológicos entre as duas espécies.

Os parâmetros fisiológicos de folhas de plantas jovens de *L. barbarum* (pomares da GojiNatur, Vidigueira) dois meses após a inoculação, mostraram diferenças significativas entre estas planta e as plantas controlo (Figura 2).

Os índices de performance (PI) para a conservação de energia da luz absorvida pelo fotossistema II até à redução pela quinona B (PI Abs) e até à redução pelos aceitadores do PSI (PI total), foram mais elevados nas plantas inoculadas, mostrando a sua maior vitalidade (Figura 2). Outros parâmetros não apresentados, obtidos da análise rápida da fluorescência da clorofila a, suportam a melhor estado geral das plantas de *L. barbarum* cultivadas com *S. indica* como biofertilizante, tal como em *L. chinense* (Bernardes da Silva et al., 2020).

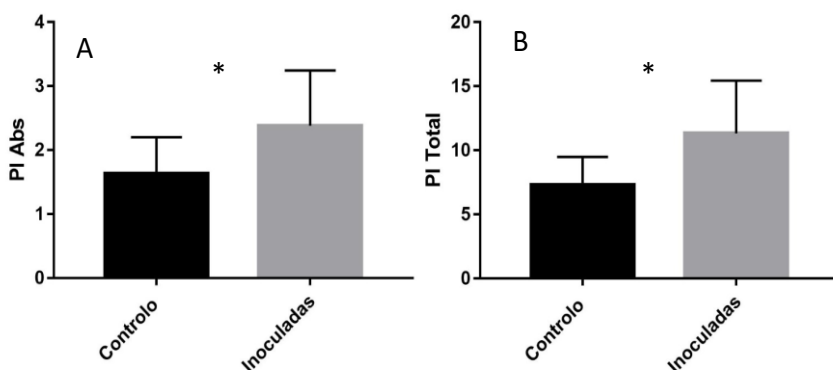


Figura 2 - Índice de performance (PI) da conservação de energia da luz absorvida pelo fotossistema II (PSII) até à redução pela quinona B (PI Abs) de plantas controlo e inoculadas provenientes de sementes (A). PI da conservação de energia da luz absorvida pelo PSII até à redução pelos aceitadores do PSI (PI total) de plantas provenientes de estacas (B).

Análises microbianas do solo

A análise da quantificação microbiológica do solo da rizosfera das plantas provenientes de sementes e estacas, foi realizada com a

finalidade de perceber se o inóculo fúngico utilizado como biofertilizante fomentou o aumento de bactérias promotoras do crescimento de plantas. Os resultados obtidos mostram que a inoculação aumentou a quantidade de bactérias totais nas plantas provenientes de sementes, e a quantidade das bactérias fixadoras de azoto nas plantas provenientes de sementes ou de estacas, mantendo-se a quantidade de bactérias solubilizadoras de fosfato (Figura 3).

É expectável que o aumento de bactérias promotoras do crescimento das plantas, estimulado pelo biofertilizante utilizado, venha a refletir-se numa maior produtividade vegetal e maior resistência a agentes fitopatogénicos.

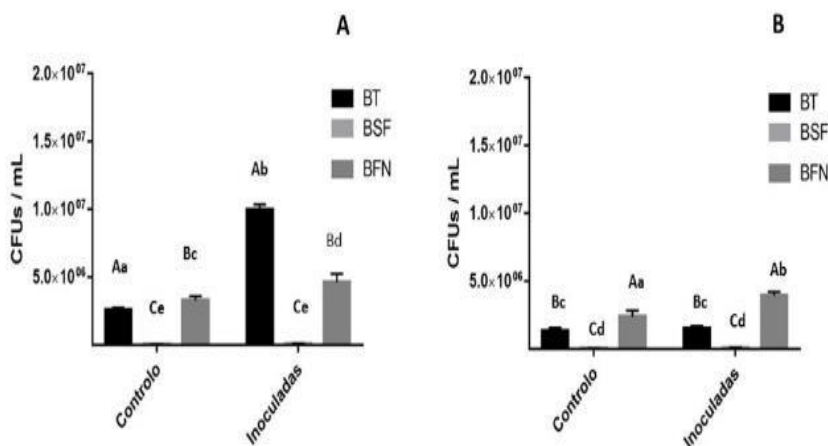


Figura 3 - Unidades formadoras de colónias (CFUs) de bactérias totais (BT), bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) e bactérias fixadoras de azoto (BFN) isoladas de solos da rizosfera de plantas *L. barbarum* controlo e inoculadas com *S. indica*. **A**- em plantas provenientes de sementes; **B** – em plantas provenientes de estacas. Letras diferentes indicam diferenças significativas (p < 0,05, n=6), maiúsculas para comparação no mesmo tratamento e minúsculas para comparação entre tratamentos.

Componente volátil

Está, atualmente, em curso a quantificação dos voláteis extraídos por SPME e por hidrodestilação, das diferentes amostras de bagas Goji.

Numa análise preliminar, as bagas frescas, analisadas por SPME, mostraram um hidrocarboneto sesquiterpénico, o β -elemeno, como composto dominante. Já nas bagas secas, embaladas sob vácuo, e analisadas pelo mesmo processo, o composto maioritário foi a 2,3,5,6-tetrametilpirazina (Figura 4A) e quando extraídas por hidrodestilação, evidenciaram este composto num teor inferior, sendo dominante o ácido palmítico (Figura 4B).

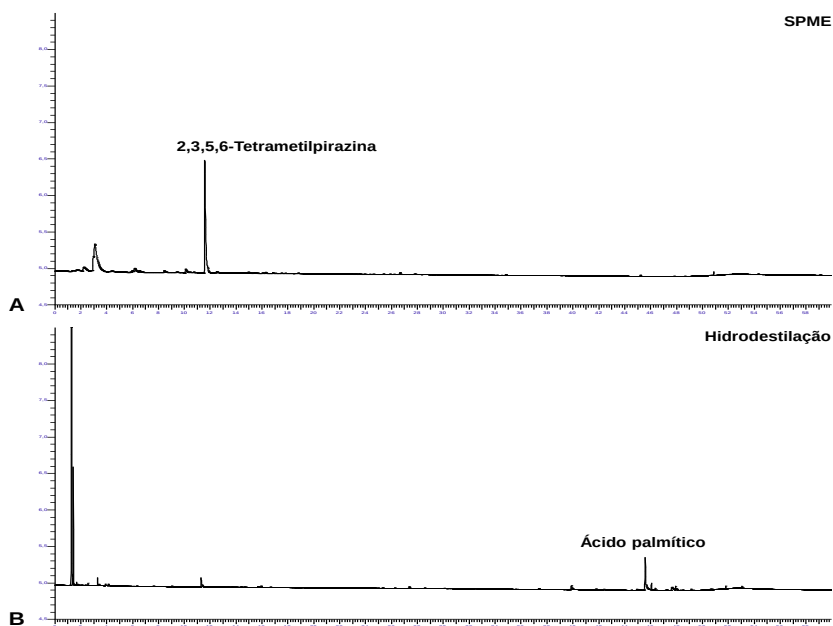


Figura 4 - Cromatograma representativo do perfil volátil obtido por SPME (A) e por hidrodestilação (B), de bagas Goji desidratadas e embaladas sob vácuo.

Perfil de ácidos gordos

Procede-se à caracterização do perfil de ácidos gordos (AG) das diferentes amostras de bagas Goji. Numa análise preliminar foram identificados os AG de bagas secas, tendo-se observado a presença dos seguintes ácidos, por ordem decrescente de abundância: palmítico (C16:0), linoleico (C18:2), oleico (C18:1), esteárico (C18:0), a-linolénico (C18:3), trans-hexadecaenoico (C16:1t) e hexadecadienoico (C16:2) (Figura 5).

A dominância do ácido palmítico no fruto relaciona-se com a elevada presença no perfil volátil. A análise demonstrou igualmente um valor de AG polinsaturados (PUFA) de 36,8 %, e da razão entre os PUFA e os AG saturados (PUFA/SFA) de 0,97, que se explicou pela presença considerável dos AG essenciais ómega 3 (C18:3) e ómega 6 (C18:2), existentes numa proporção adequada para a alimentação humana (0,5).

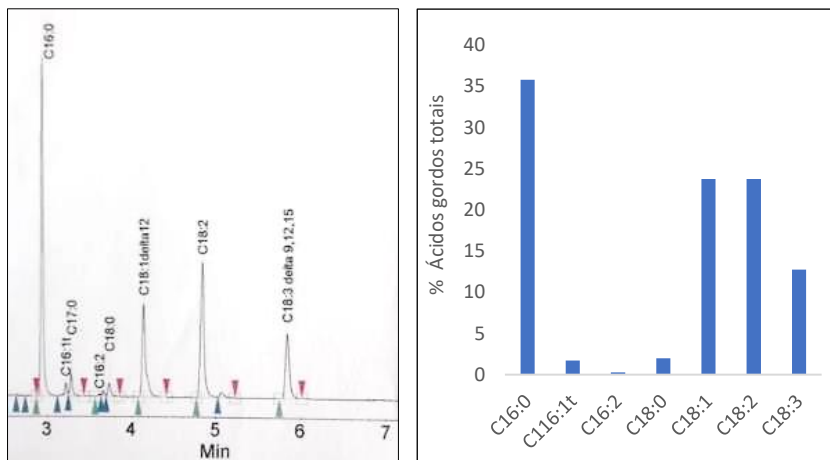


Figura 5 - Perfil de ácidos gordos de bagas de Goji secas (A) Cromatograma representativo (B) Percentagem relativa de cada ácido gordo.

Os índices de trombogenicidade (IT) e aterogenicidade (AI), indicadores dos efeitos dos AG na saúde humana, foram baixos (0,6), mostrando que os frutos analisados apresentaram valores adequados do ponto de

vista nutricional, tal como previamente descrito por Ilić et al. (2020). Relativamente ao índice de suscetibilidade à oxidação (Cox), as bagas secas apresentaram um valor considerado elevado (5,4) o que se pode traduzir num efeito positivo em várias funções metabólicas do organismo humano.

Conclusão

A utilização de *Serendipita indica* como biofertilizante em pomares de Goji em MPB, aumentou a quantidade de bactérias promotoras do crescimento vegetal no solo e a vitalidade das plantas. As análises dos principais componentes dos frutos, e.g. perfil volátil e ácidos gordos, tem contribuído para avaliar as suas características organolépticas e nutracêuticas.

A situação pandémica atípica em curso, que restringiu enormemente o acesso a estufas e laboratórios da FCUL, aliada a problemas de fitossanidade em alguns pomares, atrasaram os trabalhos. Também a divulgação dos resultados junto de produtores, em particular jovens agricultores, consumidores e público em geral, tem ocorrido exclusivamente em modo não presencial (www.gogjiberries.com). No final do projecto GojiBerries, prevemos que a análise global dos resultados obtidos permita mais conclusões, contribuindo para uma maior divulgação e promoção da cultura de plantas Goji em MPB e consumo de bagas e de folhas de qualidade.

Referências bibliográficas

- AJAP, Associação de Jovens Agricultores de Portugal. 2017. Manual de Boas Práticas para Culturas Emergentes, a Cultura de Bagas Goji, Lisboa
- Bernardes da Silva, A., Cruz, C., Melo, J., Pastaneira, M., Marques da Silva, J., Matos, R., Pedro, L., Barroso, J., Figueiredo, A. C., Antunes, M., Baptista, M., Ramos C., & Mendes, M. 2020. Produção biológica de Goji:



- desenvolvimento de conhecimento técnico- científico para potenciar a sua valorização no mercado 34 Actas Port. Horticult., pp: 47-54
- Das, A., Kamal, S., Shakil, N., Sherameti, I., Oelmuller, R., Dua, M., Tuteja, N., Johri, A. K. & Varma, A. 2012. The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Plant Signal. Behav.* 7, 103–112.
- Döbereiner, J. 1980. Forage grasses and grain crops. *In*: Bergersen, F.J. (ed.), *Methods for Evaluating Biological Nitrogen*. John Wiley & Sons Ltd, New York, pp. 535–555.
- Feijão, E., Gameiro, C., Franzitta, M., Duarte, B., Caçador, I., Cabrita, M.T. & Matos, A.R. 2018. Heat wave impacts on the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*: Searching for photochemical and fatty acid biomarkers of thermal stress. *Ecological Indicators*, 59, 2, 1026-1037
- Gonçalves, E., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Henriques, J., Sousa, E. & Bonifácio, L. 2020. Effect of *Monochamus galloprovincialis* feeding on *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, oleoresin and insect volatiles. *Phytochemistry* 169, 112159. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112159>
- Grantina, L., Kenigšvalde, K., Eze, D., Petrina, Z., Skrabule, I., Rostoks, N. & Nikolajeva, V., 2011. Impact of six-year-long organic cropping on soil microorganisms and crop disease suppressiveness. *Žemdirb Agricult* 98, 399–408.
- Ilić, T., Dodevska, M., Marčetić, M., Božić, D., Kodranov, I. & Vidović, B. 2020. Chemical Characterization, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Goji Berries Cultivated in Serbia. *Foods* 9, 1614.
- Maia, M., Ferreira, A.E.N., Laureano, G., Marques, A.P., Torres, V.M., Bernardes Silva, A., Matos, A.M., Cordeiro, C., Figueiredo, A. & Sousa Silva, M. 2019. *Vitis vinifera* ‘Pinot noir’ leaves as a source of bioactive nutraceutical compounds. *Food Funct.* 17, 10(7), 3822-3827.

-
- Qian, D., Zhao, Y., Yang, G. & Huang, L. 2017. Systematic Review of Chemical Constituents in the Genus *Lycium* (Solanaceae). *Molecules*, 2017 Jun 8, 22(6), 911.
- Tavares, C.S., Martins, A., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Duarte, L.C., Gameiro, J.A., Roseiro, L.B. & Figueiredo, A.C. 2020. Bioproducts from Forest Biomass: essential oils and hydrolates from wastes of *Cupressus lusitanica* Mill. and *Cistus ladanifer* L. *Industrial Crops and Products* 144, 112034.
- Yao, R., Heinrich, M. & Weckerle, C. S. 2018. The genus *Lycium* as food and medicine: a botanical, ethnobotanical and historical review. *J. Ethnopharmacol.* 212, 50–66. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.010>

GO i9Kiwi - Desenvolvimento de estratégias que visam a sustentabilidade da indústria de kiwis através da criação de um produto de valor acrescentado



Parceria

IPN – Instituto Pedro Nunes – Associação para a Inovação e Desenvolvimento em Ciência e Tecnologia (**Líder**);

APK – Associação Portuguesa de Kiwicultores;

UC – Universidade de Coimbra – Centre for Functional Ecology - Science for People & the Planet;

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária;

KIWICOOP – Cooperativa Frutícola da Bairrada;

KIWI GREENSUN – Conservação e Comercialização de Fruta, S. A.;

Actiglabro, Lda; KIWI 1000, Lda

Palavras-chave: fitossanidade; polinização; agricultura de precisão; ciência cidadã; micropropagação.

Website: <https://i9kiwi.pt/>

Investimento total: 417 589,93€

Logótipos dos Parceiros



Actiglabro, Lda

Fruverg, Lda

Objetivos do GO i9Kiwi

O i9Kiwi pretende melhorar a competitividade do país incidindo exclusivamente em atividades de produção primária no sector do kiwi através de diversas tipologias de inovação, nomeadamente inovação de produtos e processos. O i9Kiwi reúne as competências necessárias para suprir lacunas evidentes no setor fitossanitário e na qualidade e diversidade de cultivares e do pólen, associadas a elevados custos de produção.

Equipa do GO i9Kiwi

Entidades		Pessoas
IPN	Laboratório de Fitossanidade	Aitana Ares, Daniela Figueira, Eva Garcia, Joana Costa, Sara Rodrigues
	Laboratório de Informática e Sistemas	Carlos Lopes, Carlos Marques, João Figueiredo
	Laboratório de Automática e Sistemas	André Pardal, Márcio Henriques
Associação Portuguesa de Kiwicultores		Alexandra Gomes, António Avelino Luís, Luís Reis, Patrícia Duarte
UC	Flower Lab	Catarina Siopa, Helena Castro, Hugo Gaspar, João Loureiro, Sílvia Castro, Vinicius Casais
	Laboratório de Biotecnologia Vegetal	Jorge Canhoto, Mariana Neves
DGAV		João Nuno Barbosa
KIWICOOP		Débora Tavares, Fábio Seiça, Sandra Rodrigues
KIWI GREENSUN.		Filipa Sousa, João Mendes, Marisa Fernandes, Victor Araújo
Actiglabro		Patrícia Duarte
Kiwi1000		Cátia Rei, Luís Caetano

i9Kiwi - desenvolvimento de estratégias que visam a sustentabilidade da indústria de kiwis através da criação de um produto de valor acrescentado

Joana Costa^{1,2*}, Carlos Lopes², Alexandra Gomes³, Jorge Canhoto¹ e Sílvia Castro¹

¹ Universidade de Coimbra, Center for Functional Ecology, Department of Life Sciences, Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra, Portugal;

² Instituto Pedro Nunes, 3030-199 Coimbra, Portugal;

³ Associação Portuguesa de Kiwicultores, 4520-249 Santa Maria da Feira, Portugal

*Email: jcdcosta@ipn.pt

Resumo

A produção de kiwi (*Actinidia* spp.) é uma importante atividade económica tendo apresentado uma expansão mundial nos últimos anos. Em Portugal corresponde ao sector agroalimentar que mais tem crescido devido ao valor comercial da fruta ocupando uma área de 2 740 ha correspondendo a uma produção de 32 400 ton. Embora se continuem a verificar fortes investimentos, a produtividade não tem acompanhado as expectativas devido a problemas associados à fitossanidade, sendo a infeção pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) o principal responsável, à polinização e aos cultivares utilizados.

O Grupo Operacional i9Kiwi (<https://i9kiwi.pt/>) surge como resposta a estes condicionalismos e visa melhorar a competitividade do setor através de várias tipologias de inovação. Agregando 80% da fileira, os resultados obtidos serão transferidos com impacto real na produtividade e nos custos de produção.

O i9Kiwi está dividido em diversos eixos temáticos com objetivos específicos traduzidos em diversas atividades. No eixo **Doenças associadas à produção e soluções inovadoras de combate à Psa**, e para o contexto nacional, foi descrita uma elevada diversidade e heterogeneidade nas populações de Psa demonstrando que a expansão

clonal da Psa na Europa foi seguida por uma ampla diversificação genómica. Foi identificada uma população dominante com elevada capacidade de sobrevivência e associada a fenótipos de doenças graves. Estudos de genómica comparada entre os isolados portugueses e isolados mundiais estão em curso com o objetivo de identificar determinantes genéticos relacionados com virulência e/ou persistência ambiental. Verificou-se ainda que a presença de Psa induz alterações profundas na microbiota foliar da planta do kiwi, traduzidas na redução significativa da diversidade e uniformidade das populações bacteriana, com identificação de grupos funcionais cuja modulação pode integrar práticas de base-biológica para o controlo da doença. Foi compilada uma coleção de cultura com mais de 300 isolados agrupados em 60 géneros bacterianos, caracterizados *in vitro* para o seu potencial antagonista contra Psa e outras doenças bacterianas da cultura. Em paralelo, foi avaliado *in vitro* o potencial dos isolados enquanto promotores de crescimento. Os testes *in vivo* estão a decorrer com resultados promissores.

No eixo **Polinização: fenologia, viabilidade e aplicação do pólen** descreveram-se as comunidades de insetos e polinizadores dos pomares no nosso território e quantificam-se défices de polinização. Conclui-se que os défices de polinização variam no tempo e no espaço, resultando de uma disponibilidade variável de pólen e polinizadores. Os valores de produtividade beneficiam de práticas locais que promovam a comunidade de polinizadores, apesar da abelha-do-mel constituir o principal polinizador pela elevada abundância no nosso território. A paisagem é também um elemento determinante da comunidade de insetos e de polinizadores disponíveis nos pomares. A aplicação de pólen melhora a produtividade, mas nem sempre é eficiente ou necessária e, por isso, requer uma avaliação local.

No eixo **Identificação de um conjunto de progenitores mais resistentes aos fatores bióticos/abióticos nacionais** foram otimizados protocolos de clonagem *in vitro* através de proliferação de meristemas axilares e organogénese. Ensaios de aplicação de diferentes tipos de pólen

permitiram detetar diferenças assinaláveis na viabilidade e capacidade germinativa quanto à origem e ano. Conclui-se ainda que o pólen pode ser mantido durante vários anos conservado no frio. A sua aplicação é mais eficiente a seco do que em solução e a utilização de *pollen extenders* não tem um impacto muito acentuado nas taxas de germinação.

No eixo **Monitorização de fatores bióticos e abióticos** foi desenvolvido um Sistema de Informação Georreferenciado – Plataforma i9Kiwi, capaz de monitorizar um pomar através da obtenção, tratamento e apresentação de dados abióticos recolhidos por uma rede de sensores sem fios. Possibilita ainda a gestão de todos os elementos presentes no pomar de um modo georreferenciado, assim como o registo das intervenções que são efetuadas. Permite ainda a monitorização de fatores específicos, como elementos fenológicos, ocorrência de doenças ou implementação de armadilhas. Esta plataforma gera alertas desencadeados pela obtenção de dados dos sensores que não respeitam regras previamente definidas. A plataforma encontra-se na fase final de validação.

As atividades realizadas no eixo **Divulgação, disseminação e demonstração** podem ser consultadas no site <https://i9kiwi.pt/>, assim como os resultados obtidos no âmbito do i9Kiwi.

Palavras-chave: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidea*; comunidade de polinizadores; aplicação de pólen; cultivares/variedades; plataforma de apoio à decisão.

Abstract

The production of kiwi (*Actinidia* spp.) is an important economic activity having shown a worldwide expansion in recent years. In Portugal, corresponds to the agro-food sector that has grown the most due to the commercial value of the fruit occupying an area of 2 740 ha with a

production of 32 400 ton. Although strong investments continue to be made, productivity has not kept up with expectations due to problems associated with plant health, being the infection by the bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) the main cause, pollination and cultivated varieties.

The i9Kiwi Operational Group (<https://i9kiwi.pt/>) arises as a response to these constraints and aims to improve the competitiveness of the sector through various types of innovation. Aggregating 80% of the sector, the results obtained will be transferred with a real impact on productivity and production costs.

The i9Kiwi is divided into various thematic axes with specific objectives translated into various activities.

In the axis **Diseases associated with the production and innovative solutions to control Psa**, and for the national context, high diversity and heterogeneity in populations of Psa were described, demonstrating that the clonal expansion of Psa in Europe was followed by a wide genomic diversification. A dominant population with high survivability and associated with severe disease phenotypes was identified. Comparative genomic studies between Portuguese isolates and worldwide isolates are underway to identify genetic determinants related to virulence and/or environmental persistence. It was also found that the presence of Psa induces profound changes in the foliar microbiota of the kiwifruit plant, translated into a significant reduction in the diversity and uniformity of bacterial populations, with identification of functional groups whose modulation can integrate bio-based solutions for disease control. A culture collection of over 300 isolates grouped in 60 bacterial genera was compiled, characterised for their antagonistic potential against Psa and other bacterial diseases of the crop in vitro. In parallel, the potential of the isolates as growth promoters was evaluated in vitro. In vivo tests are underway with promising results.

In the axis **Pollination: phenology, viability and pollen application**, the insect and pollinator communities of the orchards in our territory were

described and pollination deficits were quantified. It is concluded that pollination deficits vary in time and space, resulting from the variable availability of pollen and pollinators. Productivity values benefit from local practices that promote the pollinator community, although the honey bee is the main pollinator due to its high abundance in our territory. The landscape is also a determinant of the insect and pollinator community available in orchards. Pollen application improves productivity but is not always efficient or necessary and therefore requires local assessment.

In the axis **Identification of a set of progenitors more resistant to national biotic/abiotic factors**, *in vitro* cloning protocols were optimised through axillary meristem proliferation and organogenesis. Application tests with different types of pollen revealed marked differences in viability and germination capacity according to origin and year. It is also concluded that pollen can be kept for several years in cold storage. Its application is more efficient in dry than in solution and the use of pollen extenders does not have a very marked impact on germination rates.

In the axis **Monitoring biotic and abiotic factors**, a Georeferenced Information System was developed - Platform i9Kiwi, capable of monitoring an orchard by obtaining, processing and presenting abiotic data collected by a wireless sensor network. It also enables the management of all the elements present in the orchard in a georeferenced manner, as well as the recording of the interventions that are carried out. It also allows the monitoring of specific factors, such as phenological elements, the occurrence of diseases or the implementation of traps. This platform generates alerts triggered by obtaining sensor data that does not respect previously defined rules. The platform is in the final validation phase.

The activities carried out in the axis **Dissemination, dissemination and demonstration** can be consulted on the website <https://i9kiwi.pt/>, as well as the results obtained under i9Kiwi.

Keywords: *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidea*; pollinator community; pollen application; cultivars and varieties; decision support platform.

Introdução

Segundo o Instituto Nacional de Estatística, a produção de kiwi atingiu em Portugal, no ano de 2019, 32 000 toneladas, 50% das quais destinadas à exportação. A produção em Portugal localiza-se no litoral norte (70%) e litoral centro (30%), mas independentemente da região, a kiwicultura enfrenta diversos desafios que condicionam a produção e sustentabilidade da fileira relacionados com a fitossanidade, polinização, cultivares (ou variedades) e gestão integrada.

A bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), agente causal do cancro bacteriano do kiwi, é considerada a doença mais grave desta cultura podendo provocar perdas de produção que variam entre 10 a 50%. Nos casos mais extremos pode conduzir à morte das plantas, colocando em causa a sustentabilidade da fileira e provocando importantes prejuízos económicos nos principais países produtores de kiwi, incluindo Portugal. Esta doença, detetada em Portugal em 2010 (Balestra et al., 2010), manifesta elevada agressividade e uma dispersão muito rápida, tendo atualmente distribuição generalizada nas principais regiões produtoras. A nível mundial, a indústria ligada ao setor do kiwi está empenhada no desenvolvimento de estratégias de controlo da doença de forma a minimizar as perdas económicas dos produtores, mas sem resultados positivos.

A produtividade do kiwi é completamente dependente de um processo de polinização eficiente, existindo uma relação direta entre a eficiência da polinização e o calibre do fruto. O kiwi é uma planta dióica polinizada pelo vento e por abelhas. No entanto, o processo de polinização depende de diversos fatores, incluindo a sincronização da floração entre cultivares masculinas e femininas e a viabilidade e capacidade germinativa dos grãos de pólen. A dificuldade no processo de

polinização levou ao desenvolvimento de técnicas de polinização assistida para colmatar défices de polinização e atingir calibres ótimos nos pomares de kiwi. Ao passo que os países líderes na produção de kiwi aplicam regularmente pólen dadas as limitações à polinização na produção intensiva e extensiva, em Portugal o cenário é diferente e os produtores evitam o recurso à aplicação de pólen pelos custos e problemas fitossanitários associados. No entanto, a aplicação de pólen pode ser inevitável em anos desfavoráveis à polinização sendo importante perceber a real necessidade de aplicação assim como a sua eficiência. A eficiência das práticas de polinização na região de produção em Portugal (i.e, centro norte litoral; Figura 1) ainda não foi quantificada, sendo importante para a otimização da produtividade.

No que se refere aos materiais de propagação para a cultura do kiwi, estes têm origem em outros países, à semelhança do que acontece com outras espécies fruteiras. Esta situação é desvantajosa, quer do ponto de vista económico, quer do ponto de vista agronómico, uma vez que as variedades existentes foram desenvolvidas para condições edafo-climáticas diferentes daquelas que existem no nosso país. Torna-se assim imperativo identificar plantas de qualidade, bem-adaptadas às nossas condições ambientais e de solo, menos suscetíveis a doenças e produtoras de pólen de qualidade e que poderão constituir um conjunto de progenitores para as próximas gerações, com o objetivo de aumentar a produtividade, à semelhança do que se faz em outros países produtores.

É neste contexto que surge o Grupo Operacional i9Kiwi, pretendendo melhorar a competitividade do sector do kiwi através de diversas tipologias de inovação, nomeadamente inovação de produtos e processos.

Material e métodos

Para a realização das atividades do i9Kiwi foram selecionados diversos campos de ensaio consoante o objetivo (Figura 1).

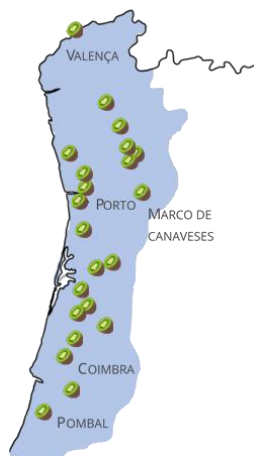


Figura 1 - Campos de ensaio incluídos nas diversas atividades do i9Kiwi.

No eixo das **Doenças associadas à produção e soluções inovadoras de combate à PsA** foram selecionados quatro pomares de *A. deliciosa* com base na região, idade, grau de severidade de PsA e cultivar. Os pomares foram amostrados durante a Primavera e Outono. As folhas foram recolhidas das mesmas plantas e a diversidade endófito e epífita de PsA foi avaliada independentemente. Os isolados de PsA foram identificados por duplex-PCR e genotipados por BOX-PCR (Figueira et al., 2020). A identificação e caracterização do biovar foi realizada por multiplex-PCR, fitotoxinas, phaseolotoxin e MLST (Figueira et al., 2020). O genoma de seis isolados foi sequenciado na plataforma Illumina HiSeq com o sistema NovaSeq 6000 S2 PE150 XP (Ares et al., 2020). Análises de genómica comparada foram realizados e identificados fatores de virulência (Ares et al., 2021c). A microbiota da filosfera de plantas de kiwi saudáveis e doentes foi determinado por NGS na plataforma Illumina HiSeq (Ares et al., 2021a). Foi compilada uma coleção de cultura, em que os isolados foram identificados por 16SrRNA (Ares et al., 2021b) e avaliados para o seu potencial antagonismo contra PsA e outras doenças bacterianas de kiwi (Casais et al., 2021). Em paralelo a promoção de crescimento foi testada com base na produção de

sideróforos, solubilização de fosfatos, produção de amoníaco e de ácido-3-indolacético (IAA) (Casais et al., 2021) (Figura 2).

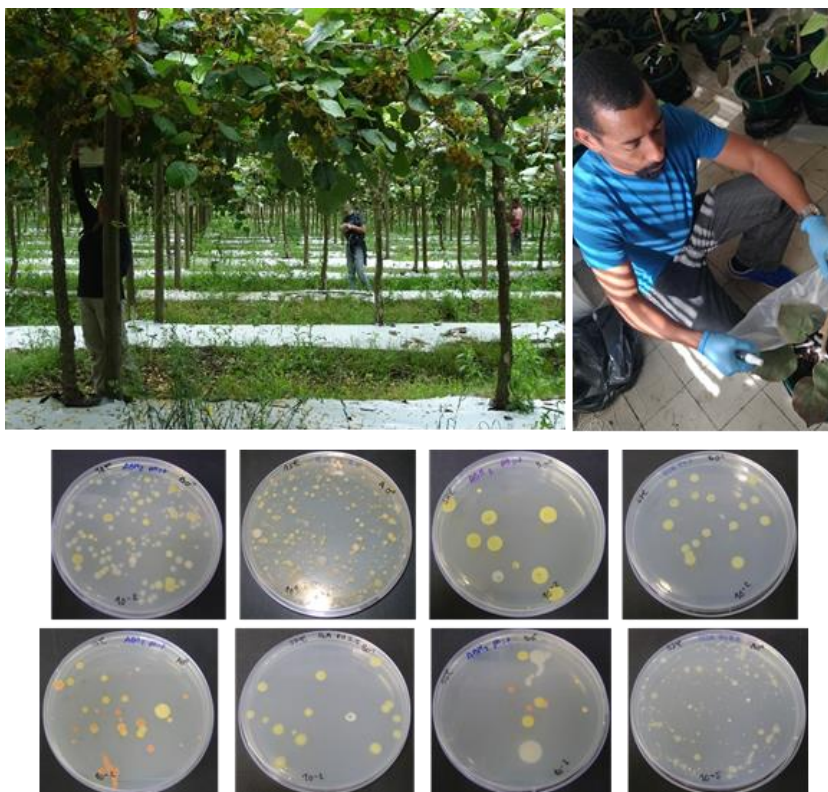


Figura 2 - Amostragem para isolamento de bactérias presentes na microbiota da filosfera de plantas de kiwi e ensaios de patogenicidade com Psa.

No eixo **Polinização: fenologia, viabilidade e aplicação do pólen** foram desenvolvidas experiências de polinização controlada e de monitorização de insetos e polinizadores. A experiência de polinização controlada incluiu três tratamentos: vento, polinização natural e polinização suplementar, ao longo de dois anos num total de 23 pomares, abrangendo toda a área de produção de kiwi em Portugal (Figura 3) (Castro et al., 2021a). Em sete pomares foi ainda possível avaliar a eficiência da aplicação de pólen através

de um tratamento adicional (Castro et al, 2021b). Avaliaram-se nove características do fruto e usou-se o peso para calcular os défices de polinização e relacioná-los com a diversidade e abundância de polinizadores e variáveis ambientais. Adicionalmente utilizaram-se os valores de produção, calibre do fruto e valores de mercado para calcular o impacto económico dos défices de polinização, assim como o impacto da aplicação de pólen. A comunidade de insetos e polinizadores foi obtida em todos os pomares de estudo por 1) observações directas e uso de redes no momento de floração, e por 2) projeto de ciência cidadã envolvendo os produtores no processo de amostragem mensal ao longo de um ano, usando três conjuntos de armadilhas coloridas (branca, azul e amarela) por pomar (Gaspar 2020).



Figura 3 - Experiência de polinização: flor feminina receptiva, polinizações manuais, frutos resultantes da polinização natural (laranja), vento (azul) e suplementação de pólen (branco).

No eixo de **Identificação de um conjunto de progenitores mais resistentes aos fatores bióticos/abióticos nacionais** foi recolhido material vegetal de plantas selecionadas pelas suas melhores performances produtivas e/ou resistência a doenças. Foram melhorados os protocolos de estabelecimento e propagação *in vitro*. Foi testado o pólen de diversas origens e anos quanto à sua eficiência germinativa e métodos de conservação.

No eixo **Monitorização de fatores bióticos e abióticos** foram selecionados 7 pomares onde foram instaladas redes de sensores sem fios para análise de diversos parâmetros abióticos, como a humidade da folha, a radiação solar, a pressão atmosférica, a direção e velocidade do vento, a humidade do solo, a temperatura e humidade do ar. Os dados dos sensores recolhidos a cada 15 minutos são enviados para a plataforma i9Kiwi, onde são processados e analisados por um motor de regras desenvolvido com recurso à linguagem R (www.r-project.org). O sistema desenvolvido permite, em tempo quase real, gerar alarmes desencadeados pela obtenção de dados dos sensores que estejam fora dos parâmetros previamente definidos. Este sistema permite ainda gerar um conjunto de índices bioclimáticos, como por exemplo o número de horas de frio em determinado período.

A plataforma i9Kiwi foi desenvolvida com recurso à tecnologia PostGIS (www.postgis.net), extensão de bases de dados espaciais para o PostgreSQL, para suportar a gestão de todos os elementos presentes no pomar de um modo georreferenciado. Para além desta informação, a plataforma permite o registo das intervenções que são efetuadas nos pomares e ainda a monitorização de fatores específicos, como elementos fenológicos, doenças ou insetos. Os formulários de registo desta informação foram desenhados e implementados com o conhecimento dos parceiros do projeto, o que permitiu que eles fossem otimizados para as doenças, pragas e práticas agrícolas do kiwi.

As atividades de **Disseminação, divulgação e demonstração** do i9Kiwi foram desenhadas de acordo com o grupo-alvo e divididas em tipologias: Publicação de artigos científicos e técnicos; Participação em

eventos para divulgação de resultados; Organização de ações de demonstração, Jornadas Técnicas e Congresso para divulgação dos resultados no final do projeto; Ações de sensibilização e demonstração para público em geral; Produção e divulgação de um Manual Técnico com medidas de gestão.

Principais Resultados

As diversas tipologias de resultados obtidos no i9Kiwi podem ser consultadas no site <https://i9kiwi.pt/>.

No eixo **Doenças associadas à produção e soluções inovadoras de combate à Psa** foi descrita uma elevada diversidade e heterogeneidade de populações de Psa, identificando uma população dominante com elevada capacidade de sobrevivência em condições abióticas extremas e associada a fenótipos de doenças graves (Figura 4A). Os resultados evidenciam que a expansão clonal da Psa na Europa foi seguida por uma ampla diversificação genómica (Figueira et al., 2020). A sequência do genoma das principais populações de Psa em Portugal foi determinada (Ares et al., 2021a) e as diferenças genéticas subjacentes descritas com implicações para a gestão da doença (Ares et al., em preparação).

Em paralelo, determinamos que a presença de Psa induz alterações profundas na microbiota da filosfera de kiwi, traduzida na redução significativa da diversidade e uniformidade das populações. Verificou-se também que plantas fêmeas e machos saudáveis partilham uma microbiota que sofre alterações severas no Outono com um aumento substancial do género *Methylobacterium* (Ares et al., 2021b) (Figura 4B). Foi compilada uma coleção de cultura agrupadas em 60 géneros (Ares et al., 2021d) em que o potencial antagonismo contra Psa e/ou promotor de crescimento foi avaliado *in vitro* e *in vivo*, com resultados promissores (Casais et al., em preparação) (Figuras 4C e 4D).

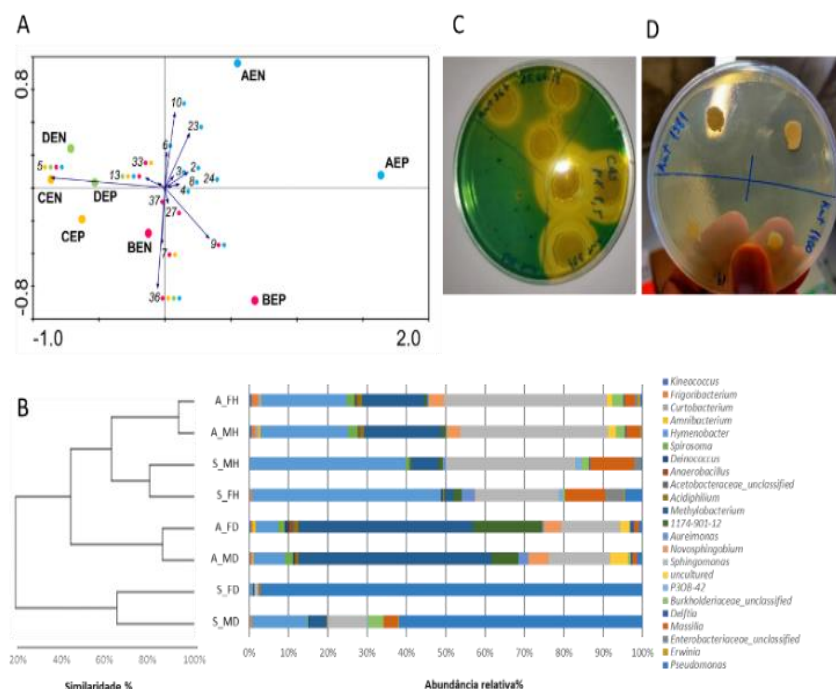


Figura 4 - A. Principal Coordinates Analysis (PCo) gerada a partir de perfis Psa identificados nos quatro pomares estudados. Os números correspondem aos perfis de Psa e as setas identificam o peso que cada perfil tinha sobre a relação de diversidade entre pomares. Azul, perfis isolados do pomar A (A); rosa, do pomar B (B); amarelo, do pomar C (C); verde, do pomar D (D). A, de Outono; S, de Primavera; EN, endófito; EP, epífita. (Adaptado de Figueria et al., 2020). **B.** Estrutura da comunidade bacteriana e abundância relativa analisada a nível do género para as diferentes amostras. O dendrograma da estrutura da comunidade bacteriana foi criado utilizando o método UPGMA. A abundância relativa das ordens bacterianas predominantes é traçada para cada amostra. S_FD: fêmeas doentes na Primavera; S_MD: machos doentes na Primavera; S_FH: fêmeas saudáveis na Primavera; S_MH: machos saudáveis na Primavera; A_FH: fêmeas saudáveis no Outono; A_MH: machos saudáveis no Outono; A_MD: machos saudáveis no Outono; A_FD: machos doentes no Outono; A_FD: fêmeas doentes no Outono (Adaptado de Ares et al., 2021a). **C.** Ensaio de produção de sideróforos; **D.** Ensaio de antagonismo contra Psa (Adaptado de Casais et al., 2021).

No eixo **Polinização: fenologia, viabilidade e aplicação do pólen** demonstrou-se que os défices de polinização variam no tempo e no espaço, resultado de variável disponibilidade de pólen e polinizadores (Castro et al., 2021a) e que os valores de produtividade beneficiam de práticas que promovam a comunidade de polinizadores (Gaspar 2020; Gaspar et al., submetido). Verificou-se também que, quer as práticas no pomar, quer a paisagem afetam a comunidade de polinizadores e que práticas favoráveis aos polinizadores promovem maiores abundâncias de polinizadores selvagens.

A paisagem envolvente ao pomar tem um impacto na comunidade de polinizadores, observando-se que paisagens agrícolas são dominadas por abelhas-do-mel, enquanto as paisagens florestais estão relacionadas com maiores abundâncias de polinizadores selvagens. A abelhas-do-mel, pela abundância na paisagem, parece complementar os serviços dos polinizadores selvagens, levando a maiores produtividades (Gaspar 2020; Gaspar et al., submetido). Os resultados obtidos em cada pomar foram compilados e preparados relatórios individuais para todos os produtores envolvidos. Estes dados foram complementados com a informação recolhida em larga escala no projeto de ciência cidadã sobre a diversidade global de insetos nos pomares de kiwi e potenciais pragas (Figura 5). Dada o potencial impacto de uma praga emergente no nosso território (Gaspar et al. 2019a, 2019b; Grosso-Silva et al. 2020), foi implementada uma campanha de divulgação e sensibilização sobre o percevejo asiático envolvendo diversas tipologias de informação.

Relativamente à aplicação de pólen conclui-se que é importante avaliar os potenciais défices para apoio à tomada de decisão ao nível local. A polinização manual produziu resultados superiores à polinização artificial alocada pelo produtor, o que pode indicar a necessidade de rever possíveis limitações à metodologia (Castro et al. 2021b).



Figura 5 - Polinizadores de kiwi: *Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Bombus pascuorum*, *Eristalis tenax*, *Sphaerophoria scripta*, *Dasysyrphus* sp.

No eixo de **Identificação de um conjunto de progenitores mais resistentes aos fatores bióticos/abióticos nacionais** foram otimizados protocolos de clonagem *in vitro* através de proliferação de meristemas axilares e organogénese. Diferenças assinaláveis foram detectadas na viabilidade e capacidade germinativa de diferentes tipos de pólen quanto à origem e ano. Conclui-se ainda que o pólen pode ser mantido durante vários anos conservado no frio. A sua aplicação é mais eficiente a seco do que em solução e a utilização de *pollen extenders* não tem um impacto muito acentuado nas taxas de germinação (Figura 6).

No eixo **Monitorização de fatores bióticos e abióticos** foi desenvolvida a plataforma i9Kiwi que se baseia num Sistema de Informação Georreferenciada, capaz de monitorizar um pomar através da obtenção, tratamento e apresentação de dados abióticos recolhidos por uma rede de sensores sem fios. Este sistema tem ainda a capacidade

de calcular diversos índices bioclimáticos e disponibiliza um sistema de alarmística, que é acionado sempre que os dados cumprem condições predefinidas.

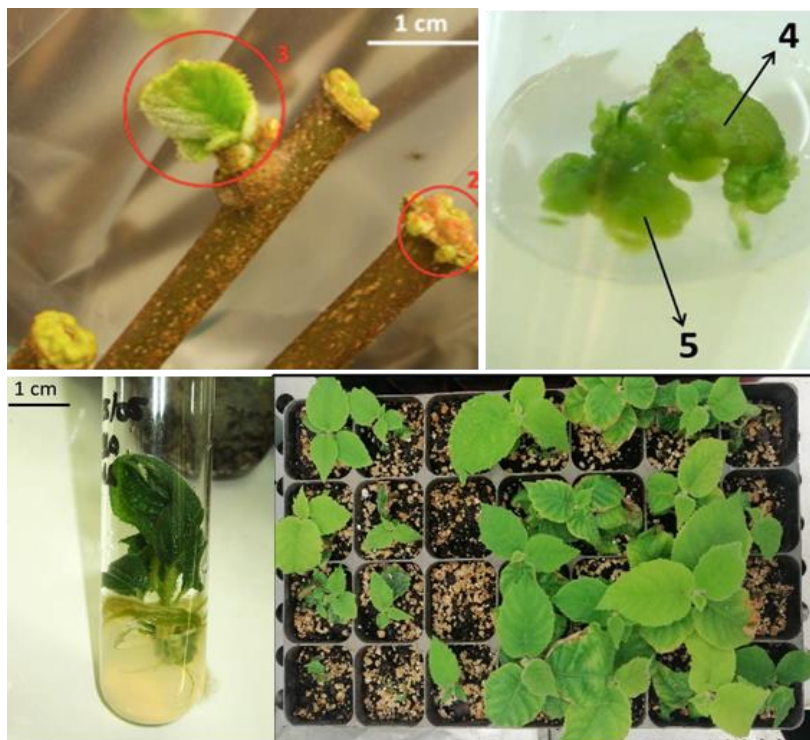


Figura 6 - Clonagem in vitro de *Actinidia deliciosa* através de proliferação de meristemas axilares e organogénese.

A plataforma i9Kiwi possibilita ainda a gestão de todos os elementos do Pomar, desde o registo e custeio de intervenções, registo dos diferentes estados fenológicos, até à monitorização de fatores específicos, como doenças, pragas ou insetos. Toda esta informação é agrupada por campanhas, permitindo ao kiwicultor gerar automaticamente o caderno de campo no fim de cada campanha. Para além do caderno de

campo, o kiwicultor pode ainda gerar um mapa de custos associados às intervenções realizadas no pomar (Figura 7).

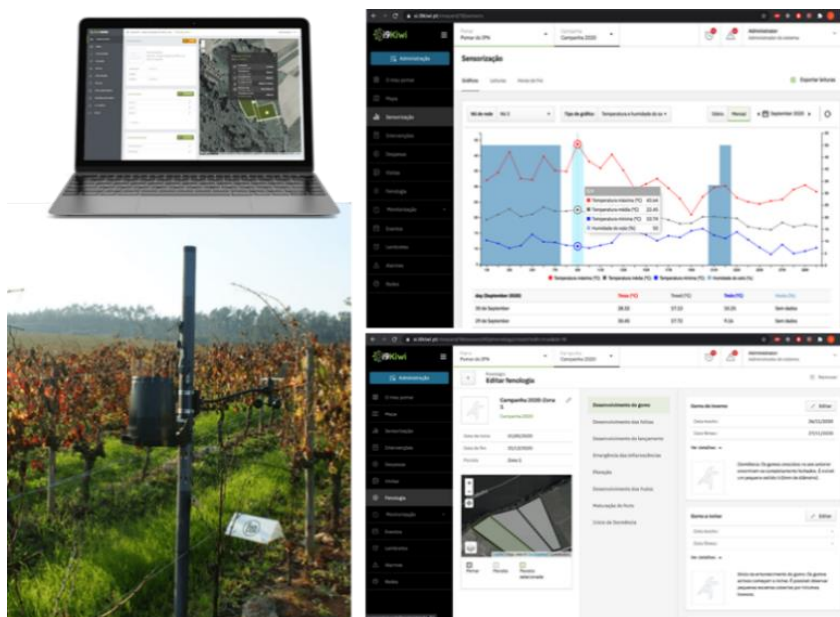


Figura 7 - Plataforma i9Kiwi desenvolvida no âmbito do i9Kiwi e sensores sem fios otimizados para a cultura.

As atividades de **Disseminação, divulgação e demonstração** realizadas podem ser consultadas no site <https://i9kiwi.pt/>. Até à data, os resultados do i9Kiwi foram divulgados em seis congressos científicos e cinco Seminários Técnicos, com a apresentação de cinco comunicações orais e seis em painel. Em termos de publicações ISI, seis estão publicadas, cinco estão submetidas e quatro em preparação. Foram compilados sete artigos técnicos e concluídas 10 dissertações/monografias. Para o público especializado foram organizadas cinco Jornadas Técnicas, 20 relatórios individuais sobre a quantificação e identificação dos polinizadores em pomares de kiwi e

estão previstas para o segundo semestre de 2021 três ações de demonstração. Para o público em geral foram criados diversos conteúdos de transferência e valorização do conhecimento. A equipa do i9Kiwi participou em programas de comunicação social e atividades de divulgação. Está previsto para o final de 2021 a organização de um congresso. Foram ainda produzidos cinco relatórios de acompanhamento submetidos à autoridade de gestão (Figura 8).



Figura 8 - Algumas das atividades de Disseminação, divulgação e demonstração realizadas no âmbito do Grupo Operacional i9Kiwi que podem ser consultadas na íntegra no site <https://i9kiwi.pt/>.

Conclusão

Em suma, a inovação em produtos e processos do i9Kiwi contemplam: a caracterização de bactérias quanto ao seu potencial antagonista da Psa *in vitro* e *in vivo*; a compilação de uma coleção de 105 bactérias caracterizadas para o seu potencial enquanto promotor de crescimento; protocolos otimizados para aplicação de pólen; protocolos otimizados para a clonagem *in vitro* de *Actinidia deliciosa* através de proliferação de meristemas axilares e organogénese; Plataforma de

apoio à decisão i9Kiwi - Sistema de Monitorização e Gestão do Pomar; coleção de cultura de com mais de 60 géneros bacterianos; coleção de insetos naturalmente presentes em pomares de kiwi; coleção de insetos polinizadores de kiwi.

Agradecimento: Este trabalho foi suportado pelos Grupos Operacionais EPI-AGRI "I9K-InovKiwi-Desenvolvimento de estratégias para a sustentabilidade do sector dos kiwis através da criação de um produto de valor acrescentado" promovido pelo PDR2020 e co-financiado pelo FEADER ao abrigo do Acordo de Parceria Portugal 2020 (PDR2020-101-031204). Todos os autores agradecem a Associação Portuguesa de Kiwicultores e os produtores que colaboram no trabalho.

Referências bibliográficas

- Ares, A., Tacão, M., Figueira, D., Garcia, E. e Costa, J. 2020. Draft genome resources of six *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* strains isolated from *Actinidia chinensis* cv. *deliciosa* leaves in Portugal. *Phytopathology*. Online. doi: 10.1094/PHYTO-05-20-0184-A.
<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-05-20-0184-A>
- Ares, A., Pereira, J., Garcia, E., Costa, J. e Tiago, I. 2021a. Phyllosphere microbiome of female and male kiwifruit plants in distinct seasons: assessing the impact of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* infection. Posted online on 22 Apr 2021, First Look. *Phytobiomes Journal*.
- Ares, A. et al. 2021b. Cultivated phyllosphere microbiota of kiwifruit plants – the impact of season and *Psa* infection. Em preparação
- Ares, A., Garcia, E., Tacão, M. e Costa, J. 2021c. Comparative genomics reveals strain-level differences in virulence-related content between *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* isolated from Portuguese kiwifruit orchards. Accepted for publication. *Frontiers in Microbiology*.
- Balestra, G.M., Renzi, M., e Mazzaglia, A. 2010. First report of bacterial canker of *Actinidia deliciosa* caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Portugal. *New Disease Reports*, 22(10), 588–2044.

- Casais, et al. 2021. The phyllosphere microbiota of kiwifruit as a reservoir for PGPB and biological control for Psa. Em preparação
- Castro, H., Siopa, C., Casais, V., Castro, M., Loureiro, J., Gaspar, H., Dias, M.C. e Castro, S. 2021a. Spatiotemporal variation in pollination deficits in an insect-pollinated dioecious crop. *Plants* 10(7), 1273 <https://doi.org/10.3390/plants10071273>.
- Castro, H., Siopa, C., Casais, V., Castro, M., Loureiro, J., Gaspar, H. e Castro, S. (2021b) Pollination as a key management tool in crop production: Kiwifruit orchards as a study case. *Scientia Horticulturae*.
- Figueira, D., Garcia, E., Ares, A., Tiago, I., Veríssimo, A. e Costa, J. (2020) Genetic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*: seasonal and spatial population Dynamics. *Microorganisms*. 8(6):931. doi: 10.3390/microorganisms8060931 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7357126/pdf/microorganisms-08-00931.pdf>
- Gaspar, H. 2020. Impact of insect diversity and abundance in kiwi orchards's production. Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra.
- Gaspar, H., Loureiro, J., Castro, H., Siopa, C., Castro, M., Casais, V. e Castro, S. Impact of local practices and landscape on the diversity and abundance of pollinators in an insect-dependent Castro et al. Spatiotemporal variation in pollination deficits in an insect-pollinated dioecious crop. Submetido. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.
- Gaspar, H., Loureiro, J., Costa, J., Castro, S. 2019a. Percevejo asiático, a praga agrícola que quer viver consigo bate à porta. *Voz do Campo* 229 (seção Agrociência): I-II.
- Gaspar, H., Castro, S. e Loureiro, J. 2019b. Percevejo asiático (*Halyomorpha halys*) – O Ciclo de Vida. *Boletim da Associação Portuguesa de Kiwicultores* 58: 3.
- Grosso-Silva, J.M., Gaspar, H., Castro, S., Loureiro, J., Amorim, F. e Van der Heyde, T. 2020. Confirmation of the presence of *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae) in mainland Portugal. *Arquivos Entomologicos*. 22: 373-376. https://i9kiwi.pt/wp-content/uploads/2020/10/Grosso_silva_et_al_2020.pdf

GO MacFertiQual - Novos métodos de diagnóstico nutricional em macieiras 'Gala' visando a sustentabilidade e a qualidade

MACFERTIQUAL

Parceria

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa (**Líder**);
 APMA – Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça;
 Campotec IN – Cons. e Transformação de Hortofrutícolas, SA;
 COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
 Centro de Competências
 INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP;
 FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;
 FRUTALCOA;
 Frubaça – Cooperativa de Hortofruticultores CRL;
 Granfer – Produtores de Frutas, CRL;
 Produtor – António Magalhães.

Palavras-chave: nutrição mineral; PRODI; produtividade; reflectómetro.

Website: <https://macfertiqual.webnode.pt/>

Investimento total: 365 798,00 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO MacFertiQual

1. Obter informação com base em análises efetuadas numa fase mais antecipada do ciclo comparativamente aos 90-110 DAPF;
2. Determinar os níveis de nutrientes adequados para pomares intensivos de ‘Gala’ na região de Alcobaça e seu efeito na produtividade e qualidade da maçã ‘Gala’
3. Testar a utilização do RQFlex® para medição na seiva dos teores minerais.

Equipa do GO MacFertiQual

Entidades	Pessoas
A. Magalhães	António Magalhães
APMA	Susana Costa
Campotec IN	Délio Raimundo, Ricardo Soares
COTHN-CC	Carmo Martins, Helder Coelho
FCUL	Ana Cristina Figueiredo, Ana Rita Matos Anabela Bernardes da Silva, Cláudia Tavares (bolseira), Carolina Ferro Rodrigues (bolseira), Cristina Cruz, José G. Barroso, Jorge Marques da Silva, Juliana Melo, Luís G. Pedro, Mafalda Pastaneira, Marília Antunes
Frubaça	Anabela Maurício, João Paulo Crisóstomo, Nuno Franco
Frutalcoa	Anabela Maurício
Granfer	Cristina Rosa, João Faria
INIAV IP	Miguel Leão, Rui de Sousa
ISA	Cristina Oliveira, Cristiana Gomes (bolseira) Gonçalo Policarpo (bolseiro), Henrique Ribeiro, Layenne Spry (bolseira), Maria João Teixeira, Mariana Mota, Miguel Martins, Patrícia Almeida (bolseira)
Colaboradores	Chiara Murena (ISA) e Marta Gonçalves (INIAV)

GO MacFertiQual - Fertilização de precisão em pomares de Macieira ‘Gala’

Cristina Moniz Oliveira^{1,2*}, Ana Cristina Figueiredo³, Mariana Mota^{1,2}, Henrique Ribeiro^{1,2}, Anabela Maurício⁴, Cristina Rosa⁵ João Faria⁵, Ricardo Santos⁶, Miguel Leão de Sousa⁷ e Rui de Sousa⁷

¹ISA - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

²LEAF, Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center ISA, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

³CESAM Lisboa, CBV, DBV, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa

⁴FRUBAÇA - Cooperativa de Horto - Fruticultores, C.R.L. Lugar Acipreste Aptd. 12, Alcobaça, Leiria, 2460-471 Alcobaça.

⁵GRANFER - Produtores de Frutas, CRL. Rua Principal 167, 2510-772 Usseira

⁶CAMPOTEC IN - Cons. e Transformação de Hortofrutícolas, SA. EN 9, 2560-393. Silveira, Torres Vedras

⁷INIAV, I.P., Polo Alcobaça, Estrada de Leiria, 2460-059 Alcobaça

*Email: crismoniz@isa.ulisboa.pt

Resumo

O projeto MacFertiQual pretende através de ensaios em 5 pomares localizados no INIAV, FRUBAÇA, GRANFER e CAMPOTEC IN, estudar durante 4 anos o conteúdo de nutrientes em diferentes órgãos ao longo do ciclo, com vista a (i) obter informação com base em análises efetuadas numa fase mais antecipada do ciclo comparativamente aos 90-110 DAPF; (ii) determinar os valores mais adequados de fertilização para os pomares atuais (iii) testar a utilização do RQFlex[®] para medição na seiva dos teores minerais. Nestes pomares implementaram-se três estratégias de fertilização: i) de acordo com os valores recomendados pelas regras de produção integrada (PRODI), ii) o dobro dos valores da PRODI (2xPRODI) e iii) 2xPRODI com matéria orgânica (2xPRODI+MO). Para além das análises minerais aos diferentes órgãos e análises de

seiva avaliou-se a produção e a qualidade dos frutos. A avaliação da qualidade dos frutos foi realizada por análise da componente volátil e de parâmetros fisiológicos. Neste trabalho apresenta-se os resultados da produtividade e da qualidade dos frutos de acordo com as três estratégias, de 2018 a 2020. Descreve-se ainda o protocolo para análise de seiva através do reflectómetro de campo RQflex®, que foi testado para medição na seiva dos teores de N-NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} correlacionando-se os resultados com os obtidos pelos métodos laboratoriais de referência (ICP-OES e espectroscopia UV/Vis).

Os resultados da produção mostram diferenças entre estratégias e anos, os valores de produtividade da estratégia PRODI foram em média, para os três anos, inferiores às produtividades das outras estratégias nos pomares que estão em plena produção. Quanto ao peso médio do fruto, em dois pomares, a estratégia PRODI conduziu a frutos de menor calibre comparativamente com a 2xPRODI ou 2xPRODI+MO. Em 2020, ano em que todos os pomares atingiram a plena produção, a estratégia PRODI conduziu a menores produtividade e menores calibres comparativamente às outras estratégias.

Em termos de qualidade, dados preliminares sugerem que o tempo de armazenamento e a modalidade de fertilização afetam mais o índice de emissão de voláteis do que o seu perfil qualitativo. Os parâmetros de qualidade como a firmeza e Brix não foram afetados de forma consistente pela fertilização ou conservação pós-colheita.

Em relação ao RQFlex®, os resultados de 2020 confirmam os resultados de 2019, tendo-se obtido correlações estatisticamente significativas entre este método e o método laboratorial de referência, atestando a fiabilidade deste método expedito que poderá facilitar a monitorização da concentração destes nutrientes tão importantes para a qualidade da maçã e cujos excessos podem ser nefastos para o ambiente.

Palavras-chave: maçã; nutrição mineral; PRODI; produtividade; reflectómetro; voláteis.

Abstract

The MacFertiQual project intends, through trials in 5 orchards located in INIAV, FRUBAÇA, GRANFER and CAMPOTEC IN, to study for 4 years the content of nutrients in different organs throughout the cycle. It aims to (i) obtain information based on analyzes carried out at a earlier stage of the cycle compared to 90-110 DAFB; (ii) determine the most appropriate fertilization values for the current orchards (iii) test the use of RQFlex® for measurement in the sap of mineral contents. In these orchards, three fertilization strategies were implemented, i) according to the rules of integrated fruit production (PRODI), ii) 2xPRODI and iii) 2xPRODI with organic matter (2xPRODI+MO). In addition to mineral analyzes of different organs and sap analyzes, fruit production and quality were also evaluated. The evaluation of the quality of the fruits was carried out by analyzing the volatile component and physiological parameters. This work presents the results of productivity and fruit quality according to the three strategies from 2018 to 2020. The protocol for sap analysis through RQflex® is also described, which was tested to measure the sap content of N-NO₃⁻, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ correlating the results with those obtained by reference laboratory methods (ICP-OES and UV/VIS-spectrophotometry).

The results of production show differences between strategies and years, the productivity values of the PRODI strategy were, on average, for the three years under analysis, lower than the productivity of other strategies in orchards that are in full production. Regarding the average weight of the fruit, in two orchards, the PRODI strategy led to smaller fruits compared to 2xPRODI or 2xPRODI+MO. In 2020, the year in which all orchards reached full production, the PRODI strategy led to lower productivity and lower fruit weight compared to other strategies. Preliminary data of fruit quality indicate that the storage time and fertilization strategy influence more the volatile emanation index than its qualitative profile. Fertilization or post-harvest storage time did not affect consistently quality characteristics such as firmness and Brix by fertilization or post-harvest storage.

In relation to the RQFlex® the 2020 results confirm the results of 2019, this method and the standard laboratorial method, showed statistically significant correlations attesting to the reliability of this expeditious method that may facilitate the monitoring of the concentration of these nutrients so important for the quality of the apple and whose excesses can be harmful to the environment.

Keywords: apple; mineral nutrition; PRODI; productivity; reflectometer; volatiles.

Introdução

Os pomares atuais de macieira 'Gala', com compassos mais intensivos (ex. 3,30 m x 0,85 m e 3,80 m x 0,70 m), em regadio e produtividades superiores a 50 t/ha, necessitam de uma fertilização de precisão. Esta questão levanta o problema de saber se os níveis de nutrientes recomendados pela estratégia de produção integrada (PRODI) (INIAP, 2006) continuam a ser os adequados para este tipo de pomares. Por outro lado, numa fruticultura de precisão seria de extrema importância poder realizar análises expeditas de forma a monitorizar os níveis de nutrientes e ajustar os programas de fertilização em tempo real, de acordo com as necessidades das plantas, condições de campo e época do ciclo. Neste trabalho pretendeu-se divulgar uma parte dos resultados do projeto, em particular o efeito destas estratégias de fertilização na produtividade dos pomares, no calibre e qualidade dos frutos, sendo que a qualidade dos frutos está muito dependente da nutrição (Musacchi & Serra 2018), tendo sido já estabelecido relações entre determinados nutrientes e a qualidade da maçã (Jivan & Sala, 2014).

Como alternativa ou complemento à análise foliar, que deve ser feita na fase pós-floração (INIAP, 2006), a análise de seiva começa a ser utilizada em fruteiras (Cadahia-López, 2008). Como parte do trabalho do Grupo Operacional MACFERTIQUAL no ISA foi conduzido um estudo com o propósito de avaliar, no extrato peciolar de macieira (cv. 'Gala'), a qualidade da relação entre a concentração dos iões $N-NO_3^-$,

K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} medida por um método expedito, o RQflex®, e a concentração dos mesmos iões medida pelos métodos laboratoriais de referência (ICP-OES e espectroscopia UV/Vis). O kit RQflex® é composto pelo reflectómetro e pelas tiras respetivas (Figura 1), que são específicas para cada ião. As tiras RQflex® são submergidas numa diluição de “seiva”, desenvolvem cor durante um tempo padrão e a intensidade da cor é medida utilizando um reflectómetro. A quantidade de luz refletida pela tira é medida e convertida numa concentração, através de uma calibração feita antes da medição. Em 2019, com este método rápido obtiveram-se coeficientes de determinação elevados, entre o método expedito RQflex® e os métodos laboratoriais de referência, na determinação dos iões $N-NO_3^-$ ($R^2 = 0,85$), K^+ ($R^2 = 0,86$), Mg^{2+} ($R^2 = 0,81$) e Ca^{2+} ($R^2 = 0,95$) (Almeida et al., 2020 a,b). Demonstrada esta boa correlação, descreve-se aqui o protocolo das análises das seivas dos pecíolos com o RQflex® e apresenta-se os resultados relativos a 2020.



Figura 1 - Fotografia do RQFlex® e da tira de medição do potássio (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Material e métodos

O projeto teve início em 2018, tendo sido selecionados 5 pomares caracterizados no Quadro 1 onde se implementaram 3 estratégias de fertilização. A estratégia i) PRODI, de acordo com as normas de produção integrada com as análises existentes relativas a uma produção esperada de 40 t/ha, ii) o dobro da PRODI (2xPRODI) e iii) 2xPRODI com matéria orgânica (2xPRODI+MO), dose igual à anterior, mas recorrendo à aplicação de estrume, tendo-se retirado as unidades de nutrientes fornecidas pelo estrume/granulado (considerou-se 1 ano para mineralização). A adubação foi fracionada, sendo 40% das unidades fornecidas no caso dos solos franco-arenoso e 50% no caso dos solos argilosos no início do ciclo, o restante em fertirrega e em adubação pós-colheita.

Quadro 1 - Caracterização sumária dos pomares selecionados no projeto MACFERTIQUAL.

Código pomar	Ano plan-tação	Coordenadas (Lat Long)	Freguesia	Clone	Porta-enxerto	Com-passo (m x m)	Densi-dade (árv./ha)
AM	2016	39°26'59.95"N 9°01'05.14"W	Santa Catarina	Schniga Schn iCo	M9 T337	3,80 x 0,70	3759
CAM	2016	39°30'55.01"N 9°00'54.71"W	Cela Nova	Gala Schnico	M9	3,30 x 0,85	3490
FRA	2015	39°35'20.06"N 8°59'11.40"W	Maiorga	Venus Fengal	M9 T337	3,80 x 0,80	3289
GR	2015	39°28'30.48"N 9°07'12.72"W	Alfeizerão	Gala Brookfield	M9	4,00 x 1,00	2500
INIAV	2004	39°32'55.36"N 8°57'22.52"W	Alcobaça	Galaxy Selecta	M9 EMLA	4,50 x 1,20	1852

Análises de solo

Realizaram-se análises de solo em 2018 (antes da implementação das estratégias) determinando-se o pH, condutividade elétrica, carbonatos, matéria orgânica, azoto mineral, macro e micronutrientes extraíveis e bases de troca.

Análise da produção

A produção foi avaliada em 15 árvores (5 árvores x 3 repetições) por estratégia, determinando-se o número de frutos e o peso da produção por árvore, de forma a calcular a produtividade e o peso médio dos frutos.

Extração e análise da componente volátil

A extração da componente volátil foi realizada por a) microextração em fase sólida (SPME), à temperatura ambiente, e por b) hidrodestilação dos frutos, como detalhado em Gonçalves et al. (2020). A extração foi

realizada em duplicado, utilizando-se duas amostras coletivas de 7 frutos intactos, por condição de análise (Figura 2). Os voláteis extraídos por SPME foram analisados por Cromatografia Gasosa (GC) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS), de acordo com metodologia utilizada no laboratório (Tavares et al. 2020), (Figura 2).

Foi ainda avaliado o índice de emissão das diferentes amostras, isto é, uma determinação comparativa dos voláteis emitidos pelas maçãs. Considerou-se que todos os compostos emitidos pela amostra são captados pela fibra de SPME, e que todos estes compostos são totalmente desorvidos no injetor do GC, ou do GC-MS, como detalhado em Ferro Rodrigues (2019). A composição percentual dos voláteis isolados foi utilizada na determinação da relação entre as diferentes amostras, pela análise de cluster, usando o programa NTSYS, como detalhado em Gonçalves et al. (2020).

Avaliação de parâmetros fisiológicos

O peso, cor, dureza, teor total de sólidos solúveis e acidez, foram determinados em todos os frutos de cada amostra recorrendo aos métodos usualmente disponíveis nos laboratórios das associações de produtores (Rosário et al. 2014)(Figura 2).

Os frutos que compunham cada amostra coletiva, foram ainda sujeitos a análises fisiológicas detalhadas. Para o efeito, foram extraídos três cilindros próximos do local de determinação da dureza, Figura 2, com 0,7 a 0,9 cm de diâmetro. Imediatamente após a extração dos três cilindros, separou-se a superfície para quantificação dos pigmentos e a polpa foi congelada em N₂ líquido e armazenada a -80° C para ulterior homogeneização em N₂ e quantificação de açúcares solúveis e de L-malato, como detalhado em Ferro Rodrigues (2019).



Figura 2 - A. Aspeto da recolha de voláteis por SPME, de amostras coletivas de maçãs Gala (T0), colocadas em exsicadores, à temperatura ambiente. **B.** Isolamento dos voláteis por hidrodestilação num destilador de Clevenger. **C.** Aspeto representativo do seccionamento das maçãs, para os diversos ensaios. Três seccionamentos em cada maçã, e em cada seccionamento um orifício de maior diâmetro correspondente à determinação imediata da dureza, °Brix e pH, e um de menor diâmetro, de recolha de amostras para posterior determinação de açúcares solúveis e L-malato. (barra = 1 cm).

Análises de Seiva por RQFLEX®

O processamento de pecíolos de folhas para análise e o vídeo formativo do procedimento RQFLEX® encontram-se em <https://macfertiqual.webnode.pt/acoes/>. Este procedimento está também descrito em <https://macfertiqual.webnode.pt/documentacao/>. Neste tipo de análise as regras da colheita de amostra (8:00 até 10:00h, folhas sem humidade, folhas do terço médio) e o congelamento dos pecíolos são procedimentos importantes para obter dados consistentes. Para a determinação dos iões N-NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} são necessárias cerca de 8 folhas por árvore de 15 árvores cujos pecíolos são cortados (cerca de 0,5 cm) e congelados (durante pelo menos uma noite) para facilitar o processo de obtenção da seiva que é feita através da extração, por meio de uma prensa hidráulica, da fração líquida dos

pecíolos. Devido à elevada concentração da seiva, é essencial diluí-la em água destilada, uma vez que as tiras medem em gamas bastante baixas. Estes fatores podem variar com a cultivar e/ou época do ano. Os fatores de diluição para maçã Gala estão descritos no quadro 2.

Quadro 2 - Fatores de diluição para pecíolos de folhas 45 e 90-11 DAPF de ‘Gala’ e resultados finais

Ordem	Teste RQFLEX®	Fator de Diluição (F)	Diluições	Cálculos para Resultados
1	NO ₃ ⁻	1x	Sem diluição	Leitura x F = NO ₃ ⁻ mg/L ou Leitura x F x 0.226 = N-NO ₃ ⁻ mg/L
2	K ⁺	10x	100 µL de seiva + 900 µL de água dest.	Leitura x F = K ⁺ g/L
3	Ca ²⁺	5x	200 µL de seiva + 800 µL de água dest.	Leitura x F = Ca ²⁺ mg/L
4	Mg ²⁺	5x	200 µL de seiva + 800 µL de água dest.	Leitura x F = Mg ²⁺ mg/L

Resultados e discussão

Análises de solo

O resumo dos resultados das análises de solo encontra-se no Quadro 3. Trata-se de solos de pH neutro ou pouco alcalino, não salinos, de textura fina com teor de matéria orgânica baixo e teores de fósforo e potássio muito altos. Os micronutrientes encontram-se em todos os solos altos ou muito altos (dados não apresentados).

Quadro 3 – Resumo das análises de solos dos pomares em 2018

Pomar	pH	textura de						
		CE	campo	MO	N-NH ₄	N-NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O
		(mS/cm)		(%)	----- mg kg ⁻¹ -----			
AM	8,0	0,15	argilosa	1,44	10,9	3,3	552	437
CAM	7,3	0,32	argilosa	1,60	9,5	12,7	958	393
FRA	7,2	0,14	franco- argilosa	1,50	8,4	7,4	920	203
GR	8,3	0,24	argilosa	1,67	11,1	13,2	323	305
INIAV	7,8	0,21	argilosa	1,80	9,7	15,7	391	213

Análise da produção

Nas Figuras 3 e 4 estão representadas a produtividade (t/ha) e o peso médio dos frutos dos 5 pomares, de acordo com as 3 estratégias de fertilização relativas aos anos 2018 a 2020. Em termos de produtividade, o ano de 2019 foi um ano mais favorável comparativamente a 2018 e 2020 e no caso dos pomares plantados em 2016 (AM, CAM, FRA). Considerando a média destes 3 pomares, a produtividade aumentou de 2018 para 2020 de 32,2 t/ha, 23,3 t/ha e 26,8 t/ha em 2018, para 54,5 t/ha, 35,8 t/ha e 55,4 t/ha, em 2020. Nos pomares GR e INIAV a produtividade estava estabilizada e foi em média para os 3 anos de 48,3 t/ha e 34,3 t/ha, respetivamente. Em relação às estratégias nos pomares jovens (AM, CAM, FRA) a produtividade não foi estatisticamente diferente entre as estratégias, considerando a média dos 3 anos, mas no caso dos pomares GR e INIAV as diferenças foram estatisticamente significativas. No pomar GR o tratamento PRODI resultou em produtividade inferior às estratégias 2xPRODI e 2xPRODI+MO e no caso do pomar INIAV o tratamento PRODI resultou em produtividade inferior à estratégia 2xPRODI, esta diferença terá de ser investigada e provavelmente os resultados do próximo ano ajudarão a esclarecer este aspeto (Figura 3). A idade do pomar teve influência nestes resultados, sendo que as diferenças das produtividades entre

estratégias vão sendo mais nítidas à medida que o pomar atinge a plena produção. Se analisarmos o ano de 2020, ano em que os pomares estão todos em plena produção, e retirarmos o efeito do pomar verifica-se que as estratégias influenciaram ($P<0,001$) a produtividade. Assim, as estratégias 2xPRODI e 2xPRODI+MO resultaram em maiores produtividades com valores de 42,4 t/ha e 41,6 t/ha, respetivamente e a PRODI resultou numa produtividade média de 35,8 t/ha.

O peso médio do fruto é uma variável importante na rentabilidade do pomar, dado que para maçãs Gala os preços pagos ao produtor são 0,20 €, 0,30 € e 0,40 € de acordo com o seu peso (diâmetro), 115-130 g (60-65 mm), 130-149 g (65-70 mm) e >150 g (>70 mm), respetivamente (Soares, comunicação pessoal, 2020). De uma forma geral, nos pomares em que a produção foi menor, o peso do fruto foi maior, em particular em 2018 e 2019 no caso dos pomares AM, CAM e FRA onde se obtiveram pesos médios dos frutos superiores a 150 g (Figura 4). No caso do pomar GR o calibre foi mais baixo em 2018 e no caso do INIAV a maior produção de 2019 também se refletiu num menor calibre. Relativamente às estratégias, considerando a média dos 3 anos, em dois pomares (CAM e FRA) a estratégia PRODI conduziu a frutos de menor calibre comparativamente com a 2xPRODI ou 2xPRODI+MO. Em 2020, retirando o efeito do pomar, as estratégias influenciaram o peso médio do fruto ($P<0,01$), que foi de 143,2 g na estratégia 2xPRODI, 142,1 g na estratégia 2xPRODI+MO e 135,5 g na PRODI, sendo que os dois primeiros valores foram estatisticamente superiores ($P<0,05$) ao último.



Figura 3 - Produção em toneladas por hectare dos 5 pomares em estudo no período 2018 a 2020 de acordo com as estratégias de fertilização PRODI, 2xPRODI e 2xPRODI+MO.

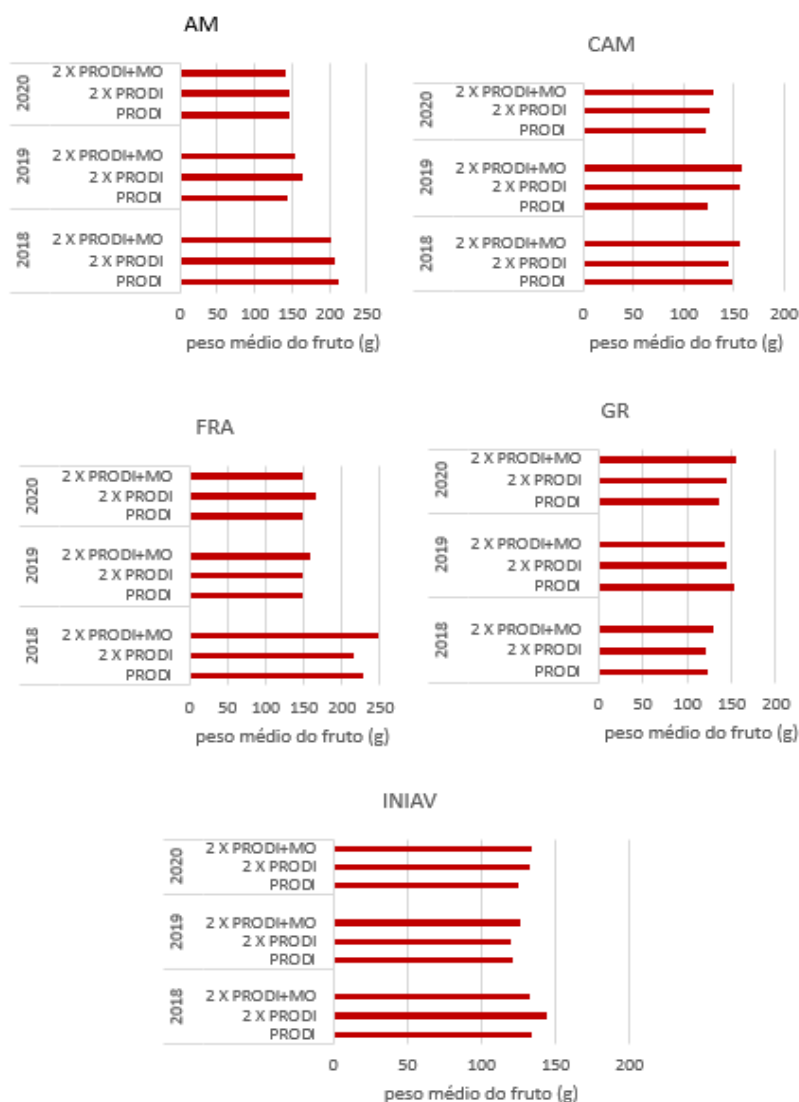


Figura 4 - Peso médio dos frutos (g) dos 5 pomares em estudo no período 2018 a 2020 de acordo com as estratégias de fertilização PRODI, 2xPRODI e 2xPRODI+MO.

Componente volátil e parâmetros fisiológicos

Está, atualmente, em curso a avaliação integrada dos resultados obtidos com as maçãs ‘Gala’, colhidas em pomares sujeitos a diferentes modalidades de fertilização, em 2018, 2019 e 2020, e recolhidas nos dois pontos temporais de análise, em T0, após colheita das maçãs, e em T3 (2018) ou T5 (2019 e 2020), 3 ou 5 meses após conservação em atmosfera normal.

Como detalhado em Ferro Rodrigues (2019) e em Pastaneira et al. (2019), e tomando como exemplo a colheita de 2018, o perfil volátil das maçãs, analisadas por SPME, em T0 e em T3 foi semelhante, sendo caracterizado pela dominância de trans,trans- α -farneseno (33-75 % e 41-68%, respetivamente) e de éster hexílico do ácido 2-metil butírico (1-17 % e 3-14%), independentemente da modalidade de fertilização (Figura 5A). Contudo, apesar desta semelhança qualitativa, 73% das amostras mostraram decréscimo da intensidade de emissão de voláteis, entre 18 a 27%, de T0 para T3 (Figura 5B).

Os parâmetros fisiológicos usuais não foram afetados de forma consistente pela fertilização ou conservação pós-colheita, com, por exemplo, uma dureza média de 7 kg / cm² em T0 e T3 (Figura 6A). Contudo, embora em termos médios o teor total de sólidos solúveis (TSS) tenha sido semelhante em T0 e T3, cerca de 13° Brix (Figura 6B), o TSS determinado nas amostras compostas em que se dosearam os diferentes açúcares solúveis (glucose, frutose, sacarose e sorbitol) apresentou correlação relevante com o teor de glucose, frutose ou sacarose + glucose + frutose, podendo essas correlações ser afetadas pelas modalidades de fertilização, o que não se observou com o sorbitol.

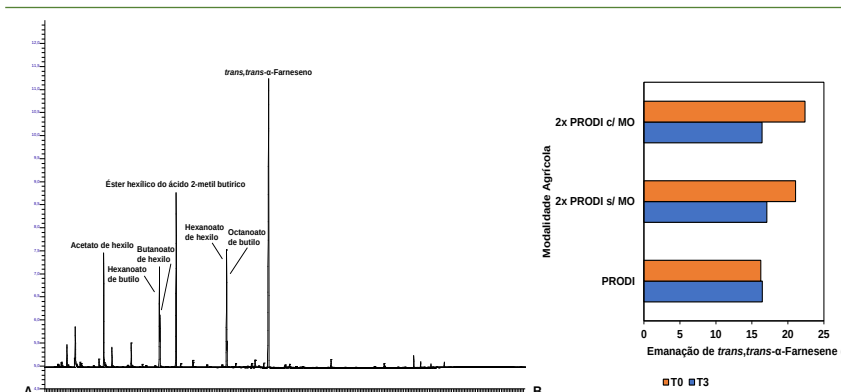


Figura 5 - A. Cromatograma representativo do perfil volátil das maçãs Gala, analisadas por SPME em T0. B. Índice de emissão de trans,trans-α-farneseno (mV/s) por modalidade agrícola, em T0 e T3. Para abreviaturas *vide* material e métodos.

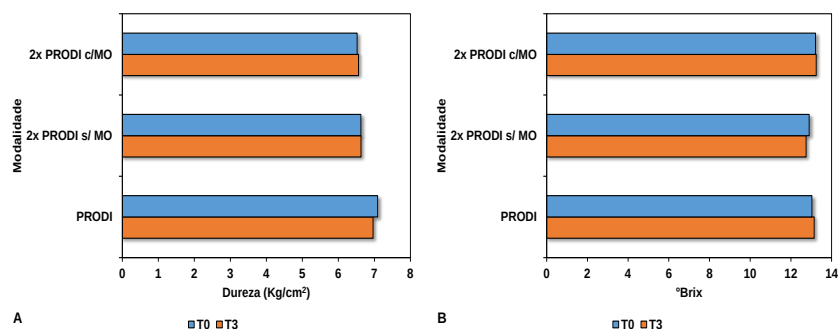


Figura 6 - Variação da dureza (A) e °Brix (B) das amostras coletivas de maçãs Gala de acordo com a modalidade agrícola. Para abreviaturas *vide* material e métodos.

Resultados do RQflex®

Em 2019, obtiveram-se coeficientes de determinação elevados entre o método expedito RQflex® e os métodos laboratoriais de referência para

os iões N-NO_3^- , Ca^{2+} e Mg^{2+} e K^+ . Nestes trabalhos mostrou-se também que ao longo do ciclo os teores de N-NO_3^- , Ca^{2+} e Mg^{2+} , desde o dia 28 até ao dia 147 após a plena floração (DAFP), vão aumentando e no caso do K^+ o teor mantém-se, mas a partir dos 90 DAPF diminui ligeiramente.

Com os iões fosfato e amónio a relação entre os resultados obtidos pelas duas metodologias de análise não foi satisfatória. Na seiva, o P está presente como fosfato inorgânico, que é quantificado pelas tiras de teste rápido, mas também como fósforo orgânico, em diferentes compostos orgânicos (Marschner, 2012). O ICP-OES destrói todas as estruturas químicas da seiva, uma vez que as temperaturas do plasma de argon podem variar de 7480 a 7910 K (Scheffler & Pozebon 2015), o que leva a maiores concentrações de P na seiva medidas pelo ICP-OES, em comparação com as baixas concentrações determinadas pelos testes rápidos que apenas quantificam P na forma de fosfato. Além disso, a proporção de formas de P orgânico e inorgânico na seiva é variável e as medições do ICP-OES sugerem uma maior variação das formas orgânicas de P. A determinação do conteúdo em N-NH_4^+ na seiva pelo teste rápido é particularmente sensível à presença de Fe^{2+} e Fe^{3+} , de acordo com a informações técnicas fornecidas pelo fabricante, o que pode explicar a relação de baixa qualidade entre as determinações do método laboratorial e do método expedito RQflex®. Além disso, nos solos o NO_3^- é a fonte predominante de N para absorção pelas árvores (Tromp & Ova, 1979). Por outro lado, o NH_4^+ absorvido é metabolizado na raiz, não sendo translocado através do xilema para a parte aérea, nem armazenado nos órgãos da macieira. Por este motivo, a concentração deste ião nas plantas é baixa, sendo difícil de quantificar.

Em 2020, pretendemos verificar se os níveis de correlação entre os dois métodos se mantinham considerando os pecíolos das folhas colhidas 45 dias e 90-110 DAPF. A medição com o método RQFlex® foi fiável tanto 45 dias como 90-110 dias DAPF, os valores entre os dois métodos correlacionam-se significativamente. Os técnicos poderão fazer medições para monitorizar os teores destes iões em diferentes parcelas ou ao longo do ciclo. A inexistência de referências para a

análise de seiva em macieira é uma limitação, no entanto, estas já existem em *Olea europaea* L., *Vitis vinifera* L., *Prunus persica* L. e *Citrus* (Cadahía-Lopez 2008). Outra abordagem será correlacionar os resultados das análises de seiva obtidas com o RQflex® com as análises de minerais das folhas, por exemplo, para o cálcio foi obtida uma boa relação entre a análise de seiva dos pecíolos das folhas colhidas a 45 DAPF e a análises de folhas na mesma época (Almeida et al., 2020 a,b).

Conclusões

Nos 3 primeiros anos do projeto verificou-se que em pomares em plena produção, as estratégias de fertilização 2xPRODI e 2xPRODI+MO conduzem a uma maior produtividade e qualidade dos frutos. As estratégias influenciaram mais o índice de emissão de voláteis do que o seu perfil qualitativo. A utilização do RQflex® embora limitada aos nutrientes N-NO_3^- , Ca^{2+} e Mg^{2+} e K^+ na seiva é fiável e permite monitorizar estes elementos ao longo do ciclo. A análise da dinâmica dos nutrientes nos vários órgãos ao longo do ciclo trará pistas sobre uma possível antecipação do diagnóstico nutricional em macieiras Gala.

Referências bibliográficas

- Almeida, P., Mota, M., Ribeiro, H. e Oliveira, C. 2020a. Análise de nutrientes em "seiva" de macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Gala. Agrotec 36:34-35.
- Almeida, P., Oliveira, C., Mota, M. e Ribeiro, H. 2020b. Rapid Sap Nutrient Analysis Methods in *Malus Domestica* Borkh cv. 'Gala', Communications in Soil Science and Plant Analysis, 51:12, 1693-1706, doi: 10.1080/00103624.2020.1791160.
- Cadahia-López. C. 2008. La savia como índice de fertilización. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Ferro Rodrigues C. 2019. Relatório de bolsa de investigação no âmbito do Projeto MACFERTIQUAL (PDR2020-101-031602). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Gonçalves, E., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Henriques, J., Sousa, E. e

- Bonifácio, L., 2020. Effect of *Monochamus galloprovincialis* feeding on *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, oleoresin and insect volatiles. *Phytochemistry* 169, 112159. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112159>.
- Jivan, C., and F. Sala. 2014. Relationship between tree nutritional status and apple quality. *Horticultural Science (Prague)* 41 (1):1–9. doi:10.17221/152/2013-HORTSCI.
- Marschner, H. 2012. Mineral nutrition of higher plants, 3^a Ed., Academic Press, London.
- Musacchi, S., & Serra, S. 2018. Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Scientia Horticulturae*, 234, 409–430. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.057.
- Pastaneira M., C. Ferro Rodrigues, J. Melo, T. Ramos, C. Cruz, M. Antunes, J. Marques da Silva, A. R. Matos, L. Pedro, J. Barroso, A. Bernardes da Silva, A. C. Figueiredo e C. Oliveira 2019. Characterization of physiological parameters and volatile components of “Maçã de Alcobaça” variety Royal Gala, grown under four types of fertilization. XXIII Meeting of the Spanish Society of Plant Physiology / XVI Spanish Portuguese Congress of Plant Physiology, 26 a 28 de Junho, Pamplona, Espanha, p. 232.
- Rosário C., C. M. Oliveira, M. Mota 2014. Monda em macieira ‘Gala’ (*Malus domestica* Borkh.). Estudo de novas substâncias ativas. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 23: 1-8.
- Scheffler, G. L., and D. Pozebon. 2015. Effect of N₂ on emission profile and excitation temperature in axially viewed plasma-ICP OES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 30:468–78. doi:10.1039/C4JA00431K.
- Tavares, C.S., Martins, A., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Duarte, L.C., Gameiro, J.A., Roseiro, L.B., Figueiredo, A.C., 2020. Bioproducts from Forest Biomass: essential oils and hydrolates from wastes of *Cupressus lusitanica* Mill. and *Cistus ladanifer* L. *Industrial Crops and Products* 144, 112034. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112034>.
- Tromp, J., e J. C. Ova. 1979. Uptake and distribution of nitrogen in young apple trees after application of nitrate or ammonium, with special reference to

asparagine and arginine. *Physiologia Plantarum* 45:23–28.
doi:10.1111/j.1399-3054.1979.tb01657.x.



GO Optimal



Parceria

INIAV, I.P – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária,
I.P. (**Líder**);

APMA – Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça

Campotec IN – Conservação e Transformação de Hortofrutícolas, Lda

COTHN-CC – Centro Operativo eTecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências;

FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Frubaça – Cooperativa de Hortofruticultores, CRL

Frutalvor – Central Fruteira, CRL

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

SOATI – Sociedade Agricultura de Grupo, Lda

Sociedade Agrícola da Quinta do Brejo de Vale de Macieira, Lda

Vale do Baça – Sociedade Agrícola, Lda

Palavras-chave: Maçã de Alcobaça; qualidade; densidade de plantação;
poda; interceção e distribuição de luz; modelação; incremento
tecnológico.

Website: <https://go-optimal.webnode.pt/>

Investimento total: 457 888 €

Logótipos dos parceiros



Objectivos do GO Optimal

O objetivo pretendido é definir um intervalo restrito para as densidades de plantação a aconselhar nos novos pomares de "Maçã de Alcobaça" (ajustadas às condições edafo-climáticas da IGP) e caracterizar o tipo de poda a recomendar para estes pomares, de forma a uniformizar um modelo de produção e qualidade nesta região.

Para se atingir este objetivo foram seleccionados e estudados em detalhe pomares modernos em produção com diferentes densidades de plantação e constituídos ensaios demonstrativos de poda nos pomares das entidades envolvidas neste GO. Estes pomares foram alvo de estudos detalhados com recolha de dados fisiológicos e de radiação, que irão sustentar a caracterização dos parâmetros culturais envolvidos na definição de novos itinerários técnicos e ajustamento de técnicas culturais (densidade e poda).

Com a concretização dos objetivos pretende-se alcançar uma tipologia de pomar para a IGP "Maçã de Alcobaça" com densidade e tipo de poda definidas, de forma a atingir produtividades regulares de 50 ton/ha, níveis de coloração superiores a 70%, % de calibres acima de 70 mm superior a 50% e grau Brix superior a 14. No final, espera-se que os produtores possam adotar um modelo de pomar com uma densidade de plantação melhor ajustada à realidade edafo-climática da IGP, assim como a realização de podas racionais, ajustadas e equilibradas que permitam maximizar a qualidade final das maçãs.

Espera-se também contribuir para o incremento tecnológico do pomar de "Maçã de Alcobaça", testando e validando novas tecnologias e modelos de apoio à fruticultura de precisão, que se materializem em novos procedimentos e acelerem a transição para uma fruticultura 4.0.

Todos estes resultados permitirão também vislumbrar modelos de produção disruptivos que terão um papel relevante na produção da próxima década.

Equipa do GO Optimal

Entidades	Pessoas
COTHN-CC	Hélder Coelho
	Patricia Martins Anaia
INIAV, IP	Claudia Sanchez
	Marta Filipa Gonçalves
	Miguel Leão de Sousa (coord.)
	Rui Maia de Sousa
Frutalvor	Davide Cordeiro
	Ricardo Manuel Mendes
Frubaça	Anabela Mauricio
	João Paulo Crisóstomo
	Nuno Franco
Campotec	Délio Raimundo
	Hélia Gouveia
	Ricardo Soares
APMA	Susana Costa
FCUL	Ana Cristina Figueiredo
	Anabela dos Santos Silva
	Jorge Miguel da Silva
	Mafalda Pastaneira
ISA	Cristina Oliveira
	João Paulo Melo e Abreu
	Margarida Moldão
Soc. Agr.Quinta do Brejo	Pedro Sales Jardim
Vale do Baça	Jorge Soares

Otimal - Densidade de plantação em macieiras ‘Gala’: Implicações agronómicas e fisiológicas

Miguel Leão de Sousa¹, Marta Gonçalves¹, Anabela Bernardes da Silva², Juliana Melo², Mafalda Pastaneira², Jorge Marques da Silva², José De Melo-Abreu³, Anabela Maurício⁴, João Crisóstomo⁴, Nuno Franco⁴, Ricardo Soares⁵ e Ricardo Mendes⁶

¹INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, ENFVN, 2460-059 Alcobaça, Portugal

²BiolSI, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

³ISA - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 1349-017 Lisboa, Portugal

⁴Frubaça CRL, 2460-471 Alcobaça, Portugal

⁵Campotec IN, 2560-393 Silveira, Torres Vedras, Portugal

⁶Frutalvor, CRL, 2504-912 Caldas da Rainha, Portugal

E-mail: miguel.leao@iniav.com

Resumo

O modelo de plantação do pomar de ‘Maçã de Alcobaça’ (IGP EC 1107/96) tem vindo a alterar-se significativamente, evoluindo para uma fruticultura de precisão, mais profissional, tecnológica e sustentável. A densidade de plantação aumentou, porém, sem um modelo bem definido, uniforme, sustentado técnica e cientificamente. Com o intuito de compreender melhor as implicações da intensificação cultural no âmbito do grupo operacional OPTIMAL, foram estudados 4 pomares de macieira (*Malus domestica* Borkh), cv. ‘Gala Schniga’, enxertados em M9 e conduzidos em eixo central revestido, com 1481 arv./ha (4,5 m x 1,5 m – P1), 3704 arv./ha (3,0 m x 0,9 m – P2), 3861 arv./ha (3,7 m x 0,7 m – P3) e 4762 arv./ha (3,5 m x 0,6 m – P4), analisando a interceção e distribuição de radiação solar, fotossíntese, condutância estomática, eficiência do uso da água (WUE), parâmetros de refletância e de fluorescência da clorofila *a*, produção, distribuição dos frutos e respetivo peso por distribuição na copa da árvore e época de colheita.

Os pomares P2 e P4 interceptaram mais luz ao meio-dia solar, com frações máximas respetivamente de 0,45 e 0,50, e o P3, com maior distância na entrelinha e menor volume de copa, apresentou um valor semelhante ao pomar menos denso (P1) ($\pm 0,35$). Os pomares P1 e P3 apresentaram taxas fotossintéticas e condutância estomática superiores a $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (PAR) e o pomar P4 os melhores valores de WUE intrínseca e instantânea, NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), eficiência quântica máxima do PSII e performance index nas folhas localizadas no exterior, sendo também o mais produtivo (110 t ha^{-1}). O peso médio por fruto e a quantidade obtida na primeira colheita foram maiores nos pomares P2 e P4, como consequência da maior área foliar exposta. Por outro lado, o pomar P1 teve o maior número de frutos por árvore e os frutos com menor calibre e peso médio. O projeto em curso ajudará a otimizar as densidades de plantação, na ótica da produtividade, qualidade dos frutos, regularidade e valorização de mercado.

Palavras-chave: intensificação cultural, intercepção de radiação, taxa fotossintética, índices de refletância

Abstract

Plantation layout of the orchards in the region of 'Maçã de Alcobaça' (PGI EC 1107/96) has changed significantly, evolving towards a more professional precision fruit production system, more technological and sustainable. Plant density increased, however, without a well-defined and uniform layout, which is technically and scientifically supported. Orchard intensification was studied, within the scope of the project OPTIMAL. Four *Malus domestica* Borkh 'Gala Schniga' orchards, grafted on M9 and with central leader training, with 1481 (4,5x1,5–P1), 3704 (3,0x0,9–P2), 3861 (3,7x0,7–P3) and 4762 (3,5x0,6–P4) trees per hectare were analysed in order to get data about radiation interception and distribution, photosynthesis, stomatal conductance, intrinsic and instantaneous water use efficiency (WUE), reflectance parameters, chlorophyll *a* fluorescence, production and fruit size according to their

positions in the tree and harvest date. Orchards P4 and P2 intercepted more radiation at solar noon, with maximum intercepted radiation fractions closer to 0,50 and 0,45, respectively. P3 orchard, has less canopy volume, had a similar fraction then the orchard with the lowest plant density (P1) ($\pm 0,35$). Orchards P1 and P3 showed better photosynthetic rates and stomatal conductance at $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (PAR) and orchard P4 depicted a better intrinsic and instantaneous water use efficiency, NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), better maximum quantum yield of the PSII photochemistry and was also the most productive (110 t ha^{-1}). Production and average fruit size were higher in the first harvest in orchards P4 and P2, as a consequence of having a larger exposed leaf area. On the other hand, orchard P1 had the highest number of fruits per tree and the smallest fruit average size and weight. The ongoing project intends to optimize tree density of the new plantations, for higher productivity, better fruit quality, and stability of production and revenue.

Keywords: crop intensification, radiation interception and distribution, photosynthesis, reflectance indices

Introdução

O modelo de produção de maçãs tem vindo a alterar-se significativamente, procurando incrementar a produtividade e a qualidade das maçãs, de forma sustentável e alinhada com o mercado. O plano de plantação compromete o rendimento do pomar durante o seu período de vida útil (15-20 anos), sendo por isso imprescindível uma análise cuidada de todos os fatores com impacto na produção e qualidade dos frutos. A cultivar, clone, forma de condução, densidade de plantação, qualidade e valorização dos frutos condicionam a viabilidade da plantação (Sansavini & Musacchi, 2002; Robinson et al., 2007; Bravin et al., 2009; Sousa, 2013; Lordan et al., 2019; Sánchez et al., 2020), pelo que devem ser equacionados de forma rigorosa e responsável. Na ausência de stresses (hídrico, nutricional ou outros), a produtividade (produção de matéria seca) está positivamente

relacionada com a interceção de radiação (Lakso & Robinson, 1997; Sansavini & Musacchi, 2002), ainda que a relação não se mantenha linear com níveis de interceção muito elevados devido à fraca distribuição da radiação em copas excessivamente densas (Lakso, 1994, Wagenmakers & Tazelaar, 1997; Sousa, 2013). À escala do pomar a interceção de radiação é influenciada pela densidade de plantação, orientação das linhas, estrutura das árvores e *design* da plantação (Robinson, 2011) e, à escala da planta, pelas características intrínsecas inerentes à arquitetura da própria árvore e ao tipo de condução e poda aplicadas (Buler & Mika, 2009; Da Silva et al., 2014). Foi também demonstrada a importância da interceção de radiação por parte dos esporões e o seu impacto na produtividade e tamanho dos frutos (Wunsche & Lakso, 2000), fundamental para assegurar a produção precoce de assimilados e respetiva partição para os frutos (Grappadelli et al., 1994). No entanto, em pereira, Sousa (2013) verificou que a fotossíntese das folhas das verdascas era superior à dos esporões, diferenças que atribuiu à filotaxia e disposição das folhas, com maior espaçamento e menor sobreposição entre folhas, refletidas num microclima luminoso mais favorável para as folhas das verdascas. Deverão ser por isso acautelados à plantação todos os fatores que incrementem a interceção e distribuição de radiação nos pomares, focando-se este trabalho nos efeitos da densidade de plantação. Enquanto muitos estudos sugerem como densidades ótimas valores compreendidos entre as 3000 e 6000 árvores por hectare, outros apontam para valores inferiores (Weber, 2001; Sojkova & Adamickova, 2011; Badiu et al., 2015; Bradshaw et al., 2016; Badiu et al., 2015; Sojkova & Adamickova, 2011, Weber, 2001), variando ainda, entre outros, com os sistemas de condução adotados (Sousa, 2013; Lordan et al., 2019). Diferentes distanciamentos entre árvores, influenciam necessariamente a sua forma e dimensão e, consequentemente, a produtividade e a qualidade dos seus frutos. A intensificação cultural é hoje uma marca do pomar de maçãs nacional, facilitada pela adoção generalizada de porta-enxertos de menor vigor (M9). Foi alcançada primeiramente pela redução do espaçamento entre plantas e, mais

recentemente, pela redução da distância na entrelinha, traduzida no aumento da retangularidade dos pomares (razão entre a distância entrelinhas e o espaçamento entre as árvores na linha), parâmetro que afeta tanto a interceção como a distribuição da radiação (Wagenmakers & Callesen, 1995) e influência a produtividade, suscetibilidade à alternância, densidade floral e qualidade dos frutos (Wagenmakers & Callesen, 1989). Permanecem, contudo, dúvidas sobre a forma como a intensificação deverá acontecer, quer pela diminuição da distância entre plantas na linha, quer pela diminuição da entrelinha e/ou conjugação de ambas, pelo que é objetivo deste projeto contribuir para obter resultados agronómicos e fisiológicos que ajudem na tomada de decisão em novas plantações.

Material e Métodos

Com o intuito de identificar potenciais benefícios e limitações da intensificação cultural, bem como obter resultados que ajudem a compreender melhor de que forma deverá ocorrer a intensificação do pomar, foram estudados pomares com diferentes espaçamentos na entrelinha e entre as árvores na linha (Quadro 1).

Quadro 1 – Caracterização dos pomares usados em ensaios de densidade.

Pomar	Cultivar	Porta- Enxerto	Compasso (EL L) (m)		Densidade (ár.v./ha)	Ano Plantação	Orientação
P1	Gala	M9	4,5	1,5	1481	2004	NE-SW
P2	Gala	M9	3,0	0,9	3704	2016	NE-SW
P3	Gala	M9	3,7	0,7	3861	2015	NW-SE
P4	Gala	M9	3,5	0,6	4762	2015	N-S

A interceção de radiação foi medida através da colocação de um ceptómetro Sunscan Canopy Analysis System (Mod. SS1, Delta-T Devices Lda, Cambridge, UK) paralelamente à linha, a cada 20 cm, com início junto ao tronco (Figura 1).

A barra de sensores foi centrada ao meio do tronco, garantindo igual distância na linha para ambos os lados, medindo a radiação até ao centro da entrelinha em ambos os lados durante o meio-dia solar (MDS) e a entrelinha completa do lado oposto ao sol durante a manhã e tarde.

Este equipamento foi ainda usado para a avaliação da distribuição da radiação no interior da copa, obtendo 64 medições no primeiro metro linear, com início no tronco e direção da entrelinha em ambos os quadrantes, à altura da primeira pernada, a 1/3 e a 2/3 da altura efetiva do coberto vegetal.

A fotossíntese líquida (A_n), condutância estomática (g_s) e respetivos rácios de eficiência do uso da água, intrínseca (WUE_i) e instantânea (WUE_{inst}), foram obtidos em 10 árvores, entre os dias 2 e 14 de agosto de 2019, com um analisador de gases por infra-vermelhos (IRGA, modelo LCPro-T, ADC BioScientific Ltd, UK). As determinações foram

realizadas durante a manhã (10:00-12:30), em duas folhas por árvore, uma totalmente exposta à luz (exterior) e outra no interior do coberto vegetal (interior), com radiação fotossinteticamente ativa (PAR) incidente fixa a $1500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, RGB 33:33:34, temperatura na câmara de 25°C e concentração de CO_2 de 400 ppm. Foram também obtidos índices de refletância da vegetação, como o Índice de Vegetação por

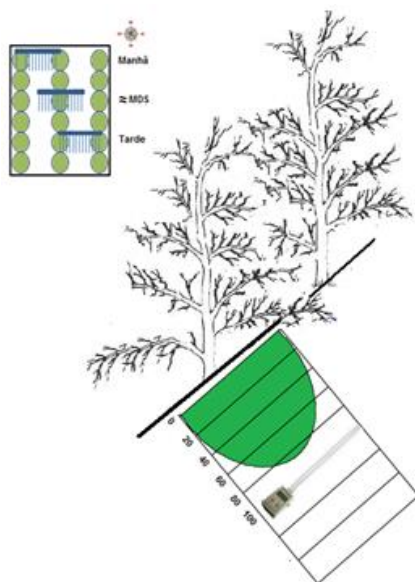


Figura 1 – Representação esquemática do posicionamento do ceptómetro para obtenção da radiação transmitida através do coberto vegetal, em diferentes períodos do dia (Adaptado de Sousa, 2013).

Diferença Normalizada (NDVI) e Índice de Reflectância Fotoquímica (PRI) em 15 árvores por pomar medido em duas folhas por árvore, uma no exterior e outra no interior do coberto vegetal, utilizando um espectroradiómetro de campo portátil PolyPen 410 (PSI, Drasov, CR).

A florescência da clorofila *a* foi medida nas mesmas árvores e em folhas nas mesmas posições (exterior e interior), recorrendo a um fluorómetro portátil, FluorPen FP 110 (PSI, Drasov, CR), após um período mínimo de adaptação ao escuro de 20 min. Ambas as medições foram realizadas entre as 9:30 e as 12:30, em folhas do terço médio dos lançamentos do ano, totalmente expandidas, em igual quadrante da planta (Este).

A produção por árvore foi avaliada em 15 árvores por pomar, tendo sido colhidas 5 nas mesmas datas de colheita comercial para avaliar a proporção dos frutos colhidos em cada passagem e as restantes 10 em data intermédia, separando à colheita os frutos do exterior e do interior, considerando frutos do exterior os localizados no terço exterior dos ramos. Os frutos foram calibrados e pesados por localização no coberto vegetal.

Resultados e Discussão

Radiação intercetada

Um dos benefícios expectáveis com o aumento da densidade de plantação é o reforço da capacidade de intercepção de radiação. Os pomares P2 e P4, os que apresentam menor distância entrelinhas (3,0 m e 3,5 m), proporcionaram frações intercetadas ao meio-dia solar (MDS) mais elevadas. Tratando-se do período do dia em que a radiação disponível é mais elevada, os ganhos proporcionados pela intensificação cultural merecem ser destacados pois poderão ter um impacto potencial favorável na produção de assimilados. De facto, a maior eficiência na intercepção de radiação neste período é evidente no valor das frações máximas intercetadas, superiores a 0,45 e próximas de 0,50 no pomar de maior densidade (Figura 2).

O pomar P3, apesar da densidade, intercetou menos radiação em virtude do maior distanciamento na entrelinha e da menor volumetria

(9282,6 m³·ha⁻¹), refletindo-se em frações máximas interceptadas semelhantes ao pomar de menor densidade (P1) (inferiores a 0,35).

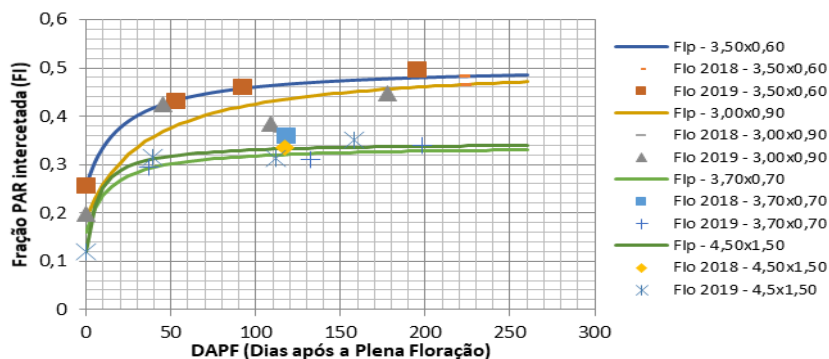


Figura 2 – Fração da radiação PAR interceptada (FI), observada (Flo) e prevista (Flp), ao meio-dia solar em pomares com diferentes densidades, avaliada em diferentes períodos do ciclo vegetativo (2018-2019). P1-verde escuro; P2-laranja; P3-verde claro; P4-azul.

A intensificação cultural é naturalmente acompanhada pela alteração da forma e volume de copa das plantas, também condicionada com as técnicas culturais realizadas, com implicações significativas na distribuição de radiação no interior das árvores. A análise da Figura 3 e respetivo tratamento de imagem permite analisar a interceção da radiação.

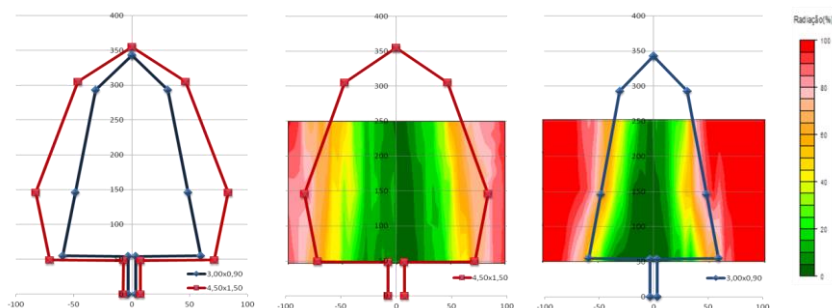


Figura 3 – Distribuição da radiação no interior do coberto vegetal referente a um pomar de baixa (P1 – 4,5 x 1,5m, a vermelho) e média-alta densidade (P2 – 3,0 x 0,9m, a azul).

Podemos verificar que na área de copa analisada (representando 2/3 da altura da copa e o primeiro metro linear a partir do tronco para o centro da entrelinha de ambos os lados). No P2 observou-se que 26,2% da copa recebe menos de 25% da radiação PAR incidente face a 37,8% no pomar P1 e 38,7% da copa recebe menos de 50% da radiação PAR incidente face a 57,1% em P1.

Se considerarmos também que durante os períodos da manhã e da tarde a penetração da radiação ocorrerá numa fração superior do volume de copa, consequência da maior área de superfície exposta, é perceptível que a evolução da forma das árvores que acompanha a intensificação cultural para copas/sebes menos espessas e mais permeáveis, poderá permitir ganhos significativos no potencial produtivo das árvores e na qualidade dos seus frutos, dado o impacto da radiação na maior taxa de assimilação de carbono, na produção de açúcares ou na formação de antocianinas indispensáveis ao reforço da coloração e valorização dos frutos das cultivares vermelhas. Não obstante, é também visível a elevada interceção de radiação das camadas superficiais dos pomares mais intensivos, implicando que a condução em eixo central revestido seja minuciosamente controlada através da poda, equilíbrio nutricional, carga, rega e/ou aplicação de reguladores de crescimento, de forma a potenciar os seus benefícios e a minimizar o ensombramento no interior do coberto vegetal.

Parâmetros fisiológicos

Tal como acontece nos pomares de baixa densidade, também nos mais intensivos poderão ocorrer níveis insuficientes de radiação no seu interior, com consequências do ponto de vista fisiológico, interessando perceber o impacto da redução da distância da entrelinha e/ou das árvores na linha. A taxa fotossintética obtida em 2019, com radiação incidente de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, foi superior nos pomares P1 e P3, os que têm maior distância na entrelinha (4,5 m e 3,7 m), face aos pomares P2 e P4, com menor distância na entrelinha (3,0 m e 3,5 m), alertando para o facto da redução da distância na entrelinha ter de ser acompanhada

pelas transformações necessárias na forma e dimensões das árvores, dado ser possível a existência de condicionantes no microclima luminoso capazes de reduzir o potencial fotossintético das folhas localizadas no exterior (Figura 4). Nas folhas localizadas no interior não foram encontradas estas diferenças.

Foram ainda encontrados valores de condutância estomática, medida a $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mais elevados nas folhas do exterior dos pomares P1 e P3, sendo que, de forma análoga à taxa fotossintética, voltaram a não existir diferenças nas folhas localizadas no interior.

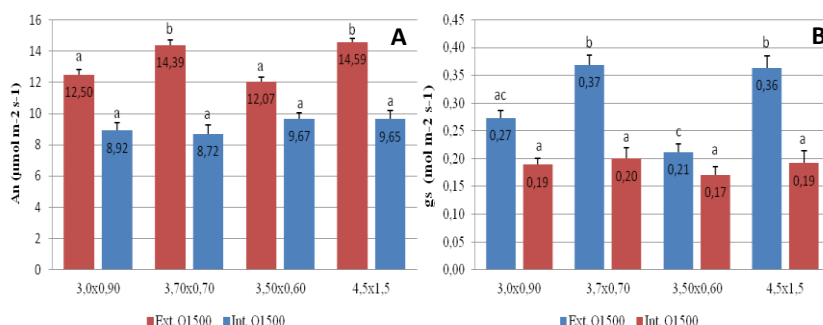


Figura 4 – **A**-Taxas fotossintéticas (A_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e **B**-Condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), obtidas em folhas exteriores e interiores de pomares de macieiras com diferentes densidades, com $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiação PAR. Letras diferentes por posição indicam diferenças significativas nos valores médios (Tukey, $p<0,05$).

A eficiência do uso da água, intrínseca (WUE_i) e instantânea (WUE_{inst}), foi mais elevada no pomar mais intensivo (P4) em ambas as posições, apresentando valores de $58,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e de $60,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$ respetivamente para a WUE_i das folhas exteriores e interiores, e de $4,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e $4,5 \mu\text{mol mmol}^{-1}$ respetivamente para a WUE_{inst} das folhas exteriores e interiores. Este pomar apresentou ainda os valores mais elevados de NDVI em ambas as posições, um índice de vitalidade

frequentemente usado em determinações de biomassa, o mesmo acontecendo com a eficiência quântica máxima do PSII (Fv/Fm) em ambas as posições e com o Plabs (Performance Index) nas folhas exteriores (Quadro 2). Este indicador (Plabs) é relevante pois considera os principais processos fotoquímicos mediante uma abordagem multiparamétrica. As folhas do exterior do pomar com entrelinhas mais curtas (P2) apresentaram valores mais baixos do PRI medida de eficiência do uso da luz pela folhagem, sensível a variações nos pigmentos carotenóides das folhas (ex. xantofilas) que estão envolvidos na conversão da radiação PAR absorvida em carbono fixado (Quadro 2).

Quadro 2 – Valores de NDVI, PRI, Fv/Fm e PI abs calculado em pomares com diferentes densidades e em folhas com diferentes posicionamentos.

Pomar	NDVI		PRI		Fv/Fm		PI abs	
	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior
P1	0,755 bc	0,741 b	0,042 a	0,054 a	0,802 b	0,837 b	5,563 b	7,756 a
P2	0,747 c	0,738 b	0,034 b	0,049 a	0,794 b	0,823 b	4,984 b	5,844 a
P3	0,769 b	0,738 b	0,044 a	0,049 a	0,807 b	0,840 b	4,574 b	7,256 a
P4	0,784 a	0,761 a	0,041 a	0,046 a	0,839 a	0,828 a	8,795 a	7,634 a

N=15; Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas entre pomares (Tukey, $p < 0,05$).

Produção e localização dos frutos

A determinação da produção dos diferentes pomares evidenciou os benefícios da maior densidade pelas produtividades mais elevadas que proporciona, com o pomar mais intensivo (P4) a produzir acima das 110 t/ha, o pomar P3, o 2º mais intensivo, a produzir 85,8 t/ha, o pomar P1 73 t/ha e o pomar P2, por ser mais novo e por ter sido efetuado um controlo de carga mais intenso com o intuito de estimular o crescimento vegetativo e alcançar uma estabilização mais rápida da sua estrutura, produziu 43,8 t/ha (Figura 5).

Fica também evidente pelos resultados do pomar P1, que os pomares de menor densidade, quando ocupados com árvores equilibradas de alta volumetria, podem também proporcionar produtividades significativas, porém, com um elevado número de frutos (e produção) por árvore, refletidos num peso médio baixo (e de reduzido valor de mercado) (Quadro 3), menor qualidade (TSS, coloração, outros) e ainda pela elevada propensão à alternância no ano seguinte.

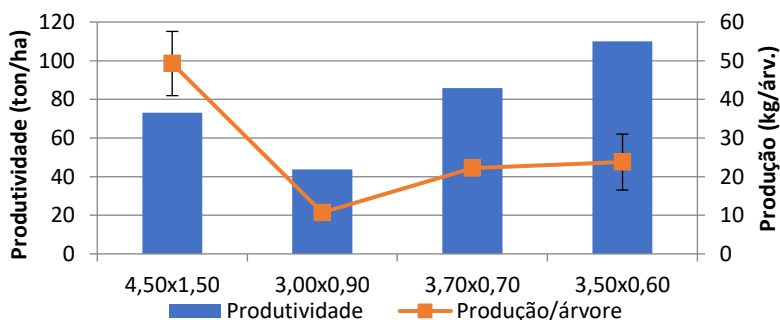


Figura 5 – Produtividade e produção por árvore em pomares com diferentes densidades (2019).

O elevado desvio padrão evidenciado nas produções dos pomares P1 e P4 (o menos e o mais intensivo), pode estar relacionado com a maior susceptibilidade à alternância das árvores nestes pomares, que pode ocorrer (i) pelo efeito do ensombramento excessivo proporcionado pela alta densidade ou pela excessiva largura da copa das árvores em baixa densidade (com consequências na indução floral e heterogeneidade de florações) e/ou (ii) pelo excesso de produção, frequente na alta densidade com controlo de carga insuficiente e ocasional na baixa densidade, sempre que o vingamento é forçado para alcançar produtividades mais elevadas, responsável por acentuar fenómenos de alternância.

A análise ao Quadro 3, permite verificar que o pomar P2, com entrelinhas mais curtas e forma da árvore mais estreita, é o que originou maior quantidade de frutos colhidos no exterior (64,3%), sendo ainda o que permitiu colher maior percentual de frutos na primeira colheita e

nesta posição, frutos que geralmente apresentam maior valor comercial, qualidade e capacidade para longa conservação.

Quadro 3 – Produção por colheita e localização em pomares com diferentes densidades.

Pomar	Frutos (n.º/árv.)	Peso médio (g/fr)	Frutos (%)		Frutos (%)		Frutos (%)		Frutos (%)	
			1ª C	2ª C	Ext	Int	1ª C Ext	1ª C Int	2ª C Ext	2ª C Int
P1	431,5±17,6	114,3±2,3	57,7	42,3	23,5	76,5	18,2	39,5	5,2	37,1
P2	74,9±11,2	141,3±4,0	56,0	44,0	64,3	35,7	36,8	19,2	27,5	16,5
P3	160,3±10,3	139,0±2,5	66,3	33,7	18,1	81,9	11,8	54,5	6,3	27,4
P4	151,1±12,8	159,2±4,3	46,3	53,7	34,3	65,6	20,2	26,2	14,2	39,4

Nota: Os valores apresentados baseiam-se no n.º. de frutos; **C**-colheita; **Ext**- exterior da copa; **Int**-interior da copa.

Verificou-se também que os frutos colhidos na primeira passagem são geralmente os que apresentam maior calibre, sendo sempre maiores no exterior que no interior (dados não apresentados). Este facto, aliado à maior qualidade dos frutos, apontam como mais eficientes os pomares de alta densidade, com maior área foliar exposta, mais estreitos, bem conduzidos e equilibrados, de forma a minimizar as zonas interiores com baixos níveis de radiação e, com isso, potenciar o calibre e uniformizar a qualidade (menor diferença de coloração entre os frutos exteriores e interiores).

Importância do GO OPTIMAL na validação de sistemas de apoio e suporte à decisão (DSS)

Com a concretização das ações propostas neste projeto será possível validar um conjunto de tecnologias de apoio à decisão, que permitirão a monitorização remota dos crescimentos do tronco e frutos (Figura 6), fenologia (Figura 7), distribuição da radiação no coberto vegetal (Figura 8), gestão da rega, dados meteorológicos, entre outros, permitindo o ajustamento das operações culturais e da estratégia fitossanitária em conformidade com as necessidades do pomar. A aplicação destas

tecnologias irá munir o setor de ferramentas importantes para a aplicação dos princípios da fruticultura de precisão, sendo já notória a conceção de um pomar mais tecnológico, com gestão mais profissional, racional e eficiente. Estão ainda em fase final de validação alguns modelos matemáticos para determinação de parâmetros culturais de interesse para o ajustamento de operações culturais, tais como ferramentas para o cálculo do LAI (Índice de área foliar) e do LAD (Densidade de área foliar) a partir de dados de campo de rápida obtenção ou ainda modelos de previsão da produção.

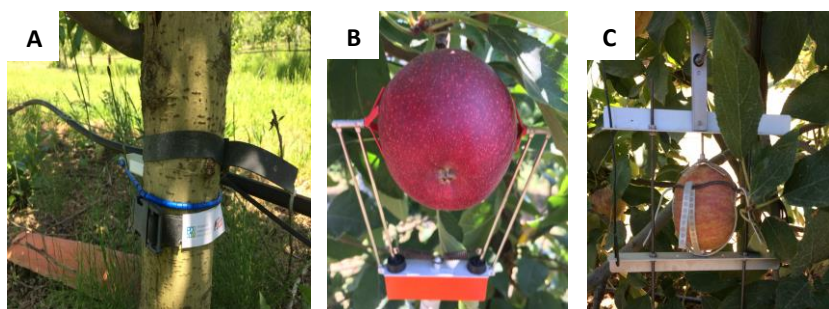


Figura 6 – A-Dendrômetros de tronco; B e C-Dendómetro no fruto.



Figura 7 – Sistema remoto de monitorização fenológica.



Figura 8 – Sistema remoto de monitorização da distribuição de radiação no coberto vegetal.

Contributo do GO OPTIMAL para a implementação de metodologias de *Benchmarking* para reforço da qualidade

Neste projeto pretende-se não só proporcionar um incremento significativo na produção de conhecimento que permita definir uma matriz de procedimentos técnicos, com base científica, que acentuem a singularidade do pomar da IGP e o nível tecnológico nacional, mas também o impulsionamento de comportamentos associativos que visem a uniformização de bons procedimentos e a melhoria generalizada da qualidade do produto na IGP. Assim, está em fase de teste, uma metodologia de *benchmarking* para análise comparativa do crescimento dos frutos em diferentes organizações e produtores, permitindo através da consulta numa plataforma partilhada avaliar se o crescimento dos frutos em cada exploração está em conformidade com o crescimento médio na região e, assim, identificar fatores limitantes e aplicar medidas corretivas que permitam fomentar o crescimento dos frutos e menorizar o diferencial para os crescimentos referenciais. A aplicação destas metodologias, inteiramente controladas remotamente, permite que o gestor se concentre na análise e decisão, poupando tempo e recursos na monitorização e tratamento de dados.

Conclusões

Dada a necessidade de aumentar produtividades e de adequar a qualidade dos frutos ao mercado, reduzindo desperdícios e frutos de reduzido valor comercial, mostrou-se que a intensificação sustentável pode contribuir de forma significativa para esses objetivos. Demonstrou-se a maior capacidade de interceção de radiação dos pomares mais intensivos, de que resultará também um contributo mais positivo para a captura do CO₂ atmosférico, mostrando-se que os que apresentam menor espaçamento na entrelinha são os mais eficientes na interceção da radiação. A intensificação deverá, por isso, ocorrer essencialmente pela redução do espaçamento das entrelinhas e ser naturalmente acompanhada pela alteração da forma e volume de copa, com implicações significativas na distribuição de radiação no interior

das árvores, garantindo maior área de superfície exposta, copas/sebes menos espessas e mais permeáveis, com impacto no potencial produtivo das árvores e na qualidade dos seus frutos.

Agradecimentos

Este trabalho é financiado pelo FEDER e por fundos nacionais através do PDR2020, com a referência OPTIMAL PDR2020-031442.

Referências bibliográficas

- Badiu, D., Arion, F.H., Muresan, I.C., Lile, R. & Mitre, V. (2015). Evaluation of economic efficiency of apple orchards investments. *Sustainability* 7(8), 10521-10533.
- Bradshaw, T.L., Berkett, L.P., Moran, R.E., Garcia, M.E., Darby, H.M., Parsons, R.L., Kingsley-Richards, S.L., Griffith, M.C., Bosworth, S.C. & Gorres, J.H. (2016). Long-term economic evaluation of five cultivars in two organic apple orchard systems in Vermont, USA, 2006-2013. *Acta Hort.* 1137: 315-321.
- Bravin, E., Kilchenmann, A. & Leumann, M. (2009). Six hypotheses for profitable apple production based on the economic work-package within the ISAFRUIT project. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 84(6): 164-167.
- Buler, Z. & Mika, A. (2009). The influence of canopy architecture on light interception and distribution in 'Sampion' apple trees. *J Fruit Ornamental Plant Res.* 17: 45-52.
- Da Silva, D., Han, L., Faivre, R. & Costes, E. (2014). Light interception efficiency of apple trees: A multiscale computational study based on MAppleT. *Ecol. Model.* 290: 45-53.
- Grappadelli, L., Lakso, A. & Flore, J. (1994). Early season patterns of carbohydrate partitioning in exposed and shaded apple branches. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 596-603.
- Lakso, A.N. (1994). Environmental physiology of the apple. In: Schaffer B. & Anderson, P. C. (Eds) *Environmental physiology of fruit crops. Temperate crops. Vol. 1.* CRC Press, Boca Raton. p. 3-42.
- Lakso, A.N. & Robinson, T.L. (1997). Principles of orchard systems management optimizing supply, demand and partitioning in apple trees. *Acta Hort.* 451: 405-415.

-
- Lordan, J., Francescato, L., Dominguez, L. & Robinson, T. (2019). Long-term effects of tree density and tree shape on apple orchard performance, a 20 year study - Part 1, agronomic analysis. *Sci. Hort.* 238: 303-317.
- Robinson, T., Hoying, S.A., DeMaree, A., Lungerman, K. & Fargione, M. (2007). The evolution towards more competitive apple orchard system in New York. *New York Fruit Quarterly* 15(1): 3-9.
- Robinson, T. (2011). Advances in apple culture worldwide. *Rev. Bras. Frutic.* 33:37-47.
- Sánchez, C., Vasilenko, P., Santos, M. & Leão de Sousa, M. (2020). Avaliação preliminar da qualidade dos frutos de novos clones de macieiras da cultivar 'Gala'. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 32: 344-352.
- Sansavini, S. & Corelli-Grappadelli, L. (1997). Yield and light efficiency for high quality fruit in apple and peach high density planting. *Acta Hort.* 451: 559-568.
- Sansavini, S. & Musacchi, S. (2002). European pear orchard design and HDP management: a review. *Acta Hort.* 596: 589-601.
- Sojkova, Z. & Adamickova, I. (2011). Evaluation of economic efficiency of the orchards investment project with respect to the risk. *Agric. Econ.* 57, 600-608.
- Sousa, M.A.L. (2013). Avaliação de Novos Sistemas de Produção de Pera 'Rocha' em Alta Densidade com Recurso à Modelação e à Integração de Processos Fisiológicos. Tese de Doutoramento em Eng.^a Agronómica, ISA, UTL, Lisboa.
- Wagenmakers, P. & Callesen, O. (1989). Influence of light interception on apple yield and fruit quality related to arrangement and tree height. *Acta Hort.* 243: 149-158.
- Wagenmakers, P. & Callesen, O. (1995). Light distribution in apple orchard systems in relation to production and fruit quality. *J. Hort. Sci.* 70: 935-948.
- Wagenmakers P.S. & Tazelaar, M. (1997). Planting systems and light utilization. Research Station for fruit growing, Wilhelminadorp, The Netherlands. Annual Report. p. 17-18.
- Weber, M. (2001). Optimizing the tree density in apple orchards on dwarf rootstocks. *Acta Hortic.* 557, 229-234.
- Wünche, J.N., Lakso, A.N., Robinson, T., Lenz, F. & Denning, S. (1996). The bases of productivity in apple production systems. The role of light interception by different shoots types. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 886-893.
- Wünche, J.N. & Lakso, A.N. (2000). The relationship between leaf area and light interception by spur and extension shoot leaves and apple orchard productivity. *Hort. Science* 35: 1202-1206.

GO PodaCitrus - Otimização da poda em citrinos, com vista à melhoria da qualidade da produção e à diminuição da incidência de doenças que afetam o aspeto do fruto



Parceria

UAlg – Universidade do Algarve (**Líder**);
COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências;
FRUSOAL - Frutas Sotavento Algarve, Lda;
CITRIAROEIRA, Produção Citrícola, Lda;
João Santana Unipessoal.

Palavras-chave: alternância de produções; defeitos epidérmicos; calibre; qualidade; ‘Valencia Late’; ‘Dom João’; ‘Encore’; ‘Setubalense’.

Website: <https://podacitrus.webnode.pt/>

Investimento total: 327 222,31€

Logótipos dos Parceiros



CITRIAROEIRA, Produção Citrícola, Lda

João Santana, unipessoal

Objetivos do GO PodaCitrus

1. Definir uma estratégia de poda que permita atenuar a alternância de produções em citrinos.
2. Definir uma estratégia de poda que permita reduzir a incidência de defeitos epidérmicos dos frutos de citrinos.

Equipa do GO PodaCitrus

Entidades	Pessoas
Citriaroeira	Valter Reis
COTHN - CC	Carmo Martins
	Helder Coelho
	João Turras
	Pedro Nunes
FRUSOAL	Angélica Mendonça
	Silvino Oliveira
João Santana Unipessoal	Tiago Guerreiro
UAlg	Amílcar Duarte
	Carlos Guerrero
	Isabel Barrote
	Lídia Pó
	Luís Neto
	Pedro Matias

PodaCitrus - Otimização da poda em citrinos, com vista à melhoria da qualidade da produção e à diminuição da incidência de doenças que afetam o aspeto do fruto

Pedro Matias^{1,2*}, Angélica Pedro³, Silvino Oliveira³, Luís Mendonça⁴ e Amílcar Duarte^{1,2}

¹ UAlg – Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro

² MED-Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro

² Frusoal, E.N. 125, Sítio das Cevadeiras, 8901-907 Vila Nova de Cacela

³ Monte Agudo, CP 484-B Santo Estêvão, 8800-509 Tavira

* Email: pmmatias@ualg.pt

Resumo

Algumas cultivares de citrinos apresentam alternância de produções, tais como as tangerineiras ‘Setubalense’ e ‘Encore’ e as laranjeiras ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’. Existe um outro problema, a incidência de manchas na epiderme dos frutos, que parece relacionar-se com a presença de ramos mortos, em algumas cultivares. Existe ainda um outro tipo de defeito epidérmico, característico da cultivar ‘Encore’ e que parece ter origem num problema fisiológico e não biótico.

A poda pode surgir como técnica para responder a estes problemas. Alguns estudos apontam para a importância da poda no controlo da alternância de produções. Por outro lado, a poda pode ser usada como meio de luta cultural, no combate a doenças que utilizam madeira seca para permanecer na forma de estruturas de resistência e que infetam os frutos, provocando diversos tipos de manchas.

Além disso, os citrinos têm tendência para formar copas de grande dimensão, com formação de folhagem densa na periferia, o que limita a intensidade luminosa no interior da copa. Nestas condições, os ramos situados no interior acabam por secar e propiciar o desenvolvimento de fungos, ficando a zona produtiva da árvore limitada à zona exterior da

copa. Para prevenir estes problemas é necessário realizar uma poda periódica de manutenção.

O Projeto PodaCitrus tem por objetivo, otimizar a poda em citrinos, de modo a mitigar os referidos problemas. Espera-se desenvolver uma estratégia de poda que permita diminuir o grau de alternância em tangerineiras ‘Setubalense’ e ‘Encore’ e nas laranjeiras ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’. Outro objetivo central prende-se com a tentativa de criar uma estratégia de poda que permita reduzir a incidência de defeitos epidérmicos em diversas cultivares de citrinos, com principal ênfase nas cultivares de laranja ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’.

Assim, foram instalados ensaios de poda, em várias cultivares e em diferentes pomares situados na região do Algarve.

Em dois desses ensaios foi feita uma poda de recuperação, em duas cultivares serôdias de laranja: ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’. Esta poda, feita em árvores de grande porte, com supressão de pernadas através de desramações, permitiu a abertura da copa, na zona central e lateral, com a formação de pelo menos uma janela lateral. Verificou-se que a poda de recuperação aplicada permitiu aumentar o arejamento da copa e a luz incidente no interior da mesma. A irradiância no interior da copa das árvores podadas foi evidentemente superior à das árvores não podadas.

No ensaio em laranja ‘Dom João’, verificou-se que o diâmetro dos frutos da colheita de 2021, das árvores podadas era superior ao dos frutos das árvores não podadas. Na colheita de 2021 do ensaio em laranja ‘Valencia Late’, verificou-se que o índice de maturação e o teor de sólidos solúveis foram superiores nos frutos das árvores podadas.

Foi instalado um outro ensaio em tangerineira ‘Encore’, onde foram testadas diversas modalidades de poda de frutificação. Uma das modalidades parece ter apresentado mais frutos sem manchas no interior da copa.

Palavras-chave: alternância de produções; defeitos epidérmicos; manchas da casca do fruto; poda de frutificação; luta cultural.

Abstract

Some citrus cultivars tend to alternate bearing, such as the 'Setubalense' and 'Encore' mandarin trees and the 'Dom João' and 'Valencia Late' orange trees. There is another problem, spots on fruit's epidermis, which seems to be related to the presence of dead branches, in some cultivars. There is another type of epidermal defect, characteristic of the cultivar 'Encore' and which seems to originate from a physiological rather than a biotic problem.

Pruning can be used as a technique to respond to these problems. Some studies highlight the importance of pruning to control the alternate bearing. On the other hand, pruning can be used as cultural control, in the combat against diseases that use dry wood to remain on resistance structures and that infect the fruits, causing different types of spots.

In addition, citrus trees tend to develop large canopies with dense foliage on the periphery that restricts the light reaching the inner part of the canopy. Under these conditions, branches located in the inner part of the canopy tend to die and the development of fungi is promoted, leaving the productive zone of the tree limited to the outer part of the canopy. To prevent these problems, periodic maintenance pruning is necessary.

The PodaCitrus project intends to contribute to the optimization of citrus pruning, in order to reduce those problems. It is expected to develop a pruning strategy that will be able to reduce the alternate bearing in 'Setubalense' and 'Encore' mandarin trees and 'Dom João' and 'Valencia Late' orange trees. Another central objective is an attempt to create a pruning strategy that allows reducing the impact of epidermal defects on several citrus cultivars, with a main emphasis on the orange cultivars 'Dom João' and 'Valencia Late'.

Thus, pruning tests were installed, in various cultivars and in different orchards located in the Algarve region.

Two experiments were installed, where a recovery pruning was made, in two late cultivars of orange: 'Dom João' and 'Valencia Late'. This pruning, carried out on large trees, by cutting large branches through pruning, allowed the opening of the canopy, in the central area and in the lateral area. It was verified that the applied pruning allowed to increase the air circulation and the solar radiation inside the canopy. The irradiance inside the canopy of the pruned trees was evidently superior to that of the unpruned trees.

At 'Dom João' orange tree experiment, it was found that the fruits diameter of the 2021 harvest, was bigger on the pruned trees in comparison to the unpruned trees fruits. In the 2021 harvest of the 'Valencia Late' orange tree experiment, it was found that the maturation index and the soluble solids content were higher in the fruits of the pruned trees.

Another experiment, on 'Encore' mandarin, was made. Different approaches to maintenance pruning were tested. One of the approaches seems to have presented more fruits, located inside the canopy, without epidermal defects.

Keywords: alternate bearing; epidermic defects; fruit peel stains; training; cultural control.

Introdução

A produção citrícola apresenta, em Portugal, e concretamente, no Algarve, grande importância na agricultura. Em 2018, a produção total de citrinos no Algarve foi 85% da produção total nacional. A superfície cultivada de citrinos, era, em 2018, 15 746 ha, 75% da superfície cultivada nacional total (INE, 2021).

Associados ao cultivo de citrinos existem alguns problemas. Algumas cultivares apresentam tendência para alternância de produções, tais como as laranjeiras 'Dom João' e 'Valencia Late' e as tangerineiras 'Setubalense' e 'Encore'. Este aspeto consiste na variação entre anos

de produções abundantes, seguidos por anos com produções escassas (Pacheco & Duarte, 2016).

Existe um outro problema relacionado com a incidência de manchas na epiderme dos frutos. Em várias cultivares é recorrente o aparecimento de manchas provocadas por fungos e que parece relacionar-se com a presença de ramos mortos (Azevedo et al., 2013).

Além disso, concretamente na tangerineira ‘Encore’, surgem, com frequência, defeitos epidérmicos que parecem estar relacionados com aspetos fisiológicos da cultivar e não com agentes bióticos (Maia et al., 2004).

Surgem por vezes, também, problemas relacionados com a gestão da copa das árvores, que se podem cruzar com os problemas anteriores. Quando não é praticada uma poda de frutificação regular, as árvores apresentam uma tendência para formar copa de grande dimensão e com folhagem densa na periferia. Este aspeto dificulta a penetração da radiação solar e do ar no interior da copa. A disponibilidade insuficiente de luz no interior da copa leva à morte dos ramos aí situados, formando-se uma copa oca, com ramos secos no interior, tornando essa zona não produtiva (Matias et al., 2019). Além disso, os ramos mortos potenciam o desenvolvimento de fungos e funcionam como fontes de inóculo que poderão vir a infetar os frutos, provocando diferentes tipos de manchas (Mondal et al., 2007; Azevedo et al., 2013; Matias et al., 2019). Por outro lado, a frutificação no interior da copa da árvore está geralmente associada a frutos de maior calibre e de melhor qualidade (Krajewski & Pittaway, 2000; Bevington et al., 2002).

Além de todos os aspetos relacionados com a distribuição da radiação solar pela copa, árvores com copa de grande dimensão e com folhagem densa na periferia dificulta algumas práticas culturais, nomeadamente a aplicação de produtos fitofarmacêuticos torna-se menos eficaz e a colheita é dificultada e mais demorada, visto que parte dos frutos é somente acessível através de escadas.

A otimização da poda pode ser um importante contributo para a resolução de vários problemas da citricultura nacional. Para tal foi ensaiada uma poda

severa com grande remoção de madeira, facilitando a entrada de radiação solar no interior da copa, além de a manter mais baixa. Espera-se ainda que surja rebentação no interior da copa, tornando esta zona da árvore mais produtiva, com frutos de calibre e qualidade superior.

Na tangerineira ‘Encore’ foram testadas diversas abordagens de poda de frutificação, com o objetivo de encontrar uma estratégia de poda que permita minimizar a alternância de produções, bem como a redução da incidência dos defeitos epidérmicos típicos desta cultivar.

Material e métodos

No âmbito do projeto PodaCitrus foram levados a cabo vários ensaios de poda. Dois desses ensaios, muito semelhantes entre si, foram realizados em duas cultivares serôdias de laranja: ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’, onde foi feita uma poda de recuperação em árvores com grande porte. Foi instalado outro ensaio em tangerineira ‘Encore’, onde foram testadas diversas abordagens de poda de frutificação.

Ensaios 1 e 2: Poda de recuperação em duas cultivares serôdias de laranja: ‘Dom João’ e ‘Valencia Late’

O ensaio 1 foi instalado em laranja ‘Dom João’ e o ensaio 2, em ‘Valencia Late’. Ambos os ensaios foram constituídos pelas mesmas modalidades (Quadro 1).

Quadro 1 – Modalidades de poda executadas nos ensaios 1 (‘Dom João’) e 2 (‘Valencia Late’).

Modalidades de poda	Execução
A – Poda ‘testemunha’	Poda muito ligeira – Remoção eventual de alguns ramos.
B – Poda de ‘recuperação’	Poda severa – Remoção de pernadas, através de desramações. Esta poda permitiu abrir a parte superior da copa, bem como a formação de pelo menos uma janela lateral.

A poda foi executada no final de outubro de 2019, em laranjeira ‘Dom João’ e no início de novembro, em laranjeira ‘Valencia Late’. Em ambos os casos a poda foi realizada poucas semanas após a colheita, como é habitual para estas cultivares.

Inicialmente foram abertas as entrelinhas em toda a área do pomar, com supressão de alguns ramos que fossem demasiado compridos e que dificultassem a circulação de máquinas e equipamentos. Posteriormente, na modalidade B, foi feita uma poda mais severa (Figuras 1 a 5), com remoção de várias pernadas em cada árvore (Figura 4), através de desramações, usando uma motosserra (Figura 3). Esta poda permitiu abrir pelo menos uma janela lateral (Figura 2) e a parte superior e o interior da copa (Figuras 1 e 5), para facilitar a entrada da radiação solar no seu interior.



Figura 1 – Vista aérea de uma laranjeira da cultivar ‘D. João’, após uma poda severa com desramação.



Figura 2 – Vista do solo da mesma árvore da esquerda, após uma poda severa com desramação.



Figura 3 – Motosserra usada para execução dos cortes.



Figura 4 – Exemplo de uma pernada removida



Figura 5 – Interior de uma copa após a poda.

Os ensaios têm vindo a ser acompanhados através de medições periódicas do diâmetro dos frutos, da rebentação, densidade de frutificação, com acompanhamento da colheita e análises de qualidade dos frutos, entre outras.

Ensaio 3: O efeito de três diferentes abordagens da poda de frutificação, na resposta produtiva das árvores, em tangerineira ‘Encore’

Este ensaio consistiu na aplicação de três abordagens diferentes de poda de frutificação, que correspondem a cada uma das modalidades. A poda foi executada em novembro de 2019 e as modalidades estão descritas no Quadro 2.

Quadro 2 – Modalidades de poda executadas.

Modalidades de poda	Execução
A – Poda ‘testemunha’	Poda ligeira – Remoção de alguns ramos. Representa a prática regular da exploração (Figuras 6 e 7).
B – Poda de ‘desadensamento’	Poda severa – Remoção de ramos e pernadas que permitiu a abertura da copa no interior e lateralmente (Figuras 8 e 9).
C – Poda em ‘vaso’	Poda severa – Remoção de ramos e pernadas que estivessem inseridos no interior da copa e recriação de “topping”, pelo atarraque de ramos e pernadas da periferia da copa a certa altura (Figuras 10 e 11).



Figura 6 – Árvore da modalidade A, antes da poda.



Figura 7 – Árvore da modalidade A, após a poda.



Figura 8 – Árvore da modalidade B, antes da poda.



Figura 9 – Árvore da modalidade B, após a poda.



Figura 10 – Árvore da modalidade C, antes da poda.



Figura 11 – Árvore da modalidade C, após a poda.

Este ensaio tem vindo a ser acompanhado através de medições periódicas do diâmetro dos frutos, rebentação, densidade de frutificação e com avaliação da colheita e de incidência de defeitos epidérmicos nos frutos, segundo uma escala visual (Figura 12).



Figura 12 – Escala de defeitos epidérmicos, utilizada no ensaio 3, em tangerineira 'Encore'.

Resultados Principais

Ensaio 1 e 2: Poda de recuperação em duas cultivares serôdias de laranjeira: 'Dom João' e 'Valencia Late'

Verificou-se, em ambos os ensaios, que a poda executada permitiu aumentar significativamente a irradiância incidente no interior da copa, tal como pretendido, promovendo a sua renovação (Figura 13).

Não se verificaram diferenças no calibre dos frutos na colheita de 2020, em ambos os ensaios. Isto pode dever-se ao facto de que os frutos da colheita de 2020 já estavam presentes na árvore, quando foi feita a poda.

Por outro lado, no ensaio em laranjeira 'Dom João', relativamente à produção de 2021, verificou-se que o diâmetro dos frutos das árvores podadas era, em média, cerca de 2 mm superior ao diâmetro dos frutos das árvores não podadas (Figura 14).

Na colheita de 2021 do ensaio em laranjeira 'Valencia Late', verificaram-se diferenças nos parâmetros de qualidade dos frutos. O índice de maturação foi superior nos frutos das árvores podadas e o teor de sólidos solúveis (°Brix) foi, em média, 1,1 superior (Figura 15).

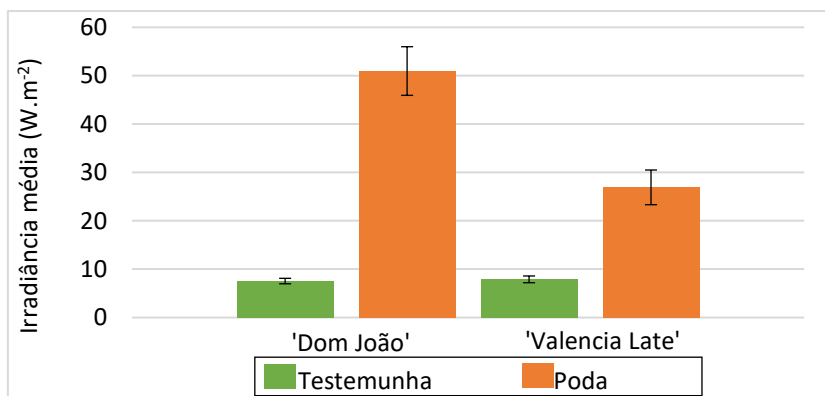


Figura 13 – Efeito da poda na radiação incidente no interior da copa de laranjeira 'D. João' (ensaio 1) e de 'Valencia Late' (ensaio 2) (média ± erro padrão).

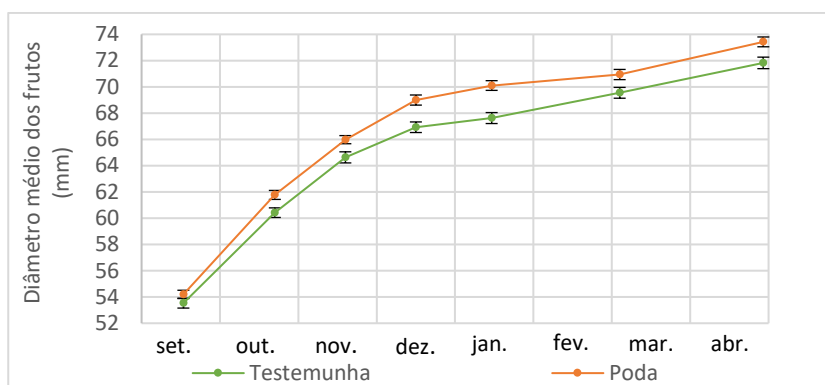


Figura 14 – Evolução do diâmetro médio dos frutos (mm), da produção de 2021, ao longo do tempo, no ensaio 1 ('Dom João') (média $\pm$ erro padrão, n=270).

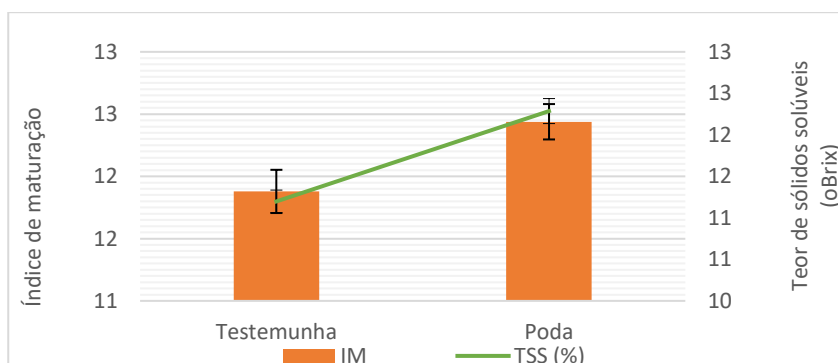


Figura 15 – Índice de maturação e teor de sólidos solúveis dos frutos, no ensaio 2 ('Valencia Late') (média $\pm$ erro padrão, n=60).

Ensaio 3: O efeito de três diferentes abordagens da poda de frutificação, na resposta produtiva das árvores, em tangerineira 'Encore'

Parecem não existir diferenças claras no diâmetro médio dos frutos entre as diferentes modalidades. Eventualmente, não se terá observado um aumento no tamanho dos frutos devido à poda, pelo facto de a produtividade das árvores estar limitada por outros fatores e não pelo excesso de competição entre frutos. A poda não é uma prática

independente de outras técnicas. Existem outros fatores, como por exemplo, a rega, fertilização, o estado sanitário, entre outros, que podem complementar ou contrariar os efeitos da poda.

A Figura 16 apresenta a percentagem de frutos, da produção de 2021, que constituiu cada classe de defeitos epidérmicos (de acordo com a classificação indicada na Figura 12), do interior e do exterior da copa, para as modalidades testemunha e desadensamento. Apesar de pouco evidente, a modalidade de desadensamento parece ter apresentado mais frutos sem ou com poucas manchas (classes A e B), tanto no interior como no exterior da copa. Isto pode dever-se ao ensombramento provocado pela nova rebentação que surgiu após a poda feita em 2019. Além disso, espera-se que nos anos seguintes haja mais produção no interior da copa, onde a percentagem de frutos manchados é inferior.

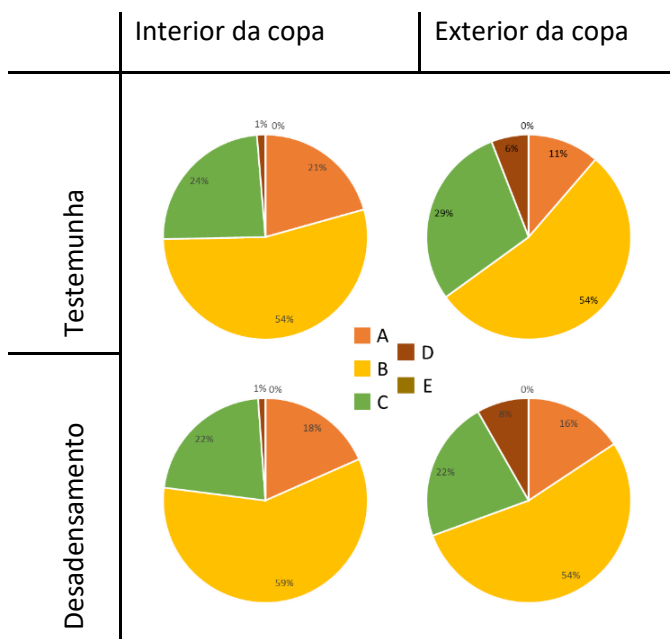


Figura 16 – Percentagem de frutos por classe de defeitos epidérmicos (Figura 12), do interior e do exterior da copa, nas modalidades testemunha e desadensamento.

Referências Bibliográficas

- Azevedo, F.A., Lanza, N.B., Sales, C.R., Silva, K.I., Barros, A.L. & De Negri, J.D. 2013. Poda na citricultura. *Citrus Research & Technology*, 34, n.(1):17-30.
- Bevington, K.B., Falivene, S., Moulds, G., & Krajewski, A.J. 2002. Pruning Citrus for Export Fruit Size. CMDG Final Report Project 50. New South Wales Dept. of Agric., Australia.
- INE, 2021. Base de dados do Instituto Nacional de Estatística, disponível em linha em www.ine.pt, verificado pela última vez a 3/6/2021.
- Krajewski, A.J., & Pittaway, T. 2000. Manipulation of Citrus Flowering and Fruiting by Pruning. *Proc. Int. Soc. Citriculture IX*: 357–60.
- Maia, M.I., Medeira, M.C., Pinto, M.J. & Duarte, A.M.M. 2004. Pre-harvest rindstain of ‘Encore’ mandarin: initial histological signs of epicarp disturbance and extent of the disorder. *Scientia Horticulturae*, 99: 143-152.
- Matias, P., Mendonça, A., Oliveira, S. & Duarte, A. 2019. Recuperação de Pomares de Citrinos Antigos através da Poda. *Voz do Campo - Agrociência*, 11.
- Mondal, S. N., Vicent, A., Reis, R. F. & Timmer, L. W. 2007. Saprophytic Colonization of Citrus Twigs by *Diaporthe citri* and Factors Affecting Pycnidial Production and Conidial Survival. *Plant Disease* 91 (4): 387–92.
- Pacheco, P. & Duarte, A. 2016. Caracterização da rebentação da tangerineira ‘Setubalense’ em anos de safra e de contrassafra. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 25, 43-49.



GO PoliMax – Promoção e aumento da eficiência da polinização entomófila em macieiras, pereiras e cerejeiras



Parceria

COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências (**Líder**)

Campotec IN, S.A.;

Cerfundão, Lda;

Cooperfrutas, CRL - Cooperativa P.F.P.H. Alcobaça, CRL;

FNAP – Federação Nacional dos Apicultores de Portugal;

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP;

Pinus Verde – Associação de Desenvolvimento Integrado da Floresta.

Palavras-chave: abelhas melíferas; ecologia agrícola; fruticultura; polinização; polinizadores domésticos e silvestres; qualidade dos frutos.

Website: <https://poli-max.webnode.pt/>

Investimento total: 402 012,21 €

Investimento elegível: 353 139,28 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO PoliMax

1. Analisar o efeito da colocação de diferentes densidades de insetos polinizadores;
2. Analisar em que condição se pode intensificar a sua atividade;
3. Analisar compatibilidade do pólen de variedades polinizadoras mais recentes de forma a construir uma matriz de recomendação de quantidades e distribuição de variedades polinizadoras;
4. Analisar efeito da colocação de agentes polinizadores na produtividade;
5. Analisar efeito da colocação de agentes polinizadores na forma do fruto (maças e pêras);
6. Analisar efeito da colocação de agentes polinizadores na extensão do período de conservação dos frutos e a resistência a problemas fisiológicos;
7. Analisar efeito da colocação de agentes polinizadores na redução da aplicação de produtos hormonais para vingamento;
8. Analisar a possibilidade de aumentar a biodiversidade pela colocação de polinizadores entomófilos naturais;

Equipa do GO PoliMax

Entidades	Pessoas
Campotec	Délio Raimundo
	Ricardo Soares Santos
COTHN – CC	Carmo Martins
	Carolina Lucas Neves
	João Turras
	Marco Patríci
	Pedro Nunes
	Rafael Carvalho (Bolseiro FCT no FlowerLab – Centro de Ecologia Funcional da Universidade de Coimbra)
Cerfundão	Filipe Costa,
	Franco Melfe
	Patrique Martins
Cooperfrutas	Marta Soveral,
	Nicolau Felix
	Valério Pita
FNAP	Helena Isabel
	João Casaca
INIAV,IP	Anabela Nave,
	Claudia Sánchez,
	Filipa Queirós
	Joana Godinho,
	João Cardoso
	Rui Maia de Sousa
	Vera Joedecke
Pinus Verde	João Mesquita
	Manuel Latado

PoliMax – Promoção e aumento da eficiência da polinização entomófila em macieiras, pereiras e cerejeiras

Rafael Carvalho^{1,2*}

¹ UC – Universidade de Coimbra, Centre for Functional Ecology, Departamento de Ciências da Vida, Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra, Portugal

² COTHN-CC – Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências, Estrada de Leiria s/n, 2460-059 Alcobaça, Portugal

*Email: pcarv.rafael@gmail.com

Resumo

O GO PoliMax tem como objectivo específico incrementar o valor nutricional e comercial dos frutos (pêra ‘Rocha’, maçãs ‘Fuji’ e ‘Reineta’ e cerejas ‘Folfer’) através de uma polinização entomófila eficiente, originando produtos agrícolas diferenciados que promovam a fruticultura, nacional e internacionalmente. A polinização é indiscutivelmente um factor de produção e de qualidade. Contribui para o bom desenvolvimento e estabilidade física e química dos frutos, capacita-os de melhores propriedades, garantindo um produto de qualidade superior e com maior período de conservação (sem degradação), elementos cruciais ao rendimento económico do sector. Portanto, os polinizadores (insectos domésticos e silvestres) fornecem um serviço vital contribuindo expressivamente para a viabilidade e sustentabilidade agrícola. Foram estudados 42 pomares nas regiões do Fundão e Oeste de Portugal. As flores foram sujeitas a quatro técnicas experimentais de polinização: entomófila, ausente (isolamento das flores), artificial (manual) e suplementação (entomófila complementada com a manual). Destas obtiveram-se os frutos que foram analisados qualitativamente em laboratório, à colheita e após conservação. Posteriormente foram correlacionados com a taxa de interacção entre planta-polinizador. Os resultados referentes à taxa de vingamento e ao número de frutos obtidos à colheita mostram que a produção das cultivares em estudo foi positivamente influenciada pela

polinização entomófila, já que nesta modalidade se registaram os maiores valores de produção. Em termos qualitativos, os frutos foram mais simétricos, com maior TSS, maior número médio de sementes e melhor conservação corresponderam à polinização entomófila. No entanto, os melhores resultados, principalmente, de TSS na polinização artificial em pêra 'Rocha' expõem alguns défices dos serviços de polinização devido, sobretudo, à menor atractividade do seu néctar/pólen para as abelhas melíferas. Em conclusão, os parâmetros quantitativos e qualitativos avaliados neste trabalho reforçam o importante papel dos polinizadores e do serviço de polinização na rentabilidade da fruticultura.

Palavras-chave: ecologia agrícola; fruticultura; polinizadores; qualidade dos frutos; rendimento agrícola.

Abstract

GO PoliMax has the specific objective of increasing the nutritional and commercial value of the fruits ('Rocha' pear, 'Fuji' and 'Reineta' apples and 'Folfer' cherries) through an efficient entomophilous pollination, giving rise to differentiated agricultural products that promote fruit crops, nationally and internationally. Undoubtedly, pollination is a factor of production and quality. It contributes to the good development and physical and chemical stability of the fruits, enables them with better properties, guaranteeing a product of superior quality and with a longer conservation period (without degradation), crucial elements to the economic performance of the sector. Therefore, pollinators (domestic and wild insects) provide a vital service contributing significantly to agricultural viability and sustainability. We studied 42 orchards from Fundão and Oeste regions of Portugal. Flowers were subjected to four experimental pollination techniques: entomophilic, absent (flower isolation), artificial (manual) and supplementation (entomophilic supplemented with a manual). Fruits obtained were analysed qualitatively in the laboratory, at harvest and after conservation. Results were later correlated with plant-pollinator

interactions. The results from fruit set rate of fertilization and the number of fruits obtained at harvest show that the production of the cultivars under study was positively influenced by entomophilous pollination, since in this modality the highest values were registered. Concerning quality, the most symmetrical fruits, with higher TSS, higher average number of seeds and better conservation correspond to entomophilous pollination. However, the best results, especially of TSS in 'Rocha' pear artificially pollinated expose some deficits in the Pollination Services, mainly due to the lower attractiveness of its nectar/pollen to honey bees. In conclusion, the quantitative and qualitative parameters evaluated in this work reinforce the important role of pollinators and the Pollination Service in the profitability of Fruticulture.

Keywords: agricultural ecology; agricultural yield; fruit crop; fruit quality; pollinators.

Introdução

A agricultura, em particular a europeia, enfrenta hoje inúmeros desafios para que se consiga afirmar como sustentável económica, social e ambientalmente. É uma actividade determinante à concretização e sucesso dos ambiciosos 17 Objectivos de Desenvolvimento Sustentável definidos pela Organização das Nações Unidas (ONU). Para tal, estará obrigada a uma gestão mais exigente, criteriosa, rigorosa e eficiente de todos os recursos (naturais ou não), alicerçados num vasto conhecimento técnico-científico. Portanto, é cada vez mais inevitável recorrer à Ciência, numa abordagem multidisciplinar, para auxiliar a correcta tomada de decisão. A polinização é um desses factores-chave, decisiva na produção e qualidade dos produtos agrícolas, sobretudo aos da fruticultura (Pérez-Méndez et al., 2019; Pardo & Borges, 2020).

Grande parte do valor nutricional e económico dos frutos é intrínseco à competência da polinização (Klein et al., 2007; FAO, 2018). Estes frutos, apenas provenientes de plantas com flor (Divisão *Angiospermae*), resultam de um processo reprodutivo extraordinariamente complexo,

mais do que o dos animais, devido a inúmeros processos fisiológicos (eg, dupla fecundação e compatibilidade do pólen) específicos a cada espécie de planta (Buchanan et al, 2000; Leyser & Day 2003). Além disso a fertilização depende do desempenho de agentes externos (bióticos), dos polinizadores, para a transferência de pólen entre diferentes flores/plantas (polinização cruzada). É este mecanismo eco-fisiológico (interacções ecológicas que desencadeiam processos fisiológicos) que assegura a formação completa de sementes (dupla fecundação). Deste modo, garante, principalmente, a estabilidade bioquímica, metabólica e fisiológica dos frutos, característica essencial ao adequado aprovisionamento e segurança alimentar, mas também ao rendimento agrícola (Pérez-Méndez et al., 2019). Por isto, os polinizadores, sobretudo insectos (Classe *Insecta*; Filo *Arthropoda*), são indispensáveis aos ciclos de vidas destas plantas, consequência de um longo processo de co-evolução (evolução simultânea). Além disto, grande parte destes insectos desempenha um conjunto de outras funções no ecossistema, particularmente, serem agentes estáveis no controlo de pragas e doenças. Deve-se à diversidade de polinizadores a eficiência/competência da polinização, pela complementaridade alcançada com a pluralidade de comportamentos nas visitas florais (Carvalho et al., 2011; Garibaldi et al., 2013; Ramos et al., 2018). Assim, os padrões de actividade das diferentes espécies abrangem um conjunto de soluções mais adequadas às várias fases da flor (fenologia), aos períodos do dia (diurnos e/ou nocturnos) e, especialmente, à imprevisibilidade das condições meteorológicas (Brittain et al., 2013; Balzan et al., 2014). Adicionalmente permitem uma maior adaptação das culturas às transformações edafo-climáticas provenientes do contexto actual de Alterações Climáticas, concretizando a pretendida mitigação e adaptação destes efeitos. Assim, culturas saudáveis dependem da resiliência do Ecossistemas Agrícolas (Agro-ecossistemas), só possível com uma biodiversidade estrutural e funcional. Desta maneira viabiliza-se as relações ecológicas (eg, planta-polinizador e predador-praga) inatas e vitais que, em absoluto funcionamento, são imprescindíveis à agricultura e alimentação

Humana (Potts et al., 2010; Carvalheiro et al., 2011; Steward et al., 2014; Ramos et al., 2018). Logo, o sector agrícola é favorecido pela redução de vários custos (eg, fitofármacos e polinização artificial) (Winfree et al., 2011; Brittain et al., 2013) e pela maior valorização dos seus produtos (eg, as maiores qualidades nutricionais, uniformização da área produtiva, regularização de morfologias e calibres, e maiores períodos de conservação) (Hoehn et al., 2008; Quinet et al., 2016) permitindo-lhe ambicionar outros mercados comerciais, nacionais e/ou internacionais, mais exigentes e lucrativos. A importância da biodiversidade funcional é, de tal forma decisiva que, cada vez mais, tem sido reconhecida e incluída nas orientações e estratégias Nacionais e Europeias (eg, Farm to Fork e Ecoregimes) como factor determinante para os objectivos de sustentabilidade do desenvolvimento económico, social e ambiental (ONU, 2019). Por estas razões, a polinização é descrita como um dos serviços dos ecossistemas fundamentais à viabilidade da saúde e bem-estar da população humana, bem como, à sua sustentabilidade (económica-social-ambiental) no planeta (Garibaldi et al., 2013; FAO, 2018). Portanto, o conhecimento técnico-científico de agro-ecologia, nomeadamente sobre o serviço de polinização entomófila, torna-se vital ao sucesso das entidades agrícolas e da fileira, transversal aos seus aspectos económicos, sociais e ambientais (Samnegård et al., 2019). Contudo, é impreterível melhorar o conhecimento sobre a temática dos polinizadores funcionais (efectivos da cultura) e polinização competente das cultivares, especialmente pela introdução de novas cultivares (eg, auto-férteis) e instalação em novos locais e contextos biogeográficos. Só desta forma, obteremos na prática, uma ferramenta verdadeiramente útil à agricultura/fruticultura. O GO PoliMax surge neste contexto e tem como principal objectivo melhorar o conhecimento sobre o serviço de polinização entomófila competente e apta a aumentar o rendimento da produção agrícola, através de frutos com semente, de valor acrescentado devido à sua maior qualidade nutricional, capacidade de conservação e resiliência a inimigos (pragas e doenças). Por outro lado, permitirá suportar alguma delineação estratégica que promova a

polinização entomófila funcional como ferramenta objectiva de sustentabilidade principalmente económica da fruticultura nacional, mas também social e ambiental.

Material e métodos

Foram seleccionadas três espécies frutícolas e quatro cultivares: a cerejeira (*Prunus avium* L.) cv. 'Folfer', a macieira (*Malus domestica* Borkh) cvs. 'Fuji' e 'Reineta' e a pereira (*Pyrus communis* L.) cv. 'Rocha', devido à relevância na estratégia comercial das respectivas fileiras. As acções localizam-se nos pomares dos distritos de Castelo Branco e Leiria (Figura 1a).

Numa primeira fase (Fase 1) pretende-se caracterizar os polinizadores silvestres e os serviços de polinização entomófila de cada pomar. Para o efeito, realizam-se census visuais (observação directa) para registo das interacções planta-polinizador. Assim, no período de maior actividade dos polinizadores (das 9:00 às 13:00 e das 14:30 às 18:00), observa-se e contabiliz-se o número de visitas florais (taxa de visitas florais) feitas por cada polinizador durante um minuto (polinizador/minuto). Sempre que possível, recorre-se ao registo fotográfico e, esporadicamente, à captura dos indivíduos com rede camaroeira entomológica para identificação. A identificação dos indivíduos, preferencialmente até à espécie com base na análise morfológica, é feita à lupa (no pomar ou no laboratório) com recurso a chaves dicotómicas de identificação. De toda a entomofauna polinizadora, apenas é aqui objecto de estudo o seu principal grupo, o das abelhas silvestres (*Epifamília Anthophila*, Ordem *Hymenoptera*).

Numa segunda fase (Fase 2) pretende-se caracterizar a qualidade dos frutos de cada cultivar obtidos pelo serviço de polinização entomófila real de cada pomar. Para tal, implementa-se um ensaio constituído por cinco modalidades experimentais de polinização: (i) natural (feita pelos polinizadores presentes no pomar – entomófila), (ii) auto-polinização (isolamento das flores com sacos de tecido/rede), (iii) artificial (aplicação manual de pólen), (iv) suplementação (polinização entomófila natural complementada com a aplicação manual de pólen) e (v) aplicação de giberelina (ácido biberélico – GA3, a 2% p/v SL). Esta

última modalidade (aplicação de giberelina), apenas é realizada na pêra 'Rocha', devido à relevância singular deste regulador de crescimento na indução dos seus frutos partenocárpicos (sem fecundação – frutificação induzida). O ensaio realizou-se durante as respectivas épocas de floração (estado fenológico F) em 42 pomares (17 de pêra 'Rocha', 11 de maçã 'Fuji', 11 de maçã 'Reineta' e 3 de cereja 'Folfer') (Figura 1b e 1c). Em cada um destes pomares, seleccionaram-se flores/inflorescência que estivessem no mesmo estado fenológico (D e E) e que foram sujeitas a cada uma das modalidades (quatro em maceiras e cerejeiras e cinco em pereiras). Cada árvore seleccionada possui as quatro modalidades experimentais em estudo.

A quinta modalidade, apenas realizada nas pereiras, exige optar-se por outras árvores, localizadas mais a sul e afastadas, para se evitarem contaminações acidentais das restantes árvores em estudo quando feita a respectiva aplicação/pulverização.

Após a floração, cada pomar é monitorizado regularmente onde, um mês após a queda da pétala (estado fenológico G), é contabilizada a taxa de vingamento (fertilização).

Os frutos, obtidos das flores marcadas, foram colhidos e levados para o laboratório. Aleatoriamente foram divididos em dois grupos, cada um com o mínimo de 30 frutos, para a análise laboratorial em dois momentos, respetivamente à colheita (t_0) e após conservação (t_x). A conservação é feita em câmaras frigoríficas com atmosfera normal (Temperatura média entre 0°C a 1°C), durante 4 meses para a pêra 'Rocha' e 5 meses para as maçãs 'Fuji' e 'Reineta'. As cerejas 'Folfer' não compreenderam a modalidade conservação.

As análises laboratoriais, iguais nos dois momentos (t_0 e t_x), consistiram na avaliação de parâmetros indicadores da qualidade dos frutos, nomeadamente biométricos (massa, altura e diâmetro), físico-químicos (firmeza, teor de sólidos solúveis (TSS), pH e acidez titulável) e das suas sementes (massa e número). Posteriormente, estes dados

qualitativos serão correlacionados com os dados de agro-ecologia, nomeadamente as taxas de interacção entre planta-polinizador (visitas florais) e polinizadores (riqueza específica e abundância).



Figura 1 - Localizações geográficas da área de estudo e dos pomares. **a** – concelhos onde decorreram os ensaios; **b** – pomares de cerejeiras; **c** – pomares de macieiras e pereiras.

Principais Resultados

A caracterização dos polinizadores (Figura 2) e dos seus serviços de polinização (Fase 1) evidenciou a heterogeneidade, da sua abundância e diversidade (Quadro 1), em cada uma das cultivares.

Em cerejeira ‘Folfer’ verificou-se a maior regularidade das taxas de visitas florais ($5,6 \pm 3,4$ e $4,6 \pm 1,3$ polinizadores/minuto em 2018 e 2019, respectivamente). Contudo, é nestes pomares que se encontrou a menor diversidade de polinizadores ($1,9 \pm 0,6$ e $1,2 \pm 0,4$ morfo-espécies em 2018 e 2019, respectivamente), devido à predominância de abelha melífera (*Apis mellifera*). Neste pomar foram colocadas anualmente

colmeias (5 colmeias/ha) em reconhecimento de um serviço de polinização deficitário para as necessidades de produção.



Figura 2 - Alguns dos polinizadores observados nas visitas florais (a – *Bombus terrestris*; b – *Bombus pascuorum*; c – *Apis mellifera*; d – *Andrena* sp.; e – *Andrena nigrospina* e f – *Andrena flavipes*).

As menores taxas de visitas florais ($0,7 \pm 1,3$ e $1,7 \pm 2,7$, em 2018 e 2019, respectivamente) verificaram-se em pereiras ‘Rocha’ e a diversidade de polinizadores foi mediana ($4,6 \pm 0,8$ e $4,9 \pm 0,7$ em 2018 e 2019, respectivamente). A reduzida concentração de açúcares no néctar das flores das pereiras (Quinet et al., 2016) condiciona a sua atractividade, especialmente de abelhas melíferas, originando uma menor taxa de visita. No entanto, a diversidade de polinizadores indica que poderá

existir um serviço de polinização complementado por outros polinizadores, os silvestres (abelhas solitárias, sirfídeos, entre outros).

Nas macieiras ‘Fuji’ e ‘Reineta’, a pluralidade de abundâncias e diversidade de polinizadores (Quadro 1), especialmente interanuais, indica a maior relevância dos polinizadores silvestres existindo menor predomínio das abelhas melíferas. Porém, a distribuição assimétrica destes polinizadores entre os pomares destas cultivares (dados não apresentados) poderá ter como resultado num serviço de polinização aleatório e, principalmente, pouco dirigido.

Quadro 1 - Taxas de visitas florais (polinizadores/minuto) e diversidade (número de morfo-espécies) de polinizadores nas cultivares em estudo e registadas em 2018 e 2019.

VAR CULTIVAR	2018		2019	
	Taxa de visitas (<i>pol/min</i>)	Número de morfoespécies	Taxa de visitas (<i>pol/min</i>)	Número de morfoespécies
Cereja ‘Folfer’	$5,6 \pm 3,4$	$1,9 \pm 0,6$	$4,6 \pm 1,3$	$1,2 \pm 0,4$
pêra ‘Rocha’	$0,7 \pm 1,3$	$4,6 \pm 0,8$	$1,7 \pm 2,7$	$4,9 \pm 0,7$
maçã ‘Fuji’	$2,3 \pm 1,9$	$3,5 \pm 0,8$	$3,4 \pm 3,6$	$6,1 \pm 0,8$
maçã ‘Reineta’	$1,8 \pm 2,1$	$5,6 \pm 0,7$	$5,7 \pm 3,5$	$4,2 \pm 0,9$

Sobre a produção (Figura 3), os resultados obtidos da taxa de vingamento e produtividade de cada uma das cultivares (Fase 2) revelam o papel crucial da polinização natural (A) na obtenção de frutos (Figura 4). Porém, na pêra ‘Rocha’, este resultado é menos evidente devido ao desenvolvimento de frutos partenocárpicos (22,96% e 25,63% da produção em 2018 e 2019, respectivamente), isto é, sem ocorrer a dupla fecundação (auto-polinização– modalidade “B”) logo não apresentam sementes. É também no tratamento de auto-polinização (B) que, em todas as variedades, se observam as maiores quebras de produção (figura 4), pois as respectivas taxas de vingamento não se concretizam em produtividade, manifestando a maior susceptibilidade à senescência e queda fisiológica destes frutos (sem pólen). É na pêra ‘Rocha’ que este aspecto é, particularmente

pertinente, pois obriga a uma maior urgência de aplicações fitofarmacêuticas para reverter ou minimizar os desequilíbrios fisiológicos e nutricionais garantindo uma maturação dos frutos, mas manifestamente com carência de algumas das suas propriedades físicas e químicas. A respeito da polinização artificial (C) as menores quebras produtivas são notórias em pêra 'Rocha', reflectindo os défices de polinização. Em todas as cultivares, as quebras de produção verificam-se sempre menores na polinização suplementada (E), sobretudo comparando-a com a polinização natural (A), sugerindo défices de polinização nestas cultivares.



Figura 3 - Frutos, de cada uma das cultivares, obtidos em diferentes modalidades durante 2018 e 2019. **A** – polinização natural (fita branca); **B** – auto-polinização (fita vermelha); **C** – polinização artificial (fita azul); **D** – polinização suplementada (fita amarela).

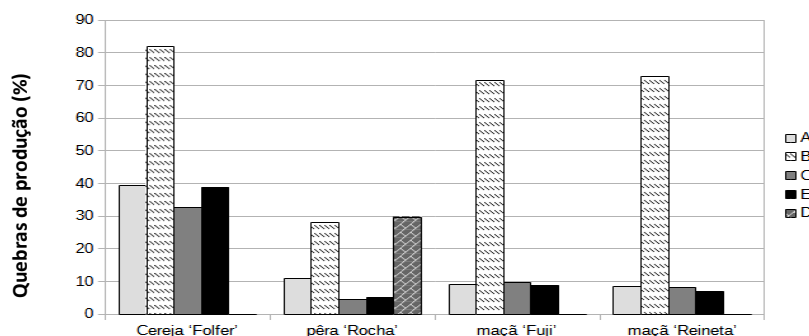


Figura 4 - Quebras de produção (%) (diferença entre taxa de vingamento e produtividade) em cada uma das cultivares por modalidades considerando os resultados obtidos em 2018 e 2019 (A – polinização natural, B – auto-polinização; C – polinização artificial; D – aplicação de giberelinas; E – polinização suplementada).

Relativo à qualidade dos frutos obtidos (Fase 2), os resultados alcançados, principalmente, de morfologia (rácio da altura-largura), teor de sólidos solúveis (TSS) e número médio de sementes mostram-se sempre melhores nas modalidades em que há polinização natural, artificial ou suplementadas (A, C e E) (Quadro 2). Porém, é na polinização entomófila (A) e suplemento de pólen (E) que se verificam os melhores desempenhos nas análises à colheita (t0), e sobretudo, após conservação (tx). É principalmente nesta última análise (tx) que se observam as maiores contribuições da polinização, pois revelam proporcionar uma estabilização física e química dos frutos que lhes permitem sair da conservação com uma menor degradação das suas propriedades, logo mais semelhantes à da sua colheita (t0). Todavia, a polinização artificial em pêra 'Rocha' apresenta bons resultados nestas métricas, sugerindo eventuais défices de polinização, também influentes na qualidade dos frutos. Ainda na pêra, os seus frutos partenocárpicos (B – auto-polinização) apresentam mais massa, alguma desproporcionalidade morfológica (frutos alongados) e mais firmeza à colheita (t0). No entanto, apresentam uma elevada degradação das suas propriedades durante a conservação (tx).

Característica (maior degradação das propriedades) também verificada na análise após a conservação (tx) dos frutos obtidos com a aplicação de giberelina (D). Porém, apresentam o maior valor de TSS, quer à colheita (t0) quer após conservação (tx).

Em cerejas ‘Folfer’ destacam-se os frutos mais doces (maior TSS) e mais proporcionais e simétricos (rácio altura-largura) obtidos na polinização suplementada (E), demonstrando algum défice de polinização.

Nas maçãs, ‘Fuji’ e ‘Reineta’, a polinização entomófila (A) apresenta uma variabilidade significativa da massa e TSS, incompatível com a regularização de características que o mercado obriga. Neste caso, o défice de polinização também é evidente, porventura por inexistência de polinizadores competentes (funcionais – efectivos).

Quadro 2 - Morfologia (Morf), Teor de Sólidos Solúveis (TSS) e número de sementes dos frutos das cultivares em estudo por modalidades (A – polinização entomófila, B – auto-polinização; C – polinização artificial; D – aplicação de giberelinas; E – polinização suplementada) à colheita (t0) e após conservação (tx) na totalidade das campanhas (médias de 2018 e 2019).

Var. Cultivar	Mod.	N.º frutos (t0 + tx)	Morf (alt/lar)	TSS (°Brix/%)		N.º Sementes
				t0	tx	
Cereja ‘Folfer’	A	108 + 0	0,85	12,98 ± 1,66	na	na
	B	2 + 0	1,00	11,00 ± 0,01	na	na
	C	35 + 0	0,88	12,23 ± 2,85	na	na
	E	93 + 0	0,87	13,38 ± 2,12	na	na
pêra ‘Rocha’	A	746 + 468	1,23	11,28 ± 0,73	12,29 ± 1,04	0,91 ± 1,80
	B	571 + 365	1,35	10,94 ± 1,18	12,12 ± 1,82	0,21 ± 1,01
	C	135 + 59	1,31	11,89 ± 0,50	12,74 ± 2,37	3,42 ± 1,81
	D	37 + 60	1,27	11,97 ± 0,65	13,21 ± 0,59	2,49 ± 2,09
	E	820 + 469	1,25	11,28 ± 0,62	12,55 ± 0,89	3,05 ± 1,75
maçã ‘Fuji’	A	514 + 330	0,80	14,20 ± 1,13	14,31 ± 1,41	6,33 ± 2,13
	B	2 + 0	0,82	13,20 ± 0,08	na	1,50 ± 0,71
	C	87 + 52	0,80	14,59 ± 1,20	14,62 ± 0,99	7,65 ± 2,81
	E	546 + 300	0,79	14,48 ± 0,95	14,90 ± 1,04	6,91 ± 2,23
maçã ‘Reineta’	A	341 + 303	0,73	11,99 ± 2,75	14,30 ± 1,42	2,18 ± 1,49
	B	3 + 0	1,21	9,67 ± 0,83	na	0
	C	36 + 63	0,74	10,28 ± 0,91	13,82 ± 0,90	2,24 ± 1,70
	E	369 + 303	0,74	12,21 ± 1,42	14,48 ± 1,80	2,41 ± 1,26

Neste estudo, observámos défices de polinização distintos e particulares de cada cultivar. A instabilidade dos actuais serviços de polinização entomófila revela-se limitadores da qualidade dos frutos e subtraem oportunidades e estratégias comerciais, especialmente, para com os mercados internacionais, mais exigentes e lucrativos. Este conjunto de primeiros resultados apontam que um Serviço de Polinização entomófila competente e próprio a cada cultivar é indispensável à optimização da produtividade e qualidade dos frutos, à rentabilidade da fruticultura. No entanto, a avaliação da competência do Serviço de Polinização deverá incluir as duas componentes, quantitativa (eg, transferência de pólen e visitas florais) e também a qualitativa (eg, polinizadores funcionais).

Só uma comunidade de polinizadores silvestres diversificada e equilibrada realizará um serviço de polinização competente. Desta forma, teremos uma ferramenta sujeita à gestão capaz efectivamente de optimizar a produção e qualidade da fruticultura nacional.

Conclusões

Em conclusão, os parâmetros quantitativos e qualitativos avaliados neste trabalho reforçam o importante papel dos polinizadores e do serviço de polinização na rentabilidade da fruticultura. Contudo, neste momento, ainda estamos a explorar alguns dados e resultados que esclarecerão melhor todos os aspectos em estudo.

Agradecimentos

Agradecemos à República Portuguesa e à União Europeia que, através do “Programa de Desenvolvimento Rural 2014 a 2020” (PDR2020) e do “Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural”, respectivamente, viabilizam financeiramente o GO PoliMax (PDR2020 – 101 – 031727). À Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pela bolsa de Doutoramento de Rafael Carvalho (SFRH/BD/140703/2018). Aos proprietários; Ana Gama, Anabela Delgado, Carlos Inácio, Daniel Francisco, Filipe Costa,

Filipe Sábio, Humberto Sousa, João Esperança, Jorge Bento, Jorge Soares, José Rafael, Luís Ferreira, Miguel Canha, Nélson Santos, Nuno Campos, Patrique Martins, Pedro Jardim, Ricardo Amaro, Ricardo Dionísio, Ricardo Santos, Rui Maia de Sousa, Tiago Ferreira, que disponibilizaram os seus pomares aos vários trabalhos. Aos técnicos Ana Pina, João Vieira e João Neto pelas ajudas nas análises laboratoriais dos frutos. Aos orientadores Sílvia Castro, João Loureiro e Luísa Gigante Carvalheiro. Aos investigadores Claudia Sánchez, Filipa Queirós, Rui Maia de Sousa, Catarina Siopa, Mariana Castro, Lucie Mota, Daniela Tavares, Hugo Gaspar, Ana Afonso e Helena Castro pelo auxílio nos inúmeros trabalhos de campo e laboratório.

Referências Bibliográficas

- Balzan, MV; Bocci, G & Moonen, AC. 2014. Augmenting flower trait diversity in wildflower trips to optimize the conservation of arthropod functional groups for multiple agroecosystem services. *Journal of Insect Conservation* 18: 713–728.
- Brittain, C; Williams, N; Kremen, C. & Klein, A-M. 2013. Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proceedings of the Royal Society B* 280: 20122767.
- Buchanan, BB, Gruissem, W & Jones, RL. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Am.Soc. Plant Biol., Rockville, Maryland, US , 1367 pp.
- Carvalheiro, LG; Veldtman, R; Shnkute, AG; Tesfay, GB; Pirk, CWW; Donaldson, JS & Nicolson, SW. 2011. Natural and within-farmland biodiversity enhances crop productivity. *Ecology Letters* 14: 251-259.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. *Pollination services for sustainable agriculture: the pollination of cultivated plants a compendium for practitioners*, Volume 1. ISBN 978-92-5-130512-6
- Gallaia, N.; Salles, J-M., Setteled, J. & Vaissière, Bernard E. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68;810–821; <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>

- Garibaldi, LA; Steffan-Dewenter, I; Winfree, R; Aizen, MA; Bommarco, R; Cunningham, SA; Kremen, C & Carvalheiro, LG. 2013. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science* 339: 1601–1611.
- Garratt, MPD; Coston, DJ; Truslove, CL; Lappage, MG; Polce, C; Dean, R; Biesmeijer, JC; Potts, SG. 2014. The identity of crop pollinators helps target conservation for improved ecosystem services. *Biological Conservation* 169: 128–135.
- Hoehn, P; Tschardtke, T; Tylianakis, JM; Steffan-Dewenter, I. 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B* 275, 2283–2291.
- Klein, A.-M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I. Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tschardtke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Leyser, O., Day, S. 2003. *Mechanisms in Plant Development*. Balckwell Pub.Co., Oxford.
- Moriya, Y., Takai, Y., Okada, K., Ito, D., Shiozaki, Y., Nakanishi, T., Takasaki, T. 2005. Parthenocarpy and self- and cross-incompatibility in ten European pear cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 74: 424–430
- Pardo, A. & Borges, P.A.V. 2020. Worldwide importance of insect pollination in apple orchards: A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 293:106839. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106839>
- Pérez-Méndez, N., Andersson, G.K.S., Requier, F., Hipólito, J., Aizen, M-A., Morales, C.L.; García, N., Gennari, G.P. & Garibaldi, L. A. 2019. The economic cost of losing native pollinator species for orchard production.
- Potts, SG; Biesmeijer, JC; Kremen, C; Neumann, P; Schweiger, O & Kunin, WE. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 345–353.

-
- Quinet, M.; Warzéa, M.; Vanderplanck, M.; Michez, D., Lognayc, G. & Jacquemart, A-L. 2016 Do floral resources influence pollination rates and subsequent fruitset in pear (*Pyrus communis* L.) and apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars? *Europ. J. Agronomy* 77 (2016) 59–69.
- Ramos, DdL., Bustamante, MMC., Silva, FDdSe., Carvalheiro, LG. 2018. Crop fertilization affects pollination service provision – Common bean as a case study. *PLoS ONE* 13(11): e0204460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204460>
- Samnegård, U., Hambäck, PA., Smith, HG. (2019) Pollination treatment affects fruit set and modifies marketable and storable fruit quality of commercial apples. *R. Soc. open sci.* 6:190326. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.190326>
- Steward, PR., Shackelford, G., Carvalheiro, LG., Benton, TG., Garibaldi, LA & Sait, SM. 2014. Pollination and biological control research: are we neglecting two billion smallholders? *Agriculture & Food Security* 3:5.
- Weinbaum, S.A., DeJong, T.M., Maki, J. 2001. Reassess-ment of seed influence on return bloom and fruit growth in ‘Bartlett’ pear. *HortScience* 36: 295-297.
- Winfree, R; Gross, Brian J. & Kremen, Claire (2011) Valuing pollination services to agriculture. *Ecological Economics* 71; 80–88 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2011.08.001>

GO ProEnergy - Novos produtos alimentares e bioenergia a partir de frutos de baixo valor comercial e resíduos agroindustriais



Parceria

ISA - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa (**Líder**);

FCUL - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária;

APMA - Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça;

Frubaça - Cooperativa de Hortofruticultores CRL;

Granfer - Produtores de Frutas, CRL;

Campotec IN - Cons. e Transformação de Hortofrutícolas, SA;

Cooperfrutas - Coop. Prod. Frutas e Prod. Hortícolas de Alcobaça, CRL;

Palavras-chave: subprodutos de hortofrutícolas; alimentos funcionais; recuperação bioenergética; economia circular.

Website: [https://go-proenergy.webnode.pt/;](https://go-proenergy.webnode.pt/)

Investimento total: 371 394 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO ProEnergy

Promover a mudança de visão tradicional da gestão de resíduos orgânicos, para uma abordagem que tenha em consideração o Nexus “resíduos-energia-alimentos”. Elaborar roteiros que permitam planear estratégias de promoção da sustentabilidade em torno da valorização de subprodutos e bio resíduos. Objetivos específicos: (i) Implementar novas tecnologias para a obtenção de novos produtos ingredientes de elevada bioatividade e elevado valor acrescentado; (ii) Estabelecer critérios de otimização do processo de co-digestão para produção descentralizada de biogás, como fonte de energia primária a ser integrada na indústria.

Equipa do GO ProEnergy

Entidades	Pessoas
APMA	Susana Costa
CAMPOTEC IN	André Azevedo, Délio Raimundo, Susana Costa
Cooperfrutas	João Silva
FCUL	Ana Cristina Figueiredo, Cláudia Tavares, Elsa Gonçalves, José G Barroso, Luís G. Pedro
FRUBAÇA	Daniela Santos, João Crisóstomo, Sara Silva
GRANFER	Cristina Rosa, Ricardo Pereira
INIAV	Cristina Marques Aleixo, Maria do Carmo Paula, Maria Manuela Vida, Maria Manuela Lageiro, Marta Nogueira de Abreu
ISA	André Azevedo, Elizabeth Duarte, Joana Rodrigues, Luísa Brito, Margarida Moldão, Rita Fragoso, Vítor Alves

ProEnergy - Novos produtos alimentares e bioenergia a partir de frutos de baixo valor comercial e resíduos agroindustriais

André Azevedo^{1,2*}, Diana Santos^{1,2}, Sofia Lourenço^{1,2}, Marta Abreu^{2,3}, Rita Fragoso^{1,2}, Vítor Alves^{1,2}, Elizabeth Duarte^{1,2} e Margarida Moldão^{1,2}

¹ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal;

¹LEAF, Linking, Landscape, Environment, Agriculture and Food Research Center, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal;

² INIAV, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal

*Email: mmoldao@isa.ulisboa.pt

Resumo

As indústrias de hortofrutícolas (HF) (centrais fruteiras, indústrias produtoras de sumos e indústrias de HF minimamente processados) geram elevadas quantidades de subprodutos e bioresíduos (HFBW). Estes HFBW são muito perecíveis, visto que apresentam elevados teores de humidade (> 80%) e de matéria orgânica bem como contaminação microbiológica, pelo que a sua rápida eliminação faz parte integrante dos sistemas de gestão da qualidade. A gestão dos HFBW tem implicações ambientais e económicas de elevado impacto. Atendendo a que muitos destes materiais apresentam elevado valor, quer por ainda poderem constituir matéria-prima para produção de alimentos, quer por possuírem elevados teores de compostos funcionais (FC), é importante pensar estratégias de valorização. Nesse contexto, o projeto ProEnergy tinha como objetivo contribuir para a valorização de HFBW. Os resultados permitiram concluir que é possível valorizar materiais pouco ou nada valorizados atualmente, quer pela via alimentar, quer para a recuperação de bioenergia. Foram desenvolvidos ingredientes bioativos, para uso alimentar ou outro e polpas bioativas (Gonçalves et

al., 2020). Foram desenvolvidos revestimentos comestíveis e materiais poliméricos biodegradáveis, com incorporação de extratos de subprodutos de ananás que, testados em embalagem de carne, contribuíram para minimizar a oxidação lipídica (Lourenço et al., 2020). Por outro lado, a adição de farinha funcional de coração de ananás a marinadas de carne contribuiu para a melhoria significativa da dureza da mesma (Santos et al., 2020). É importante realçar que as unidades industriais hortofrutícolas apresentam consumos elevados de energia associados à geração de grandes quantidades de bioresíduos. A rota da recuperação bioenergética e o potencial de integração desta energia nas unidades HF produtoras de bioresíduos não passíveis de utilização alimentar é um desafio pouco explorado em Portugal. O processo de DA é uma tecnologia robusta que pode ser implementada de modo descentralizado para a produção de bioenergia, ultrapassando as barreiras criadas pelos principais atores para a aceitação e implementação desta solução inovadora. O baixo rendimento do processo de digestão anaeróbia de um mono-substrato é um dos maiores obstáculos à implementação desta tecnologia à escala real. A alternativa da co-digestão (Co-DA) cria sinergias entre o potencial bioenergético dos múltiplos substratos gerados nas unidades de HF. Os resultados obtidos permitiram construir uma matriz para a definição das misturas de bioresíduos que potenciam o incremento do desempenho do processo de DA. Os ensaios experimentais desenvolvidos ao longo do projecto são muito promissores, podendo destacar-se o aumento de cerca de 4x na produção diária de biogás (L_d^{-1}) e o aumento de cerca de 3x na produção específica de metano (L_{gsv}^{-1}) nos ensaios de Co-DA comparativamente com os de DA. Desenvolveram-se igualmente o conjunto de informações que possam suportar a elaboração de alguns cenários que se adequem às situações operacionais de unidades HF, para implementar à escala real. Foram propostas ferramentas de cálculo tendo como base: o balanço energético e o balanço de massa à entrada e à saída de um digestor anaeróbio; a qualidade do biogás gerado, expresso em % de metano (CH_4); o poder calorífico inferior (PCI) do metano e o consumo específico,

permitindo estimar o rendimento anual bruto do processo para a unidade agroindustrial em estudo.

Palavras-chave: subprodutos de hortofrutícolas; alimentos funcionais; recuperação bioenergética; economia circular.

Abstract

The fruit and vegetable industries (HF) (post-harvest handlings, juices, and fresh-cut F&V industries) generate high amounts of by-products and biological waste (HFBW). These HFBW are very perishable given their high moisture content (> 80%) and organic matter as well as microbiological contamination. Their fast elimination from the agro-industrial unit is an integral part of food quality management systems. The management of HFBW has high impact environmental and economic results.

Given that most of these materials can still constitute raw material to produce food products due to their high levels of functional compounds (FC), it is important to promote their valorization. In this context, the ProEnergy project aimed to contribute to the valorization of HFBW.

The results obtained indicate that it is possible to reuse these materials, either for food or for bioenergy recovery, since they are not valued. Bioactive ingredients, for food or other use, and bioactive pulps were developed. Edible coatings and biodegradable polymeric materials were also produced, incorporating extracts of pineapple by-products that, tested in meat packaging, helped to minimize lipid oxidation. On the other hand, the addition of functional pineapple heart flour to meat marinades contributed to a significant improvement in meat hardness. Currently, there are good renewable energy sources with capabilities of bridging the energy demand gaps and ameliorating environmental concerns of HF sector. The AD technology is a promising route since it brings many social and environmental benefits such as reduction of organic matter content, minimization of fossil fuels usage, reduction of greenhouse gas emissions and global warming mitigation. Finally, it is

worth mentioning the prominent role that the AcoD biotechnological processes play within the HFBW valorization strategies, enhancing the nutrient balance and improving microorganisms' synergistic effects.

Keywords: fruit and vegetable by-products; functional foods; bioenergy recovery; circular economy.

Introdução

O consumidor atual, nas suas escolhas alimentares, valoriza cada vez mais os benefícios para a saúde e bem-estar, a par da conveniência. Decorrente destas tendências, as indústrias de hortofrutícolas e, em particular, de produção de sumos naturais e de produtos minimamente processados, têm vindo a aumentar os volumes de produção. Estas indústrias geram elevados volumes de subprodutos, nomeadamente nas operações unitárias de extração (casos dos sumos), de descasque e seleção (caso dos minimamente processados, vulgarmente designados por IV gama). O total de subprodutos pode variar de 5% a 60% dependendo do tipo de hortofrutícola laborado e do produto final pretendido. Os destinos mais comuns para estes subprodutos, ainda encarados como resíduos, têm sido a alimentação animal e a compostagem. Esta abordagem tradicional nem sempre é eficaz, podendo mesmo implicar custos adicionais para as empresas, associado às operações de transporte e manuseamento. O estudo de vias alternativas de valorização constitui um desafio para o sector industrial e para a comunidade científica (Lourenço et al. 2021; Santo et al., 2021). Estes materiais são muito perecíveis, visto que apresentam elevados teores de humidade (> 80%), de matéria orgânica e devido à contaminação microbiológica. No entanto, muitos destes materiais ainda apresentam elevado potencial associado à presença de elevados teores em compostos funcionais que podem ser reaproveitados (Lourenço et al., 2021). A extração de compostos funcionais tem sido uma das abordagens mais exploradas.

Por outro lado, a co-digestão anaeróbica (CoDA) tem sido aplicada na valorização de resíduos orgânicos não passíveis de serem valorizados pela via alimentar, com vista à produção de bioenergia.

Foi com base neste panorama que surgiu o projeto ProEnergy com o objetivo de valorizar frutos com baixo ou nulo valor comercial, bem como subprodutos da indústria da IV gama e de sumos que, na atualidade, para além de desperdiçados constituem ainda um potencial risco ambiental. Neste estudo, consideram-se subprodutos todos os biomateriais passíveis de serem utilizados na produção de alimentos.

Os bioresíduos são os biomateriais que, não podendo ser utilizados na via alimentar, por apresentarem elevadas cargas microbianas ou características sensoriais não apropriadas, podem ser valorizados como matrizes para a extração de compostos funcionais ou para a recuperação de bioenergia. As indústrias de HF são responsáveis pela geração de grandes quantidades de bioresíduos, quer sob o ponto de vista quantitativo quer qualitativo, contribuindo negativamente para os impactos ambientais se a rota selecionada para a sua gestão for ineficiente (Azevedo et al., 2021; Nazzaro et al., 2018). Apesar da DA ser uma tecnologia versátil e robusta, identificaram-se oportunidades e desafios para a otimização do processo, especialmente a utilização dos bioresíduos hortofrutícolas como co-substratos. É importante realçar o papel promissor do processo de Co-DA nas estratégias de gestão dos bioresíduos do processamento de frutos e vegetais contribuindo para o aumento da integração das bioenergias, permitindo que as unidades HF se tornem mais eficientes e menos dependentes das fontes de energias convencionais (Esparza et al., 2020).

O projeto envolveu três tarefas fundamentais: (i) quantificação e qualificação dos fluxos de subprodutos e bioresíduos gerados nas diferentes empresas do consórcio, (ii) valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares de elevado valor funcional e (iii) valorização energética.

Material e métodos

Quantificação e qualificação dos fluxos de subprodutos e bioresíduos

Os parceiros industriais efetuaram a identificação e quantificação dos fluxos de subprodutos e bioresíduos gerados nas respetivas instalações. Os subprodutos e bioresíduos foram divididos em categorias atendendo à(s) espécie(s) botânica(s) e ao tipo de material rejeitado.

A CAMPOTEC e a FRUBAÇA, que processam hortofrutícolas para produção de IV gama e de sumos, apresentam os maiores e mais diversificados quantitativos de subprodutos e bioresíduos (Figura 1).



Figura 1 - Exemplos de bioresíduos da produção de IV gama e sumos.

Na produção de vegetais da IV gama, a par de bioresíduos, são geradas elevadas quantidades de materiais passíveis de serem utilizados na produção de alimentos (Figura 2).



Figura 2 - Exemplos de subprodutos gerados na produção da IV gama passíveis de utilização alimentar.

Face à classificação efetuada os materiais biológicos foram objeto de estudos diferentes: (1) fruta não conforme, alguns subprodutos e alguns bioresíduos para valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares; (2) bioresíduos da IV gama para valorização bioenergética.

A-Valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares

Avaliação do potencial para valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares

Nesta vertente foram analisados os seguintes parâmetros: humidade, pH, teor em sólidos solúveis totais (TSS), acidez titulável total, atividade antioxidante (métodos DPPH, FRAP e ABTS), teor de fenóis totais, teor de elementos minerais e análise microbiológica. Nos subprodutos de ananás foi ainda avaliada a atividade enzimática da bromelaína.

- Teor de humidade - secagem a 100 - 105°C até massa constante.
- Teor de sólidos solúveis totais (TSS) - a partir do filtrado do homogeneizado da amostra (refratómetro digital Atago PAL-1, Tokyo, Japan). Resultados expressos em °Brix.
- pH – potenciómetro (Crison Instruments, Espanha), calibrado a 20°C, com soluções tampão de pH 4 e pH 7.
- Acidez titulável - método descrito na NP – 1421(1977).
- Teor de minerais - espectrometria de absorção atómica (Thermoscientific iCAP7000 series ICP spectrometer).
- Teor de compostos fenólicos totais (TCF) - método Folin-Ciocalteu modificado por (Mokrani & Madani, 2016), expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de produto (EAG.100 g⁻¹).
- Atividade antioxidante - método DPPH - utilizando o radical [1,1–diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)]; método ABTS - mede a atividade antioxidante pela captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico); método FRAP – baseado na redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri-(2-piridil)-1,3,5 triazina) com Fe³⁺ (Lourenço et al., 2021).

- Determinações microbiológicas - realizadas nos laboratórios de microbiologia do INIAV e do ISA. Práticas laboratoriais realizadas de acordo com EN ISO 7218:2007, e preparação de amostras e suas diluições de acordo com EN ISO 6887:2017. Determinações de microrganismos a 30°C, bolores, leveduras e bactérias lácticas.
- Pesquisa de micotoxinas [Aflotoxinas (B1, B2, G1 e G2), Ocratoxina A e Patulina] em todos os subprodutos desidratados testados (análise efetuada pelo INSA).

Preparação e caracterização de polpas de elevada bioatividade

Para além dos parâmetros quantificados na caracterização dos subprodutos, as polpas desenvolvidas foram caracterizadas em termos de Cor CIELab, comportamento reológico, análise microbiológica e análise sensorial. A preparação das polpas foi realizada na oficina tecnológica do INIAV segundo o diagrama da Figura 3. Foram utilizados HF de características não conforme para mercado em fresco: pera Rocha, ananás, maçã Fuji, salsa e espinafre. As polpas foram embaladas em sacos de polietileno de baixa densidade (11 cm x 13 cm, 100 g), termosoldados após ter sido retirado o ar do espaço de cabeça. Posteriormente procedeu-se à pasteurização (Gonçalves et al., 2020), seguida de refrigeração por imersão em banho de gelo fundente. As amostras foram armazenadas (5 °C ± 1 °C) até posterior controlo analítico (físico-químico, microbiológico e sensorial) ao longo de 30 dias.

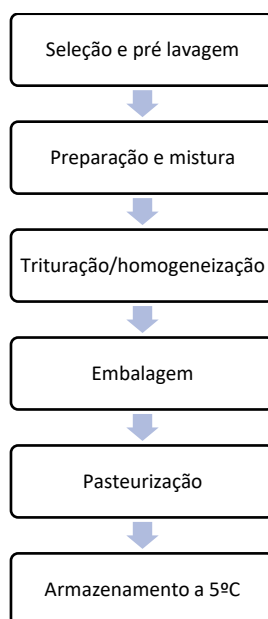


Figura 3 - Diagrama de processamento de polpas de elevada bioatividade

Extração de compostos bioativos

Foram testados diferentes solventes e diferentes razões amostra/solvente (m/V), para a otimização do processo de extração (Lourenço et al., 2021).

Produção de farinhas funcionais de ananás

Os subprodutos da indústria de ananás minimamente processado (coração e casca), previamente submetidos a stress abiótico por altas pressões hidrostáticas, foram liofilizados, moídos e embalados (Santos et al., 2021).

B-Valorização bioenergética

a) Principais Metodologias utilizadas

Fez-se um delineamento experimental dos ensaios exploratórios a realizar com estes bioresíduos, com o objetivo de selecionar as categorias que apresentassem as características físico-químicas mais promissoras para valorização bioenergética. Foram feitos ensaios de armazenamento com diferentes categorias de bioresíduos, à temperatura ambiente e em condições de refrigeração para otimizar a logística da gestão na unidade agroindustrial. Testaram-se também diferentes tipos de pré-tratamento para selecionar o mais adequado à tipologia do bioresíduo.

b) Caracterização de bioresíduos gerados numa unidade agroindustrial selecionada como Estudo de Caso

Para este fim, realizou-se uma visita exploratória ao Parque de Resíduos da CAMPOTEC, onde foi possível identificar *in situ* e classificar as cinco principais categorias de bioresíduos, de acordo com a sua proveniência e espécie botânica (Figura 4). Procedeu-se à recolha de amostras das diferentes categorias (cerca de 5 kg) para ensaios exploratórios de caracterização, que decorreram nos laboratórios do ISA.



Figura 4 - Categorias de bioresíduos recolhidas na Campotec, resultantes da produção de minimamente processados: Tubérculos e raízes (QG1), saladas e alfaces (QG2), couves (QG3) e bolbos (QG4). Frutos não conformes, rejeitados durante o processamento para o mercado em fresco (MF1).

c) Determinação dos bioresíduos a utilizar e respetivas proporções

Foi realizado um diagnóstico à produção e à geração de bioresíduos da Campotec (com base nos dados de quebras do processamento mínimo de hortofrutícolas), no qual se avaliou possíveis combinações de bioresíduos de acordo com a sua adequabilidade para o processo de DA. Definiu-se um indicador de geração de bioresíduo ($I_{\text{Bioresíduos}}$), expresso em percentagem que representa os quantitativos de quebras + refugo (ton^{-1} versus a produção (ton^{-1})).

Num processo de co-digestão anaeróbia com substratos como os efluentes pecuários (ricos em azoto), são necessários co-substratos ricos em carbono (como os glúcidos), de modo a atingir valores próximos dos ideais em termos de razão C/N, entre 20 e 30. Considerando este fator, foram selecionados três grupos de co-substratos: os frutos não conformes (MF1); tubérculos e raízes (QG1); e as saladas e folhosas (QG2) (Figura 5).



Figura 5 - Categorias de bioresíduos selecionados para serem utilizados no processo de co-digestão anaeróbia.

d) Pré-Tratamentos

Para se poder efetuar a valorização energética dos bioresíduos, estes foram sujeitos a um pré-tratamento mecânico, de modo a extrair as frações líquidas (licores) de cada categoria de bioresíduo (Figura 6). A fração líquida (licor) será utilizada como co-substrato nos ensaios de co-digestão anaeróbia. Definiu-se um novo indicador (μ) para calcular a percentagem de licor extraído a partir de uma determinada massa de bioresíduo.



Figura 6 - Esquema do pré-tratamento realizado aos bioresíduos fornecidos pela CAMPOTEC.

e) Caracterização físico-química das frações líquidas

Procedeu-se posteriormente à caracterização físico-química dos licores e da respetiva mistura na proporção estipulada, relativamente aos parâmetros pH, teor de sólidos solúveis (TSS, expresso em °Brix) e condutividade elétrica (CE) de acordo com o Standard Methods 23rd edition (Baird & Bridgewater, 2017).

f) Delineamento para validação dos ensaios de DA e Co-DA

O substrato principal selecionado para ser utilizado nos ensaios laboratoriais foi o chorume de suinicultura da fase de engorda/acabamento (CEA). Este chorume é caracterizado por ter um teor de sólidos voláteis muito superior ao teor do chorume de ciclo fechado, o que permite otimizar o potencial bioenergético (Azevedo et

al., 2021; Silva et al., 2020). O circuito do fluxo de chorume gerado na unidade suinícola está representado na Figura 7.

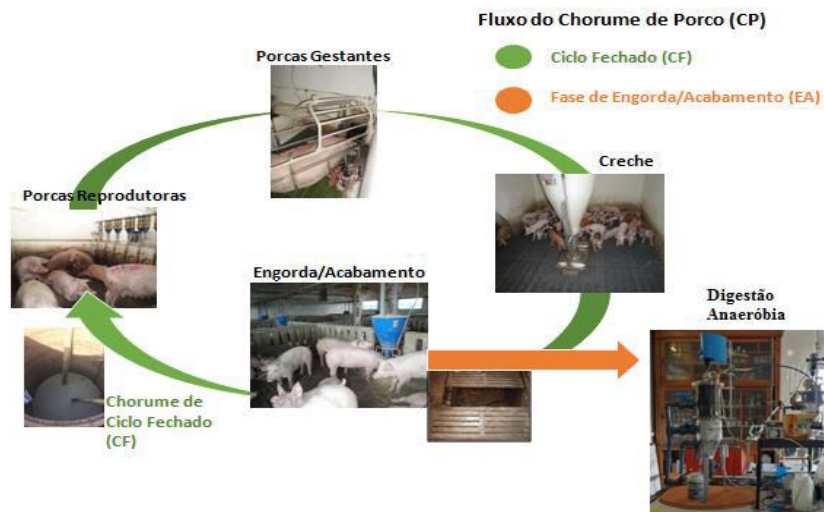


Figura 7 - Esquema representativo do fluxo de chorume de suinicultura.

Os ensaios foram realizados na Unidade Laboratorial de Digestão Anaeróbia (ULDA) apresentada na Figura 8.

1. Software de controlo
2. Digestor
3. Controlador da manta de aquecimento
4. Agitador do reator
5. Bomba de alimentação
6. Medidor de fluxo de biogás
7. Analisador do biogás
8. Entrada da alimentação
9. Saída do digerido

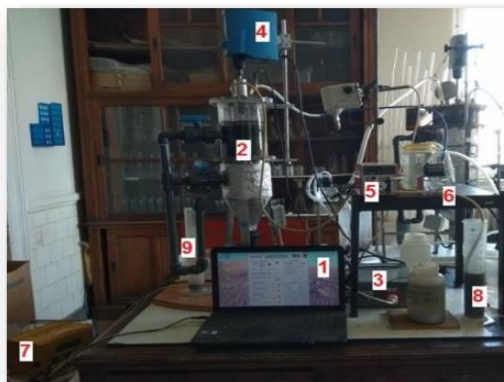


Figura 8- Esquema da Unidade Laboratorial de Digestão Anaeróbia.

Foram realizados ensaios de DA e Co-DA, ao longo do projeto, utilizando os seguintes parâmetros operacionais:

Tempo de retenção hidráulico (TRH) de 15 dias;

Condições de Mesofilia ($37^{\circ} \pm 1$);

Proporção de chorume de engorda/acabamento (CEA): Mistura de licores (ML) - 80:20 (v/v);

Digestor de mistura completa em regime semi-contínuo (Vútil de 4,8L).

g) Avaliação do Potencial Bioenergético

Com o objetivo de se fazer uma estimativa que permita avaliar o potencial bioenergético, tendo como base os valores obtidos à escala laboratorial, propõe-se estimar com algum rigor a bioenergia produzida (Biogás/BioCH₄), para implementar à escala real. Apresenta-se o conjunto de informações que permitem elaborar cenários que se adequem às situações operacionais de unidades de HF, permitindo estimar o rendimento anual bruto.

Principais resultados

A-Valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares

a) Avaliação do potencial para valorização alimentar/produção de ingredientes alimentares

Foram observados valores elevados de subprodutos, que, nalguns casos, atingiram cerca de 50% em relação à matéria-prima inicial (IV gama e sumos) e cuja valorização atual associa pouco/nulo retorno económico.

No processamento de fruta para o mercado em fresco são gerados subprodutos (frutos de características sensoriais não conformes para mercado em fresco) e bio resíduos (frutos com patologias). A calibração e a escolha são as operações unitárias onde se geram maiores valores de subprodutos (4 -12%).

No Quadro 1 apresenta-se, a caracterização de alguns dos materiais em estudo. De salientar que os valores de TSS das diferentes categorias dos subprodutos é sempre inferior aos valores característicos das respetivas matérias-primas.

Quadro 1 - Caracterização química e atividade antioxidante (AAox) de subprodutos.

	pH	TSS (°Brix)	Humidade (%)	CFT (mg EAG/100g)	AAox (mg trolox/100g)
Maçã	4,2-5,0	6,3-8,3	76 -87	46-70	55-66
Maçã e cenoura	5,2-5,9	4,3-7,7	82-89	36-67	52-92
Ananás	3,4-3,8	9,1-10,1	80-87	76-81	32-43

Todos os materiais testados revelaram elevados teores de compostos fenólicos e elevada capacidade antioxidante, pelo que podem ser selecionados como matéria-prima para extração de compostos funcionais. De entre os produtos analisados os que apresentaram teores de sais minerais mais elevados foram os da categoria das folhosas.

b) Caracterização de polpas de elevada bioatividade

Foram desenvolvidas polpas com a introdução de hortícolas (salsa e espinafre) em misturas base de frutos o que se revelou importante para a estabilização da cor verde pretendida, qualidade sensorial (aroma, sabor) e aumento significativo da bioatividade. A polpa verde desenvolvida apresenta boa estabilidade do pigmento clorofila, com níveis de aceitação sensorial favoráveis e com valor de pH <4,5 (contribuição para a estabilidade microbiana da polpa durante o armazenamento). O teor de sólidos solúveis diminui pela introdução dos hortícolas, mas sempre com valores na gama de 12 a 13 °Brix, correspondentes a níveis mínimos para a perceção de doçura. O nível

de TSS da polpa mostrou-se muito dependente do TSS dos frutos que compõem a mistura base.

A introdução dos hortícolas contribui ainda para o incremento significativo do teor de compostos fenólicos totais (duplicação dos valores de FC, face à mistura base), cujo acréscimo na atividade antioxidante se revela importante quer para a inibição de oxidações durante o armazenamento quer para o valor funcional da polpa (38 mg EAG/100 g, 50 mg EAG/100g).

c) Extração de compostos bioativos

No que respeita a extração de compostos bioativos, maioritariamente compostos fenólicos, as condições otimizadas foram conseguidas com a mistura de solvente etanol: água na proporção de 1:1 durante cerca de 20 minutos (Lourenço, et al., 2021).

d) Caracterização de farinhas funcionais de ananás

Nos Quadros 2 e 3 apresenta-se a composição das farinhas de ananás (coração e casca). Como se pode observar trata-se de um produto com elevado interesse sob o ponto de vista nutricional, rico em fibras e sais minerais. Acresce ter um baixo valor de atividade da água o que lhe confere capacidade de conservação.

Quadro 2 - Composição de subprodutos de ananás desidratados.

		Casca	Coração
Humidade (g.100 g ⁻¹)		5,27 ± 0,06	7,84 ± 0,06
a_w		0,261 ± 0,005	0,289 ± 0,002
Valor calórico (kcal.100 g ⁻¹)		373,50 ± 0,81	360,72 ± 1,62
Proteína (g.100 g ⁻¹)		3,94 ± 0,05	2,88 ± 0,05
Glúcidos (g.100 g ⁻¹)		64,39 ± 5,67	88,31 ± 4,87
Fibra	Insolúvel (g,100 g ⁻¹)	27,38 ± 0,39	15,10 ± 0,36
	Solúvel (g,100 g ⁻¹)	3,76 ± 0,81	1,36 ± 0,23
	Total (g,100 g ⁻¹)	31,12 ± 0,83	16,57 ± 0,50

Quadro 3- Composição mineral de subprodutos de ananás desidratados.

		Casca	Coração
Cinza (g.100 g ⁻¹)		4,23 ± 0,13 a	4,83 ± 0,28 b
Minerais (mg.kg ⁻¹ matéria seca)	Sódio	277,87 ± 22,07 a	266,24 ± 8,55 a
	Potássio	9997,69 ± 108,13 a	12089,92 ± 93,91 b
	Cálcio	1592,45 ± 80,18 b	375,65 ± 43,22 a
	Magnésio	784,71 ± 13,87 a	964,45 ± 11,71 b
	Fósforo	1552,87 ± 8,37 b	545,17 ± 8,84 a
	Enxofre	1183,92 ± 19,18 b	601,98 ± 3,48 a
	Ferro	32,79 ± 2,84 b	19,44 ± 0,68 a
	Cobre	5,16 ± 0,78 a	5,80 ± 0,34 a
	Zinco	8,91 ± 0,04 b	1,81 ± 0,05 a
	Manganês	34,97 ± 1,06 b	21,90 ± 0,59 a
	Boro	6,66 ± 0,66 b	2,75 ± 0,37 a

Estes produtos apresentam elevado teor de compostos fenólicos e elevada capacidade antioxidante. Sob o ponto de vista microbiológico, o coração de ananás apresentou todos os parâmetros com adequação para fins alimentares. A casca apresentou um teor de fungos superior ao permitido. Querendo valorizar este subproduto para fins alimentares, o fruto deverá ser descontaminado antes do processamento mínimo. A pesquisa de micotoxinas [Aflotoxinas (B1, B2, G1 e G2), Ocratoxina A e Patulina] foi negativa em todos os subprodutos desidratados testados.

e) Exemplos de aplicações de compostos bioativos e farinhas funcionais de ananás

Foram testadas diversas aplicações de compostos bioativos e farinhas funcionais de ananás. De destacar o desenvolvimento de materiais poliméricos biodegradáveis e bioativos aplicados na embalagem de carne que contribuíram para minimizar a oxidação lipídica (Lourenço et al., 2020). Por outro lado, a adição de farinha funcional de coração de

ananas a marinadas de carne contribuiu para melhoria significativa da dureza da mesma (Santos et al., 2020).

B-Valorização Bioenergética

a) Determinação dos bioresíduos a utilizar e respectivas proporções

Os valores dos $I_{\text{Bioresíduos}}$ (Figura 5) foram: $I_{\text{MF1}}=41,9\%$; $I_{\text{QG1}}=43,6\%$ e $I_{\text{QG2}}=11,9\%$.

Estes resultados demonstram que tanto os produtos da categoria MF1 como os da categoria QG1 geram grandes quantidades de bioresíduos, com valores acima dos 40%. O valor do I_{QG2} é cerca de quatro vezes menor que os anteriores, e a sua utilização poderá não ser viável atendendo às suas características físico-químicas.

b) Pré-Tratamentos Selecionados

Os rendimentos de obtenção das frações líquidas (Figura 6) foram os seguintes: $\mu_{\text{MF1}}=50,7\%$; $\mu_{\text{QG1}}=20,1\%$ e $\mu_{\text{QG2}}=35,4\%$, o que significa que o μ_{MF1} é cerca de 2,5 vezes superior ao μ_{QG1} e 1,5 vezes superior ao μ_{QG2} , sendo por isso utilizado em maior quantidade na mistura. As proporções de cada licor a incorporar na mistura foram determinadas tendo em conta a caracterização físico-química de cada uma delas.

c) Caracterização físico-química das frações líquidas

Os resultados obtidos são apresentados no Quadro 4.

Quadro 4 - Caracterização das frações líquidas obtidas após pré-tratamento dos bioresíduos.

Licor	pH	TSS (°Brix)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
MF1	$4,02 \pm 0,09$	$13,85 \pm 0,21$	$2832,00 \pm 35,36$
QG1	$4,27 \pm 0,03$	$3,23 \pm 0,23$	$174,27 \pm 42,67$
QG2	$5,94 \pm 0,05$	$4,80 \pm 0,14$	$13535 \pm 487,90$

Dos resultados obtidos destacam-se o teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) do licor resultante do MF1, com um valor de $13,85 \pm 0,21$, o que significa que tem um elevado conteúdo de carbono (sob a forma de glúcidos), que é um fator essencial para se poder atingir os valores recomendados de razão C/N. Destaca-se também o valor da condutividade elétrica do licor resultante do QG2, que é um valor extremamente elevado e que pode inibir o processo de digestão anaeróbia. Os valores de pH observados encontram-se abaixo de 6, o que seria de esperar tendo em conta a natureza e o tipo dos substratos. O valor ideal para a digestão anaeróbia seria próximo da neutralidade ($7,0 \pm 0,2$).

Com base nos resultados observados determinou-se que a proporção de cada licor a ser utilizado para formar a mistura que servirá de co-substrato é: 5 MF1 / 4 QG1 / 1 QG2. Isto significa que a mistura dos licores (ML) que servirá de co-substrato será composta por 50% de licor de frutos não conformes MF1, 40% de licor de tubérculos e raízes QG1 e 10% de licor de saladas e folhosas QG2. No Quadro 5 é apresentada a caracterização físico-química da mistura dos licores, utilizando a proporção indicada anteriormente.

Quadro 5 - Caracterização físico-química da mistura utilizada para os ensaios de co-digestão.

	pH	CE (mS cm^{-1})	Sólidos Totais (g L^{-1})	Sólidos Voláteis (g L^{-1})	Razão SV/ST (%)	CQO Solúvel (g L^{-1})
ML	$4,30 \pm 0,3$	$2,84 \pm 0,2$	$42,14 \pm 2,6$	$39,66 \pm 1,3$	94	$25,46 \pm 3,1$

d) Parâmetros operacionais de controlo do desempenho e estabilidade dos processos de DA e Co-DA

No Quadro 6 estão apresentados os resultados obtidos durante os ciclos de digestão anaeróbia e co-digestão anaeróbia.

Quadro 6 - Parâmetros operacionais de controlo do desempenho e estabilidade dos processos de DA e Co-DA.

Parâmetros	DA (n=2)	Co-DA (n=2)
SV/ST (%)	72	84
C/N	9	19
OLR (gSVLreatord ⁻¹)	1,00 ± 0,01	2,6 ± 0,02
GP (Ld ⁻¹)	2,3 ± 0,05	9,7 ± 0,5
MP (Ld ⁻¹)	1,5 ± 0,03	6,0 ± 0,2
SGP (mLgSV ⁻¹)	482 ± 10	771 ± 12
SMP (mLgSV ⁻¹)	304 ± 6	478 ± 9
SELR (d ⁻¹)	0,400	0,380

Legenda: SV – sólidos voláteis; ST – sólidos totais; C/N – razão carbono/azoto; OLR – taxa de carga orgânica expressa em SV; GP – produção de gás; MP – produção de metano; SGP – produção específica de biogás expressa em SV; SMP produção específica de metano expressa em SV; SELR – razão da carga de alimentação expressa em CQO por grama de biomassa no interior do reator expressa em SSV.

Podemos então observar que, no caso da taxa de carga orgânica (OLR), dos ensaios de DA para os ensaios de Co-DA houve um aumento de 260% e 300%, respetivamente. Verificou-se também um aumento da razão SV/ST (17% e 18%), C/N (110% e 300%), MP (400% e 420%) e no parâmetro SMP, com aumentos de 57% e 43%. Estes resultados demonstram a importância e o contributo que os bioresíduos hortofrutícolas deram para o incremento do desempenho do processo de digestão anaeróbia (Sousa et al., 2021; Duarte et al., 2020).

e) Estimativa do Potencial Bioenergético

O cálculo do potencial bioenergético teve como base os seguintes pressupostos:

- Estimativa anual do potencial bioenergético dos bioresíduos utilizando 20% da mistura dos licores (ML);
- Produção anual de licores (ML) – Atendendo ao indicador de bioresíduos gerado (I) e do rendimento de extração dos licores (μ);
- Assumindo uma massa volúmica (ρ) média dos bioresíduos de 1090 kg/m^3 ;
- Considerando a razão de $SV/ST = 94\%$,

Concluiu-se que o valor de E_p referente ao ensaio DA foi de $3,1 \text{ kWhkg}_{SV}^{-1}$, enquanto o E_p da Co-DA foi de $4,6 \text{ kWhkg}_{SV}^{-1}$, correspondendo a um incremento de cerca de 150%.

Atendendo à metodologia proposta por Fragoso et al. (2021) e aos pressupostos referidos, tendo como base o poder calorífico inferior (PCI) do metano e o consumo específico, pode estabelecer-se uma interligação entre a carga de alimentação do digestor (*input*) e o Biometano (*output*), permitindo a produção anual de 221 MWh. Tendo como base o custo do KWh, para a unidade agroindustrial em estudo, será possível estimar a poupança anual.

Referências Bibliográficas

- Azevedo, A., Gominho, J., Duarte, E., 2021. Performance of anaerobic co-digestion of pig slurry with pineapple (ananas comosus) bio-waste residues. Waste Biomass Valor. 12, 303–311. doi.org/10.1007/s12649-020-00959-w
- Baird, R., & Bridgewater, L., 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd edition. Washington, D.C.: American Public Health Association.

- Duarte, E., Fragoso, R., Smozinski, N., Tavares, J., 2020. Enhancing Bioenergy Recovery from Agro-food Biowastes as a Strategy to Promote Circular Bioeconomy. *Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems*. Volume 9, Issue 1, 1080320. [dx.doi.org/10.13044/j.sdewes.d8.0320](https://doi.org/10.13044/j.sdewes.d8.0320)
- Esparza, I., Jiménez-Moreno, N., Bimbela, F., Ancín-Azpilicueta, C., & Gandía, L. M., 2020. Fruit and vegetable waste management: Conventional and emerging approaches. *Journal of Environmental Management*, 265, 110510. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110510>
- Fragoso, R., Henriques, A.C., Ochando-Pulido, J., Smozinski, N., Duarte, E., 2021. Enhanced biomethane production by co-digestion of mixed sewage sludge and dephenolised two-phase olive pomace. *Waste Management & Research*. doi.org/10.1177/0734242X211003979
- Gonçalves, E. M., I. Raposo, J. Pinheiro, C. Alegria, M. Moldão, and M. Abreu, 2020, Quality Changes During Thermal Processing of Two Mixed Formulas of Fruits and Vegetables Pulps. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, Vol. 32, no. 4, Apr., pp. 271-80. doi.org/10.9755/ejfa.2020
- Lourenço, S., Fraqueza, M J., Fernandes, M H, Moldão Martins, M., Alves, V D., 2020. Application of edible alginate films with pineapple peel active compounds on beef meat preservation. *Antioxidants*. 9, 667; doi:10.3390/antiox9080667
- Lourenço, S., Campos, D., Gómez-García, R., Pintado, M., Oliveira, M. C., Santos, D., Corrêa-Filho, L., Moldão-Martins, M. and Alves V.D. (2021) Optimization of natural antioxidants extraction from pineapple peel and their stabilization by spray drying. *Foods*. 10, 1255. doi.org/10.3390/foods10061255
- Mokrani, A., Madani, K., 2016. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Sep. Purif. Technol.* 162, 68–76. doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043

-
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Ombra, M.N., d'Acierno, A., Coppola, R., 2018. Recovery of biomolecules of high benefit from food waste. *Curr Opin Food Sci*; 22:43–54. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.012>.
- Santos, D., Fraqueza, M J, Pissarra, H., Saraiva, J., Vicente, A., Moldão Martins, M, 2020. Optimization of the Effect of Pineapple By-Products Enhanced in Bromelain by Hydrostatic Pressure on the Texture and Overall Quality of Silverside Beef Cut. *Foods*, 9, 1752; doi:10.3390/foods9121752
- Santos, D.I., Martins, C.F., Amaral, R.A., Brito,L., Saraiva, J.A., Vicente, A.A., Moldão-Martins, M., 2021. Pineapple (*Ananas comosus* L.) by-products valorization: Novel bio ingredients for functional foods. *Molecules*. 26, 3216. doi.org/10.3390/molecules26113216
- Silva, I., Jorge, C., Brito, L., Duarte, E., 2020. A pig slurry feast/famine feeding regime strategy to improve mesophilic anaerobic digestion efficiency and digestate hygienisation. *Waste Manage. Res.* doi.org/10.1177/0734242X20972794
- Sousa, S., Duarte, E., Mesquita, M., Saraiva, S., 2021. Energetic Valorization of Cereal and Exhausted Coffee Wastes Through Anaerobic Co-digestion With Pig Slurry. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5. doi.org/10.3389/fsufs.2021.642244

GO ProtecEstenfilio - Estudar a evolução da estenfiliose na cultura da pereira 'Rocha' e aplicar um conjunto de práticas que permitam minimizar o impacto da doença, com base na utilização otimizada dos recursos

Parceria



COTHN – CC – Centro Operativo Tecnológico

Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências (**Líder**);

APAS – Associação de Produtores Agrícolas da Sobrena;

CAB, CRL – Cooperativa Agrícola do Bombarral, CRL.

CPF, Lda – Centro de Produção e Comercialização Hortofrutícola, Lda;

Coopval, CRL – Cooperativa Agrícola dos Fruticultores do Cadaval, CRL;

Frutoeste, CRL – Cooperativa Agrícola dos Horto-fruticultores do Oeste, CRL;

IPCB-ESA–Instituto Politécnico de Castelo Branco – Escola Superior Agrária;

ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

Frutus, CRL - Estação Fruteira de Montejunto, CRL;

EU – Universidade de Évora.

Palavras-chave: pera Rocha; estenfiliose; fungicidas; controlo biológico; práticas culturais.

Website: <https://protecestenfilio.webnode.pt/>

Investimento total: 484 908,18 €

Investimento elegível: 433 241,21 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO ProtecEtenfilio

1. Avaliação do status quo do pomar e a incidência de estenfiliose;
2. Otimização dos meios de luta química;
3. Otimização de meios de luta cultural.

Equipa do GO ProtecEtenfilio

Entidades	Pessoas
COTHN-CC	Ana Paula Nunes
	Carmo Martins
	Hélder Coelho
	Pedro Nunes
Frutoeste, CRL	Daniela Alexandra Pereira Dias
	Mário Jorge Rodrigues Aniceto
	Patricia Mafalda Esteves Gomes
	Rosário Antunes Ferreira
APAS	João Azevedo
CPF, Lda	Rafael Gomes
	Sónia Isaque
ISA	Andrea Cabanas
	Catarina Francisco
	Cecília Rego
	Cristina Oliveira
	Mariana Mota
Frutus, CRL	Ana Garcia
	Délia Fialho
	Zélia Dionísio
COOPVAL, CRL	Carla Rasteiro
IPCB-ESA	Conceição Amaro
	João Pedro Luz
UE	António Bento Dias
CAB, CRL	Maria João Batista

ProtecEstenfilio - Estudar a evolução da estenfiliose na cultura da pereira 'Rocha' e aplicar um conjunto de práticas que permitam minimizar o impacto da doença, com base na utilização otimizada dos recursos (água, fertilização, agentes de controle biológico e fungicidas)

Cecília Rego¹, João Pedro Luz^{2,3}, João Azevedo⁴, António Dias⁵, Ana Garcia⁶, Andrea Cabanas¹, Cristina Oliveira¹, Mariana Mota¹, Catarina Francisco¹, Conceição Amaro^{2,3}, Carla Rasteiro⁶, Délia Fialho⁷, Ana Garcia⁷, Zélia Dionísio⁷, Rosário Antunes⁸, Mário Aniceto⁸, Daniela Dias⁸, Sónia Isaque⁹, Rafael Gomes⁹, M.^ª João Batista⁹ e Carmo Martins^{10*}

¹ ISA – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

² IPCB-ESA – Instituto Politécnico de Castelo Branco – Escola Superior Agrária, 6000-909 Castelo Branco;

³ QRural, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Quinta da Senhora de Mércules, 6001-909 Castelo Branco

⁴ Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena (APAS), Estrada Municipal 612 km 4 Sobrena 2550-458 Peral CDV Cadaval

⁵ Universidade de Évora - Departamento de Engenharia Rural, Largo dos Colegiais, Nº 2, 7004-516 Évora

⁶ Coopval - Cooperativa Fruticultores Cadaval, Estrada Nacional 115 Km 26, 2550 Cadaval;

⁶ Frutus - Estação Fruteira de Montejunto, CRL, EN nº.366, Km 4, 2550-452 Peral Cadaval;

⁷ Frutoeste - Cooperativa Agrícola de Horticultores do Oeste, Estrada Nacional nº. 8 – Carrascal, 2665-009 Azueira Mafra

⁸ CPF - CPF Central Produção e Comercial Hortofrutícola, Lda, Estrada Nacional nº 8, Km 69, Sobreiral 2540-170 Bombarral

⁹ Cooperativa Agrícola do Bombarral, Largo 25 de Abril, 2540-081 Bombarral

¹⁰ COTHN-CC, Estrada de Leiria S/N, 2460-059 Alcobaca

*Email: carmo@cothn.pt

Resumo

Este projeto compreende 3 atividades principais:

a) Avaliação do status quo do pomar e a incidência de estenfiliose. A avaliação das práticas culturais efetuadas pelos diferentes produtores nos últimos 5 anos, com recurso a inquéritos, a avaliação da flora existente nos pomares e o acompanhamento dos pomares durante o período de execução do projeto contribuirá para se estabelecerem possíveis relações entre as práticas culturais e a incidência da doença.

b) Otimização dos meios de luta química. Para este objetivo foram realizados ensaios de eficácia biológica de fungicidas e biofungicidas *in vitro* e/ou *in vivo* utilizando uma seleção caracterizada de isolados patogénicos com diferentes virulências e seleção dos mais eficazes. Foram ainda instalados ensaios de campo com os fungicidas e biofungicidas que demonstraram maior eficácia e avaliação de diferentes épocas de aplicação.

c) Otimização de meios de luta cultural. Para este objetivo foram analisadas as eficiências de diferentes práticas fitotécnicas na redução da manutenção e viabilidade do inóculo no pomar, nomeadamente desenvolver um equipamento agrícola para a remoção dos frutos e folhas infetados do pomar.

Palavras-chave: pera Rocha; estenfiliose; fungicidas; controlo biológico; práticas culturais.

Abstract

This project aims to:

a) Assessment of the status quo of the orchard and the incidence of stemphylium vesicarium. The evaluation of the cultural practices carried out by the different producers in the last 5 years, using surveys, the assessment of the flora existing in the orchards and the monitoring of the orchards during the period of execution of the project will help to establish possible relationships between cultural practices and the incidence of the disease.

b) Optimization of control measures. For this purpose, biological efficacy trials of fungicides and biofungicides were carried out *in vitro* and/or *in vivo* using a selection of pathogenic isolates with different

aggressiveness. Field trials were also installed and a selection of fungicides and biofungicides were evaluated.

c) Optimization of cultural practices. For this purpose, the efficiencies of different phytotechnical practices in reducing the maintenance and viability of the inoculum in the orchard were analyzed, namely, to develop agricultural equipment for the removal of infected fruits and leaves from the orchard.

Keywords: Rocha pear, *Stemphylium vesicarium*, fungicides, biological control, cultural practices.

Introdução

Entre 2014 e 2016, na região Oeste de Portugal, os prejuízos causados pela Doença das Manchas Castanhas (DMC) ao nível do agricultor foram aproximadamente 29,7 milhões de euros e ao nível das centrais fruteiras de 3,4 milhões de euros (Sousa, 2020). Em 2020 ocorreu uma quebra de produção de cerca de 35%, em relação a 2019, com uma produtividade estimada de 8 t/ha (INE, 2020a, b).

A DMC está associada ao fungo *Stemphylium vesicarium* (Wallr.) E. Simmons (estado teleomorfo *Pleospora allii* (Rabenh.) Ces & de Not). Ao longo do seu ciclo de vida, o fungo infeta e coloniza os detritos vegetais existentes no solo, a parte aérea da cultura e as infestantes existentes no pomar quer como saprófita, quer como patógeno (Rossi et al., 2005; Köhl et al., 2013). Assim, no ecossistema pomar é possível existirem diferentes fontes e tipos de inóculo do fungo em toda a campanha de produção (Llorente et al., 2012). Nos pomares europeus tem-se verificado uma elevada incidência e severidade da doença, o que tem

provocado grandes prejuízos na produção, podendo chegar a 90% da produção total (Llorente e Montesinos, 2006; Llorente et al., 2012).

O controlo da DMC é, atualmente, realizado através da aplicação de fungicidas preventivos (Llorente et al., 2012; Diogo et al., 2017). Contudo, quando se reúnem as condições meteorológicas favoráveis, cultivares suscetíveis e um histórico elevado de doença, estes têm-se revelado ineficazes no controlo da doença (Llorente e Montesinos, 2006; Diogo et al., 2017). Para além disso, o elevado número de aplicações conduziu ao aparecimento de resistências a algumas substâncias ativas nas populações do fungo (Luz et al., 2018). Neste sentido, é de extrema importância a adoção de novos meios de controlo da DMC mais eficazes e sustentáveis de forma a reduzir a quantidade de inóculo potencial no pomar e a contaminação dos diferentes órgãos ao longo do ciclo vegetativo. Deste modo, os objetivos do projeto ProtecEstenfilio passaram por:

- Avaliar a eficácia dos produtos aplicados ao solo para reduzir o inóculo potencial dos pomares, avaliação da incidência de *S. vesicarium* em diferentes órgãos da planta;
- Identificar quais as infestantes presentes nos pomares e colonizadas por *S. vesicarium*;
- Analisar a localização dos sintomas nos frutos à colheita (polpa ou fossa apical).

Os resultados obtidos nos dois primeiros anos (2018 e 2019) revelaram que seria importante e esclarecedor acrescentar outras tarefas ao projeto. Assim, a partir de 2019 efetuou-se:

- A avaliação da incidência de outros géneros de fungos obtidos nos isolamentos realizados a partir de diferentes órgãos da planta;
- Avaliação a presença de *S. vesicarium* nos detritos da cultura (lenha de poda/folhas no solo).

A – Ensaios de eficácia dos produtos aplicados ao solo para redução de inóculo

Material e métodos

Ensaios de campo

Nas organizações de produtores parceiras foram instalados ensaios de campo, perfazendo um total de 6 ensaios instalados em pomares de pereira Rocha, estando a sua localização indicada na Figura 1. Como se pode observar, quatro dos seis pomares encontram-se mais a Norte, entre o Pó, Bombarral e Peral, enquanto os dois restantes localizam-se mais a Sul e junto ao litoral, na zona da Encarnação. Destaca-se, ainda, a proximidade geográfica dos pomares 2 e 4 e dos pomares 5 e 6 (Figura 1).

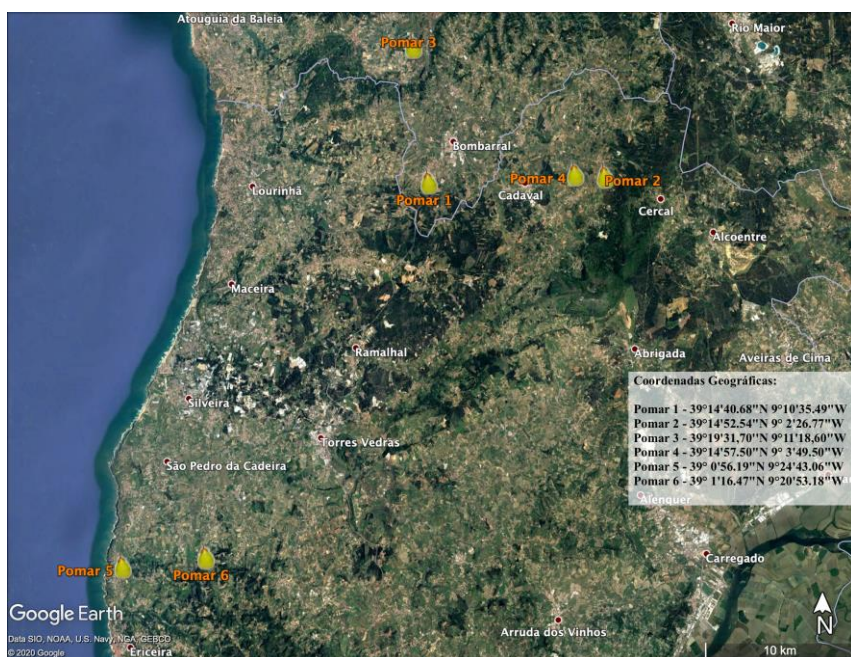


Figura 1 - Localização dos pomares de pereira 'Rocha' na região Oeste onde se realizaram os ensaios de campo e respetivas coordenadas geográficas (imagem Google Earth Pro, versão 7.3.3.7786).

A caracterização dos pomares em ensaio de campo apresenta-se no Quadro 1, onde se identifica porta-enxerto, compasso, modo de condução, ano de plantação, orientação, sistema hídrico, tipo de solo, área total do pomar e histórico da DMC de cada pomar.

Quadro 1 - Caracterização dos pomares de pereira ‘Rocha’ na região Oeste onde se realizaram os ensaios de campo

Características	Pomar					
	1	2	3	4	5	6
Porta-enxerto	BA29 ¹ Marmeleiro-franco	EMA ²	BA29 ¹	BA29 ¹ EMA ²	BA29 ¹	BA29 ¹
Compasso (m)	2,0 × 4,0 3,0 × 4,0	1,8 × 4,0	1,0 × 3,5	1,8 × 4,0 1,2 × 3,8	1,0 × 4,0	1,0 × 4,0 2,0 × 4,5
Modo de condução	Eixo central revestido Vaso	Eixo central revestido	Eixo central revestido	Eixo central revestido	Eixo central revestido	Eixo central revestido
Ano de Plantação	1992/1997 1997/1975	1997	2008	2001/ 2004	2011/ 2012	1998
Orientação	Sudoeste-Nordeste /Norte-Sul	Norte-Sul	Norte-Sul	Este-Oeste	Norte-Sul e Este-Oeste	Noroeste-Sudeste
Sistema Hídrico	Regadio ³	Regadio ³	Regadio ³	Regadio ³	Regadio ³	Regadio ³
Tipo de Solo	Argiloso Franco-argilo-arenoso	Argilo-limoso	Franco-arenoso	Franco-argilo-arenoso	Franco-arenoso	Franco-argilo-arenoso
Área (ha)	2,7	8,5	9,9	3,4	2,8	1,7
Histórico da doença	Incidência baixa	Incidência elevada	Incidência baixa	Incidência média	Incidência média	Incidência Elevada

¹Marmeleiro Provence BA-29; ²Marmeleiro East Malling; ³Rega gota a gota

Quadro 2 - Distribuição das modalidades pelos pomares de pereira ‘Rocha’ na região Oeste onde se realizaram os ensaios de campo

Pomar	Modalidade 1	Modalidade 2	Modalidade 3	Modalidade 4	Modalidades /pomar (n.º)
1	Testemunha	Remoção de material vegetal do solo	Testemunha + Micoplas + Vit-Org		3
2			Testemunha + Micoplas + Vit-Org		3
3				Fruitcare	3
4			Testemunha + Micoplas + Vit-Org	Fosfato monoamónio + Ureia	4
5			Testemunha + Tigre + Condor Shield + Myr N	Lixívia	4
6			Testemunha + Tigre + Condor Shield + Myr N	Lixívia	4

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com uma área de ensaio mínima de 1350 m² e um número mínimo de 66 árvores por modalidade. Por cada modalidade foram avaliadas oito árvores, quatro árvores consecutivas por cada linha e em duas linhas consecutivas, estando as árvores lado a lado entrelinhas. O bloco de árvores em estudo distancia-se no mínimo de 40 metros do bloco correspondente a outra modalidade ou das extremidades do pomar.

Foram ensaiadas **quatro** modalidades com vista à redução de inóculo potencial de DMC no solo dos pomares (Quadro 2). Testaram-se os seguintes produtos comerciais: Tigre (Crimolara, Portugal) + Condor Shield (Crimolara, Portugal) + Myr N (Crimolara, Portugal) e Micoplas (K Adriatica, Itália) + Vit-Org (Green Has Italia, Itália) (Quadro 4).

Quadro 3 – Características, dosagem e época de aplicação dos produtos comerciais utilizados nos ensaios **nas modalidades 3** (biofungicidas)

Modalidade	Produto Comercial	Agentes ativos	Formulação	Dosagem	Época aplicação
			Teor de s.a.		
M3	Tigre	Aminoácidos vegetais enriquecidos com cobre	51% matéria seca;	2 L/ha	janeiro
			38% matéria orgânica; 3% N; 4,5% Cu; 4,2% aminoácidos livres;		
	Condor Shield	<i>Trichoderma koningii</i> TK7	1x10 ⁹ esporos/g	2,5 kg/ha	março
				1,5 kg/ha	junho
				1,0 kg/ha	julho
	Myr N	Azoto + aminoácidos + ácidos húmicos	5% N; 19% C; 33%	9 L/ha	janeiro
			Mat Org; 49% aminoácidos	9 L/ha	março
			vegetais; 6% ácidos	6 L/ha	junho
			húmicos;	3 L/ha	julho

Quadro 4 – Características, dosagem e época de aplicação dos produtos comerciais utilizados nos ensaios **nas modalidades 4** (biocidas)

Modalidade	Produto Comercial	Agentes ativos	Formulação Teor de s.a.	Dosagem	Época de aplicação
M4	Lixívia	Hipoclorito de sódio	10 - 15%	2 L/hl	3 aplicações: início de março e cadência de 1 mês
	Fruitcare	Peróxido de hidrogénio + ácido paracético + ácido acético	25% + 5% + 8%	1 L/hl	3 aplicações: início de março e cadência de 1 mês
	Fosfato monoamónio	Fosfato monoamónio	12% N; 62% P2O5	2 kg/hl	janeiro
	Ureia	Ureia (correção pH: ~5)	46% N	2 kg/hl	(> 90% folhas no chão)

As diferentes operações e aplicações dos produtos em cada modalidade foram realizadas pelo agricultor, conforme indicado pelo técnico responsável. Os restantes tratamentos fitossanitários, assim como as fertilizações e a regas foram realizados em toda a área, de acordo com a tomada de decisão do técnico e do agricultor.

Colheita de material vegetal

Com o objetivo de avaliar a incidência e a severidade de *S. vesicarium* nas modalidades ensaiadas foram recolhidos vários tipos de materiais vegetais, nomeadamente de lenha de poda e folhas do ano anterior (a partir de 2019), flores, frutos, folhas e infestantes, em diferentes estados fenológicos da cultura (Figura 2).

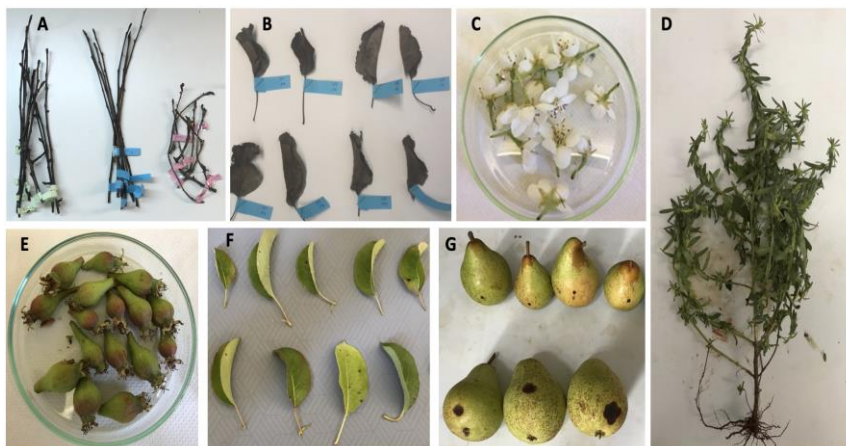


Figura 2 – Material vegetal colhido nos pomares nas diferentes modalidades: **A** - lenha de poda; **B** - folhas do ano anterior; **C** – flores (pomar 2, M2); **D** - infestantes com sintomas (pomar 2, M2); **E** – frutos com 12-14 mm de diâmetro (pomar 5, M4); **F** - folhas com sintomas (pomar 5, M2); **G** - frutos com sintomas (pomar 6, M3). Fotografia de A. Cabanas, 2019 e C. Francisco, 2020.

A colheita da lenha de poda, flores, frutos e folhas foi efetuada nas oito árvores marcadas por modalidade, de ambos os lados da copa, sempre que tal era possível. A recolha das folhas do ano anterior foi realizada em toda a área da modalidade de forma aleatória e a colheita das infestantes foi executada de forma a abranger o maior número de espécies diferentes e representativas do pomar. A calendarização das colheitas do material vegetal e o modo como foram executadas estão apresentadas no Quadro 5.

Quadro 4 – Material vegetal, tipo de colheita, calendarização e respetivo estado fenológico

Material Vegetal	Tipo de Colheita	Calendarização	Estado Fenológico	
			Escala Baggiolini	Escala BBCH
Lenha de poda	8 ramos de poda/modalidade (1 por árvore)	março	Repouso invernal A 00	
Folhas do ano anterior	20 folhas/modalidade	março	Repouso invernal A 00	
Flores	16 flores/modalidade, uma de cada lado da copa (duas por árvore)	abril	Plena floração F2 65	
Infestantes com sintomas	10 infestantes/modalidade, plantas inteiras da entrelinha	maio/junho	Desenvolvimento dos frutos J 72 - 77	
Frutos com 12-14 mm de diâmetro	16 frutos/modalidade, um de cada lado da copa (dois por árvore)	maio	Desenvolvimento dos frutos J 72	
Folhas com sintomas	16 folhas/modalidade, uma de cada lado da copa (duas por árvore)	julho	Desenvolvimento dos frutos J 74 - 77	
Frutos com sintomas	16 frutos/modalidade, um de cada lado da copa (dois por árvore)	agosto	Maturação dos frutos J 87 - 89	

A recolha da lenha de poda foi efetuada em todos os pomares, mas apenas na modalidade 1 (M1 – testemunha), enquanto a recolha de folhas do ano anterior só foi realizada na modalidade M1 nos pomares 2 e 3, em 2020. Neste ano. Na modalidade M3 do pomar 3 apenas foram colhidas as flores, pois o produto que deveria ter sido aplicado não foi

enviado à respetiva OP. No pomar 1, a colheita dos frutos com sintomas não foi efetuada, em 2020.

Procedimento laboratorial

Na lenha de poda (n=8) e de folhas do ano anterior (n=20) pesquisaram-se possíveis sinais da doença (pústulas negras) na epiderme, com o auxílio do microscópio estereoscópico. Na sua ausência, procedeu-se a uma raspagem generalizada do ramo ou folha com um bisturi. Foram feitas três preparações por ramo/folha. As preparações foram observadas no microscópio ótico com uma ampliação de 200x e 400x e identificadas as frutificações dos diferentes géneros *Stemphylium/Alternaria* com base nas características morfológicas. Quantificou-se a ocorrência e a frequência de esporos dos géneros em cada ramo ou folha e as frutificações dos fungos foram fotografadas.

O processamento do restante material vegetal (flores, frutos com 12-14 mm de diâmetro, folhas com sintomas, frutos com sintomas e infestantes) incluiu isolamentos microbiológicos em placa de Petri com gelose de batata dextrosada (PDA) suplementada com 250 ± 1 mg/L de cloranfenicol. Quanto às flores (n=16) e frutos com 12-14 mm de diâmetro (pequenos frutos) (n=16), material vegetal assintomático, o processamento laboratorial passou pelo seccionamento das flores e da parte apical dos pequenos frutos em quatro fragmentos iguais. Os quatro fragmentos de cada flor/fruto foram plaqueados.

Relativamente aos materiais vegetais com sintomas seguiu-se o seguinte procedimento: as infestantes de cada modalidade (n=10) foram separadas, identificadas e localizadas as manchas associadas a DMC; as folhas (n=16) foram separadas e localizadas as manchas associadas a DMC; os frutos à colheita (n=16) foram separados conforme as suas manchas fossem na polpa ou na fossa apical.

A partir das manchas nos diferentes órgãos foram retirados fragmentos da zona da bordadura, que foram seccionados e desinfetados superficialmente com hipoclorito de sódio a 1% durante cerca de 30 segundos, passados depois por água destilada esterilizada também durante cerca de 30 segundos e, retirado o excesso de água num disco de papel de filtro esterilizado. Os quatro fragmentos de cada infestante/folha/fruto foram colocados equidistantes na respetiva placa de Petri, previamente identificada com o tipo de material vegetal, a modalidade e pomar correspondente.

Seguiu-se um período de incubação durante 12 a 15 dias a 25 °C em condições de obscuridade. Posteriormente, procedeu-se à identificação dos fungos (espécie ou género) presentes nos isolamentos efetuados, com base nas características culturais das colónias, nomeadamente *S. vesicarium*, *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Botrytis* sp., *Trichoderma* sp. e *Epicoccum* sp.

Na lenha de poda e nas folhas do ano anterior foi avaliada a presença de estruturas de *Stemphylium* sp. e *Alternaria* sp. por pomar. Em cada pomar, foi calculada a incidência de *S. vesicarium* de cada órgão analisado por modalidade. Ao nível das infestantes foi calculada a incidência por espécie colhida. Para além da avaliação de *S. vesicarium*, foi igualmente avaliada a presença de outros microrganismos obtidos a partir dos isolamentos efetuados de flores, frutos com 12-14 mm de diâmetro, folhas com sintomas, frutos com sintomas à colheita por pomar. Por fim, nos frutos com sintomas à colheita foi analisada a localização e calculada a percentagem dos sintomas na polpa e na fossa apical por pomar e por modalidade.

Os resultados da incidência *S. vesicarium* em cada órgão por modalidade em cada pomar foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), com base no teste de Tukey, com nível de significância de 0,05, recorrendo ao programa STATISTICA 10.0.

Resultados e discussão

Presença de *Stemphylium* sp. e *Alternaria* sp. na lenha de poda e nas folhas do ano anterior

A avaliação de *S. vesicarium* na lenha de poda e nas folhas do ano anterior realizou-se apenas em 2020. A identificação dos esporos da espécie com base apenas nas características morfológicas revelou-se difícil, pois nas lâminas preparadas observou-se esporos que poderiam tanto ser de *Stemphylium* como de *Alternaria* (Figura 3). Assim sendo, optou-se por registar em conjunto a presença de esporos de ambos os géneros.

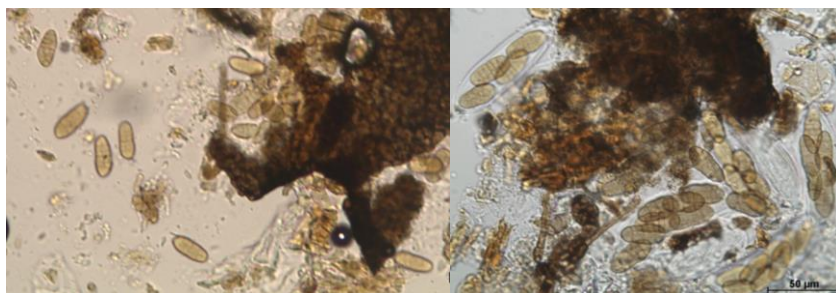


Figura 3 - Pseudotecas e ascos com ascósporos no interior de *Stemphylium* sp. observados na amostra folhas do ano anterior (ampliação 400×, utilizando o programa “Leica Suite v. 3.16” e a lente “Leica DFC295” (Leica, Wetzlar, Alemanha). Fotografia de C. Francisco, 2020.

As observações microscópicas e a identificação de esporos na lenha de poda e nas folhas do ano anterior permitiram verificar que todos os ramos e folhas (Quadro 6) de todos os pomares continham esporos e que, na maioria das lâminas examinadas, era possível observar as estruturas dos fungos.

Os pomares 5 e 2 apresentaram a frequência mais baixa, com 75% e 79%, respetivamente e os restantes pomares exibiram uma frequência média igual ou superior a 88%. Este resultado confirma a presença de

Stemphylium sp./*Alternaria* sp. na lenha de poda e nas folhas do ano anterior.

Quadro 6 - Ocorrência e frequência médias de esporos *Stemphylium* sp./*Alternaria* sp. na amostra lenha de poda (n=8) e folhas do ano anterior (n=20)

Material vegetal		Pomar 1	Pomar 2	Pomar 3	Pomar 4	Pomar 5	Pomar 6
Lenha de poda	Ocorrência	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
	Frequência	92	79	91	96	75	88
Folhas do ano anterior	Ocorrência	_*	Sim	Sim	_*	_*	_*
	Frequência	_*	92	100	_*	_*	_*

* - amostra em falta

Resultados da incidência de *Stemphylium vesicarium* em cada pomar nas diferentes épocas de colheita de material vegetal

Apresentam-se os resultados da incidência de *S. vesicarium* em flores, frutos com 12-14 mm de diâmetro, folhas com sintomas e frutos com sintomas à colheita por modalidade para cada pomar.

Embora as modalidades M1 (testemunha) e M2 (remoção do material vegetal do solo) tenham sido iguais em todos os pomares, as modalidades M3 (aplicação de agentes de biocontrolo ao solo) e M4 (aplicação de biocidas ao solo) apresentaram diferenças, tendo sido testados diferentes produtos na mesma modalidade em função do pomar em questão. Assim, é expectável que os resultados das modalidades M3 e M4 sejam diferentes entre pomares e que a sua comparação, bem como a comparação entre pomares não seja possível.

a) Incidência de *Stemphylium vesicarium* nas flores por pomar

A incidência de *S. vesicarium* obtida através dos isolamentos efetuados a partir das flores permitiu caracterizar o estado inicial de infeção em cada

pomar nos três anos de ensaio. Verificou-se não existirem diferenças significativas entre modalidades em cada um dos pomares (Figura 4).

As incidências mais elevadas ocorreram no primeiro ano de projeto (2018) destacando-se, no pomar 2, a modalidade 3 (Micoplas + Vit-Org) com um valor de 88%. Em 2019 e 2020, destaca-se os pomares 1 e 3 em que as incidências foram muito reduzidas ou nulas (Figura 4).

Nalgumas modalidades, a incidência de *S. vesicarium* nas flores foi superior ao valor registado na modalidade testemunha (prática do agricultor em cada pomar), o que revela que estas não tiveram efeito positivo na redução da doença.

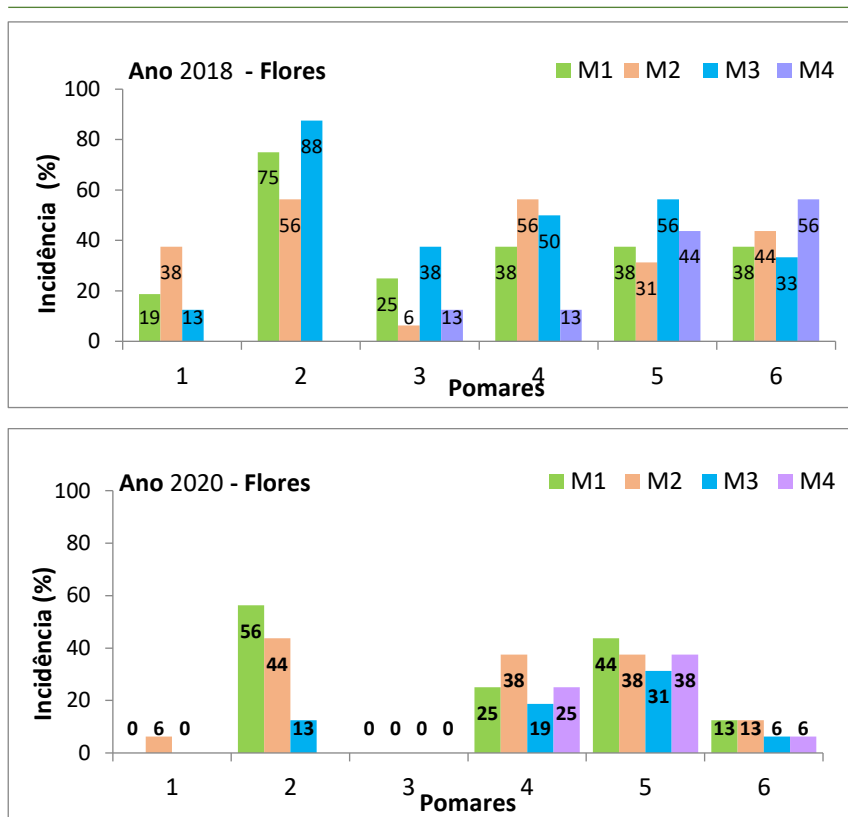


Figura 4 - Incidência de *Stemphylium vesicarium* na amostra flores por modalidade (n=16) em cada pomar nos 3 anos de ensaio: modalidade M1: testemunha; modalidade M2: remoção do material vegetal do solo; modalidade M3: M1 + aplicação de agentes de biocontrolo ao solo – (Micoplas + Vit-Org; pomares 1, 2 e 4) e Tigre + Condor Shield + Myr N (pomares 5 e 6); modalidade M4: M1 + aplicação de biocidas ao solo - Fruitcare (pomar 3), fosfato monoamónio + ureia (pomar 4) e lixívia (pomares 5 e 6). b) Incidência de *Stemphylium vesicarium* nos frutos pequenos por pomar

Nos frutos pequenos com 12-14 mm de diâmetro, os sintomas causados por *S. vesicarium* são difíceis de detetar, sendo somente visíveis mais tarde, quando o fruto já se encontra mais desenvolvido.

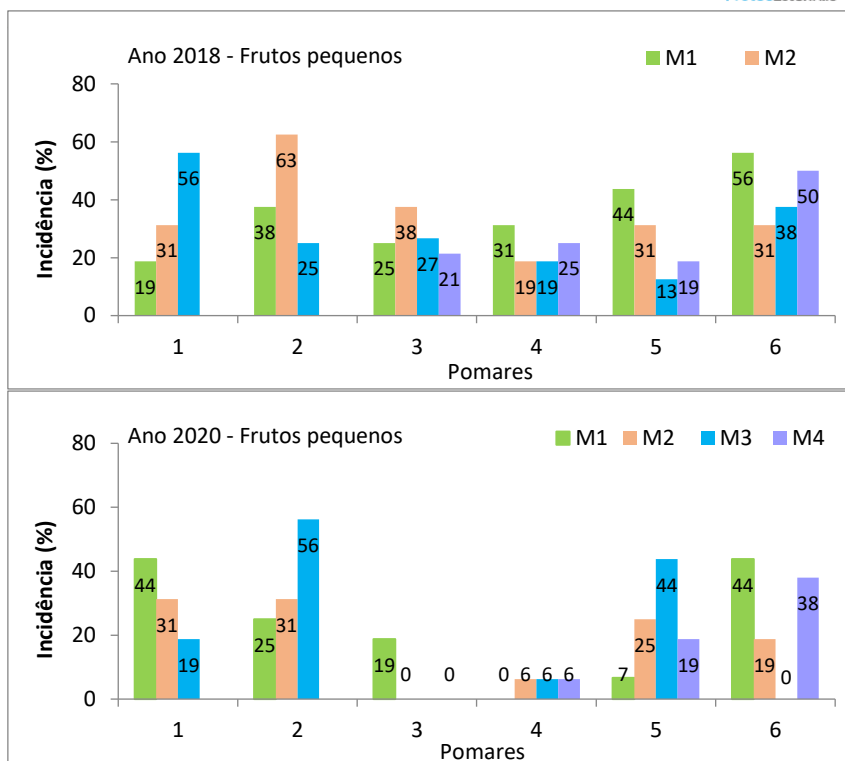


Figura 4 - Incidência de *Stemphylium vesicarium* na amostra frutos pequenos (12-14 mm de diâmetro) por modalidade (n=16) em cada pomar (3 anos de ensaio). **M1**: testemunha; **M2**: remoção do material vegetal do solo; **M3**: M1 + aplicação de agentes de biocontrole ao solo – (Micoplas + Vit-Org; pomares 1, 2 e 4) e Tigre + Condor Shield + Myr N (pomares 5 e 6); **M4**: M1 + aplicação de biocidas ao solo - Fruitcare (pomar 3), fosfato monoamônio + ureia (pomar 4) e lixívia (pomares 5 e 6). Nos dois primeiros anos do projeto (2018 e 2019) não se detetaram diferenças significativas na incidência de *S. vesicarium* entre modalidades nos seis pomares em ensaio (Figura 5).

Em 2018, no pomar 2 a modalidade M2 (remoção do material vegetal do solo) foi a que revelou maior valor incidência de *S. vesicarium* (63%), enquanto no pomar 5 a modalidade M3 (Tigre + Condor Shield + Myr N) foi a que apresentou menor valor de incidência (13%), correspondendo

por isso ao tratamento mais eficaz na redução de infeções de *S. vesicarium* nos frutos pequenos neste pomar.

Em 2019, os resultados de maior incidência de *S. vesicarium* ocorreram no pomar 1 nas modalidades M1 (testemunha) e M2 (remoção do material vegetal do solo). No pomar 5, o valor de incidência na modalidade M3 (Tigre + Condor Shield + Myr N) foi nulo.

A redução das infeções na modalidade M3 (aplicação de Condor Shield + Tigre + Myr N ao solo) pode ser consequência da ação antagonista do *Trichoderma koningii* relativamente a *S. vesicarium* (Llorente e Montesinos, 2006; Rossi e Patteri, 2009; Mishra e Singh, 2017; Zapata-Sarmiento et al., 2020).

Em 2020, no pomar 6 registaram-se diferenças significativas entre modalidades. A modalidade M1 apresentou maior incidência (44%) embora não diferisse das modalidades M2 e M4. Na modalidade M3 (Condor Shield + Tigre + Myr N), a incidência de *S. vesicarium* foi nula demonstrando ser aquela em que o tratamento foi o mais eficaz.

c) Incidência de *Stemphylium vesicarium* nas folhas em cada pomar

Apesar das flores e dos pequenos frutos poderem já estar infetados (infeções latentes), os sintomas nas folhas são um primeiro alerta de DMC nos pomares (Isidoro e Azevedo, 2005).

Em 2018, os resultados de incidência de *S. vesicarium* em folhas com sintomas permitiram detetar diferenças significativas entre modalidades no pomar 4 e no pomar 5 (Figura 6).

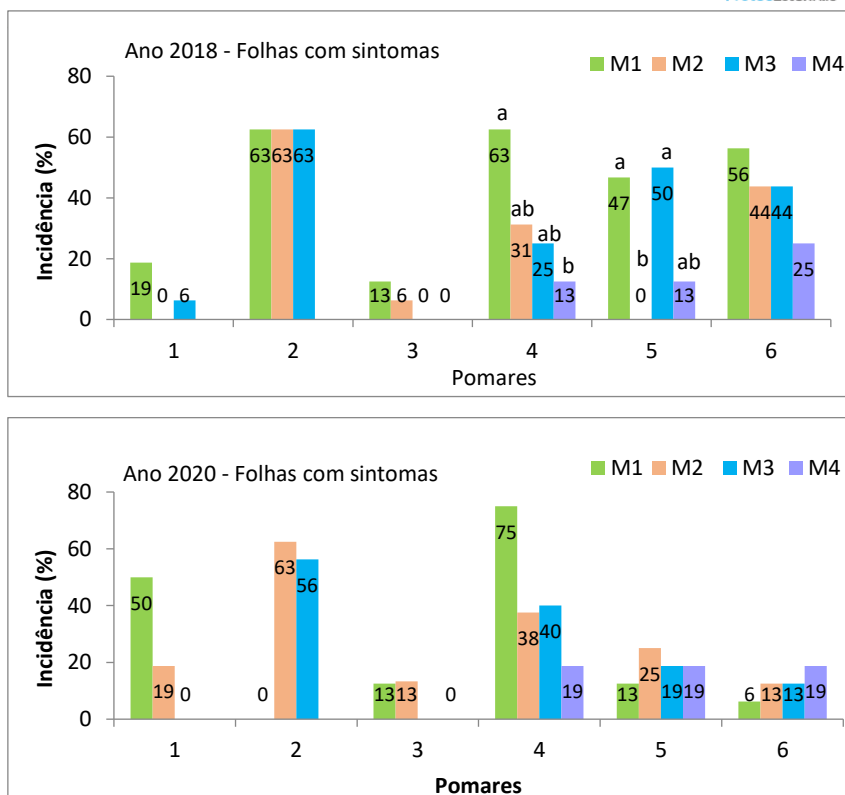


Figura 6 - Incidência de *Stemphylium vesicarium* na amostra de folhas por modalidade (n=16) em cada pomar (3 anos de ensaio). **M1**: testemunha; **M2**: remoção do material vegetal do solo; **M3**: aplicação de agentes de biocontrole ao solo - Micoplas + Vit-Org (pomares 1, 2 e 4) e Tigre + Condor Shield + Myr N (pomares 5 e 6); **M4**: aplicação de biocidas ao solo – Fruitcare (pomar 3), fosfato monoamónio + ureia (pomar 4) e lixívia (pomares 5 e 6).

No pomar 4, a modalidade M1 (testemunha) foi a que teve maior incidência (63%) embora não tivesse havido diferenças significativas entre esta e as modalidades M2 (remoção do material vegetal) e M3 (Micoplas + Vit-Org).

A modalidade M4 (aplicação de fosfato monoamónio + ureia ao solo) foi a que apresentou menor valor de incidência (13%), sendo o

tratamento mais eficaz na redução de infeções de *S. vesicarium* nas folhas, contudo, não se diferenciou das modalidades M2 e M3. No pomar 5, a modalidade M3 (Tigre + Condor Shield + Myr N) foi a que teve maior incidência (50%) apesar de não diferir significativamente das modalidades M1 e M4. A modalidade M2 (remoção do material vegetal do solo) apresentou um valor de incidência nulo sendo, por isso, o tratamento mais eficaz na redução de infeções de *S. vesicarium* nas folhas (Figura 6).

Em 2019, nos resultados de incidência de *S. vesicarium* mostraram diferenças significativas entre modalidades apenas no pomar 6. No pomar 6, a modalidade M1 (testemunha) foi a que teve maior incidência (56%), apesar de não ter havido diferenças significativas entre esta e a modalidade M4. A modalidade M2 (remoção do material vegetal do solo) e M3 (Tigre + Condor Shield + Myr N) apresentaram valores de incidência nulos sendo, por isso, os tratamentos mais eficazes na redução de infeções de *S. vesicarium* nas folhas. Nos restantes pomares, as modalidades em ensaio não diferiram entre si (Figura 5).

Em 2020, os resultados de incidência de *S. vesicarium* em folhas com sintomas permitiram detetar diferenças significativas entre modalidades apenas no pomar 4. No pomar 4, a modalidade M1 (testemunha) foi a que surgiu com maior incidência (75%) apesar de não diferir significativamente das modalidades M2 (remoção do material vegetal do solo) e M3 (Micoplas + Vit-Org). A modalidade M4 (aplicação de fosfato monoamónio + ureia ao solo) foi a que apresentou menor valor de incidência (19%), contudo, não se diferenciou das modalidades M2 e M3. Nos restantes pomares, não se registaram diferenças significativas entre modalidades (Figura 6).

A aplicação de fosfato monoamónio + ureia pretende degradar mais rapidamente as folhas caídas no solo. Isidoro e Azevedo (2005) constataram que a aplicação de ureia é eficaz na biodegradação das folhas caídas no solo e na redução do número de pseudotecas nas mesmas, enquanto que Llorente et al. (2006) relatam que este meio de

luta cultural se tem revelado pouco consistente na redução da quantidade de ascósporos e conídios.

d) Incidência de *Stemphylium vesicarium* nos frutos à colheita por pomar

Quando os frutos em desenvolvimento apresentam sintomas de DMC, o impacto na produção já pode ser considerável e o rendimento do agricultor pode estar comprometido (Llorente e Montesinos, 2006; Köhl et al., 2013).

Analisando os resultados de incidência de *S. vesicarium* nas amostras de frutos com sintomas à colheita, observou-se que, em 2018, existiram diferenças significativas entre modalidades no pomar 4. A modalidade M1 (testemunha) foi aquela em que se registaram os valores mais baixos de incidência de *S. vesicarium* diferindo significativamente da modalidade M4 (fosfato monoamónio + ureia). Os resultados apurados para as diferentes modalidades nos restantes pomares (1, 2, 3, 5 e 6) apresentaram grande variação não diferindo significativamente entre si (Figura 7).

Em 2019, os resultados apurados no pomar 3 e no pomar 5 permitiram estabelecer diferenças significativas entre as modalidades sendo a modalidade M1 (testemunha) aquela em que se registaram os valores mais elevados de *S. vesicarium*. No pomar 3, a modalidade M1 diferiu significativamente da modalidade M4 (aplicação de Fruitcare) enquanto no pomar 5 diferiu significativamente da modalidade M2 (remoção do material vegetal do solo). Nos restantes pomares, as modalidades em ensaio não diferiram entre si (Figura 7).

Em 2020, observaram-se diferenças significativas entre modalidades apenas no pomar 6. A modalidade M1 foi a que revelou maior incidência (100%), apesar de não ter havido diferenças significativas entre esta e as modalidades M2 e M3. A modalidade M4 (aplicação de lixívia ao solo) foi a mais eficaz na redução da incidência (47%) de *S. vesicarium* nos

frutos com sintomas à colheita, contudo, estatisticamente não diferiu das modalidades M2 e M3, que apresentaram resultados intermédios em relação às restantes modalidades (Figura 7).

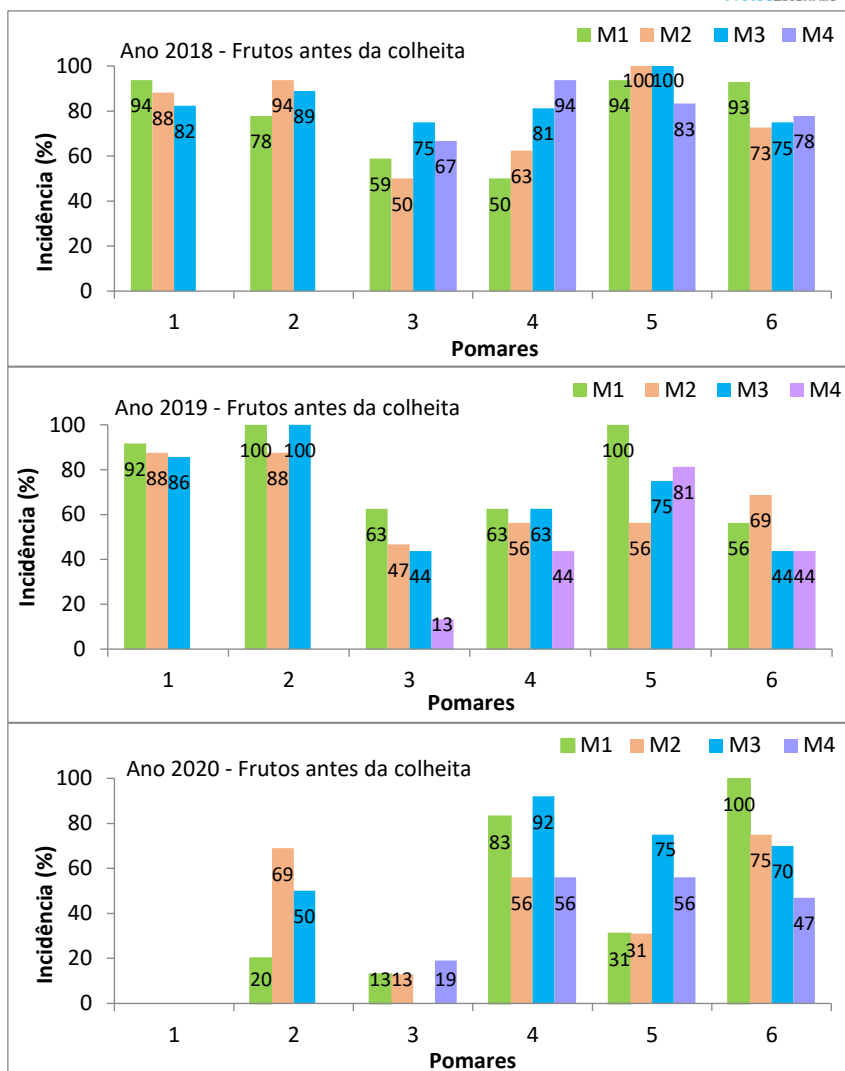


Figura 6 - Incidência de *Stemphylium vesicarium* na amostra frutos com sintomas à colheita por modalidade (n=16) em cada pomar (3 anos de ensaio). **M1**: testemunha; **M2**: remoção do material vegetal do solo; **M3**: M1 + aplicação de agentes de biocontrolo ao solo - Micoplas + Vit-Org (pomares 1, 2 e 4) e Tigre + Condor Shield + Myr N (pomares 5 e 6); **M4**: M1 + aplicação de biocidas ao solo – Fruitcare (pomar 3), fosfato monoamónio + ureia (pomar 4) e lixívia (pomares 5 e 6)..

O hipoclorito de sódio atua como um desinfetante superficial, destruindo os fungos e bactérias que estão presentes sobre os detritos da cultura, quer sejam benéficos ou patogénicos. O resultado desta modalidade nos frutos com sintomas à colheita não tem uma explicação evidente pois a lixívia atua apenas no momento da aplicação e sobre a superfície pulverizada. Além disso, se as estruturas do fungo não forem diretamente atingidas pela pulverização do produto mantêm-se agressivas para a cultura. Acresce ainda que, as pseudotecas de *S. vesicarium* são estruturas que se diferenciam sob epiderme e, por isso, dificilmente são afetadas por um biocida de ação superficial. Relativamente aos pomares 4 e 5, a modalidade M3 (aplicação de Micoplas+Vit-Org e aplicação de Condor Shield+ Tigre + Myr N) foi aquela em que se registaram os valores de incidência mais elevados.

Comparando os resultados do ano 2020 com os de 2018 e 2019 constatou-se que apenas existiram diferenças significativas entre modalidades de cada pomar nas amostras folhas e frutos com sintomas e que essas diferenças ocorreram nos pomares 4 (folhas e frutos com sintomas) e 5 (folhas com sintomas) no ano 2018 e, os pomares 3, 5 (frutos com sintomas) e 6 (folhas com sintomas) em 2019. A modalidade M1 (testemunha) apresentou os piores resultados (maior incidência de *S. vesicarium*) e, nas restantes, houve pouca consistência.

Tal ocorrência, pensa-se, poder decorrer das condições meteorológicas e das características que estão associadas a cada pomar (localização, o histórico da DMC, idade do pomar e agressividade dos isolados).

Apesar de todos os pomares se localizarem na região Oeste, cujo clima é muito favorável ao desenvolvimento da DMC, alguns distam consideravelmente entre si (Figura 1), a análise dos dados meteorológicos de 2018, 2019 e 2020 permitiu verificar que estiveram sujeitos a condições meteorológicas distintas o que, consequentemente, influenciou o desenvolvimento de *S. vesicarium*.

O histórico do pomar em relação à DMC e a idade são factores igualmente importantes e que variaram bastante de pomar para pomar. Um pomar com histórico elevado de DMC está associado à presença de mais inóculo potencial que, ao longo de vários anos de produção, se vai acumulando, acarretando consecutivamente mais contaminações (Comporta et al., 2017). Tal foi o sucedido com o pomar 2 que tem um histórico de elevada incidência de DMC e é um dos pomares com mais idade. Pelo contrário, um pomar que apresente um histórico de baixa incidência de DMC como é, por exemplo, o pomar 3 pode apresentar valores baixos de incidência de *S. vesicarium*. Assim sendo, a hipótese de que o histórico do pomar atenuou/anulou o efeito das modalidades tornando-as indiferenciáveis pode ajudar a explicar os resultados obtidos.

Este mesmo aspeto é corroborado pela análise dos cadernos de campo dos diferentes pomares e das informações reunidas em inquéritos realizados durante o projeto, que se debruçaram sobre as características e as práticas culturais realizadas em cada pomar ao longo de vários anos. Após a análise dos inquéritos, procurou identificar-se, recorrendo a ferramentas estatísticas, o contributo que cada aspeto da caracterização do pomar e cada prática cultural teria para a gravidade da DMC em termos de produção colhida (t/ha) e percentagem de frutos atacados à colheita. Fazendo a análise dos fatores do pomar (ex: localização, exposição, porta-enxerto, compasso, características do solo) e, separadamente, das práticas culturais (ex: rega, fertilização de fundo, cobertura ou foliar, tratamentos fitossanitários, controlo de infestantes), não se conseguiu identificar ou hierarquizar fatores ou práticas por si só conducentes a maior gravidade da DMC.

O estudo da agressividade dos isolados de *S. vesicarium* de cada pomar em ensaio não foi realizado neste projeto contudo, estudos realizados anteriormente detetaram diferenças de agressividade entre isolados do mesmo pomar (Reis et al., 2018). Esta característica dos isolados pode

igualmente influenciar a incidência de *S. vesicarium* em cada pomar, independentemente do seu histórico ou idade.

e) Incidência de *S. vesicarium* nas infestantes presentes nos pomares

As infestantes presentes nos pomares de pereira podem ser contaminadas por *S. vesicarium*, tornando-se assim um repositório do inóculo no pomar (Köhl et al., 2013). O registo do número de exemplares e espécies colhidas, do número espécies colonizadas por *S. vesicarium* e das espécies mais frequentes nos pomares foi um dos objetivos deste projeto (Quadro 6).

Quadro 6 - Número de exemplares e espécies colhidas, número espécies colonizadas por *S. vesicarium* e espécies mais frequentes

Parâmetros analisados	2018	2019	2020
Nº exemplares	199	155	180
Nº de espécies diferentes	51	48	44
Nº de espécies colonizadas por <i>S. vesicarium</i>	13	13	19
Espécies mais frequentes	<i>Lolium multiflorum</i> <i>Convolvulus arvensis</i> <i>Sonchus oleraceus</i> <i>Calendula arvensis</i> <i>Senecio vulgaris</i> <i>Lavatera cretica</i>	<i>Convolvulus arvensis</i> <i>Rumex crispus</i> <i>Epilobium tetragonum</i> <i>Calendula arvensis</i> <i>Senecio vulgaris</i> <i>Lavatera cretica</i>	<i>Convolvulus arvensis</i> <i>Lolium multiflorum</i> <i>Lolium perenne</i> <i>Rumex crispus</i> <i>Senecio vulgaris</i> <i>Dactylis glomerata</i>

Apresentam-se os resultados da identificação das espécies por pomar e incidência de *S. vesicarium* por espécie, com o intuito de identificar quais as infestantes mais abundantes nos pomares e quais as mais fortemente colonizadas por *S. vesicarium* (Figura 7).

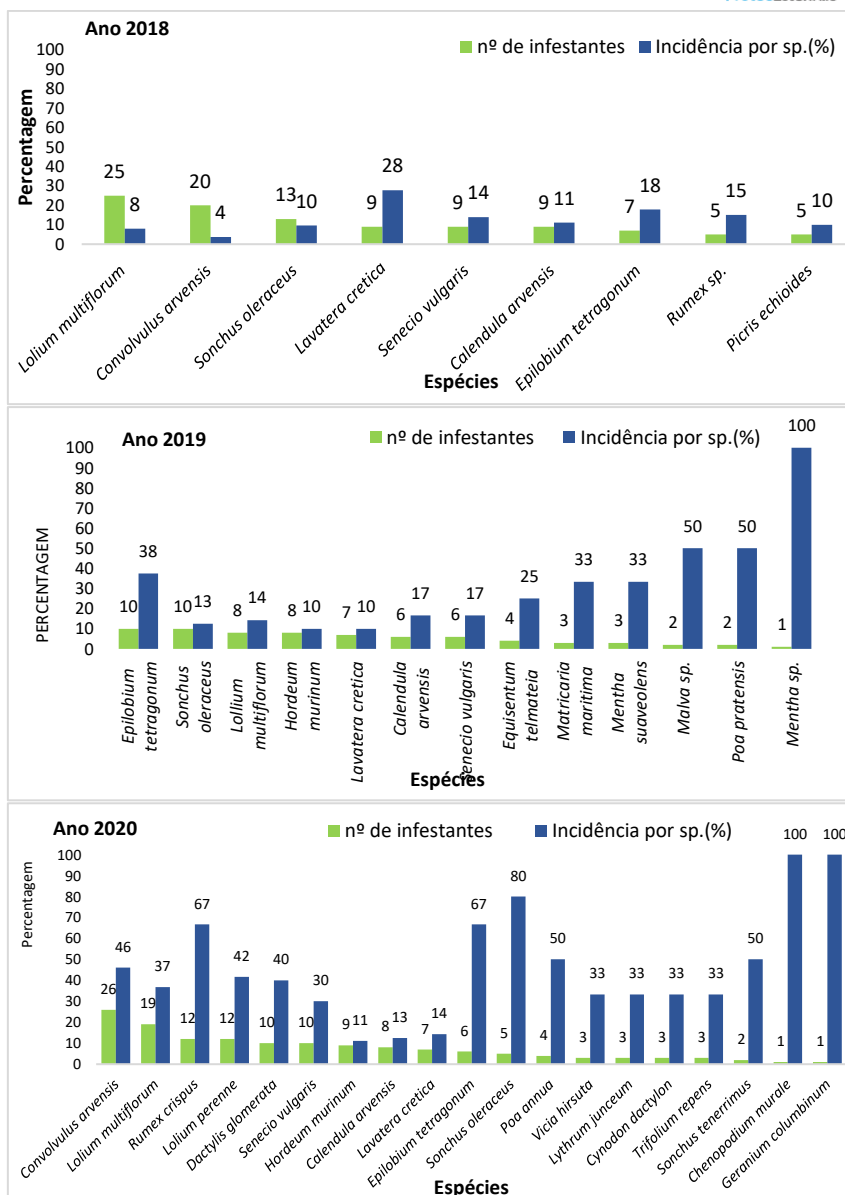


Figura 7 - Número de exemplares de cada espécie de infestante com sintomas da doença das manchas castanhas e respetiva incidência de *S. vesicarium*.

Os resultados obtidos nos três anos do projeto permitiram verificar que as espécies *Senecio vulgaris* L., *Convolvulus arvensis* L., *Hordeum murinum* L., *Lolium multiflorum* Lam. e *Rumex crispus* L. surgiram sempre como as mais frequentes nos pomares. *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, *Calendula arvensis* L., *Senecio vulgaris* L., *Picris echioides* L., *Matricaria maritima* L., *Convolvulus arvensis* L., *Equisetum telmateia* Ehrh., *Mentha* sp., *Lavatera cretica* L., *Malva* sp., *Epilobium tetragonum* L., *Poa trivialis* L., *Sonchus tenerrimus* L., *Phalaris coerulescens* Desf., *Lolium multiflorum* Lam., *Hordeum murinum* L., *Poa pratensis* L., *Chenopodium album* L., *Chenopodium murale* L., *Medicago polymorpha* L., *Trifolium repens* L., *Vicia hirsuta* (L.) Gray, *Geranium columbinum* L., *Lythrum junceum* Banks et Sol., *Dactylis glomerata* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Lolium perenne* L., *Poa annua* L. e *Rumex crispus* L. comprovaram-se ser hospedeiras de *S. vesicarium*. A partir das espécies *Beta vulgaris* L., *Echium plantagineum* L. e *Rapistrum rugosum* (L.) All. não se isolou *S. vesicarium* (Rego et al., 2019).

Sendo a flora espontânea um repositório de *S. vesicarium* (Rossi et al., 2005; Köhl et al., 2009), e, actualmente, a gestão do solo nos pomares maioritariamente assente em enrelvamento espontâneo na entrelinha e aplicação de herbicida na linha, será futuramente necessário repensá-la passando, por exemplo, por um enrelvamento na entrelinha com as espécies que não sejam hospedeiras do fungo (Rego et al., 2019).

f) Localização dos sintomas nos frutos à colheita

Os sintomas de DMC associados a *S. vesicarium* nos frutos podem localizar-se na epiderme lateralmente (infecção lateral ou na polpa) ou na fossa apical do fruto, com ou sem orla vermelha na periferia. Frequentemente, a mancha na fossa apical dos frutos à colheita está associada a uma infecção que ocorreu nas flores ou nas sépalas do fruto já em desenvolvimento.

Neste projeto avaliou-se a localização dos sintomas nos frutos por pomar e por modalidade ao longo dos 3 anos. Neste trabalho optou-se

por apresentar em pormenor apenas os resultados relativos ao ano de 2020 por pomar. Em relação a 2018 e 2019, apenas se apresentam os resultados relativos ao ano e ao pomar.

Comparando os resultados obtidos em 2018, 2019 e 2020 verificou-se que ao nível da localização dos sintomas por pomar existiram algumas diferenças. No primeiro e terceiro ano, os sintomas surgiram maioritariamente na fossa apical enquanto no segundo ano, à exceção do pomar 6, todos os pomares apresentaram sintomas maioritariamente na polpa (Figura 8).



Figura 8 - Localização dos sintomas nos frutos à colheita ao longo dos 3 anos de ensaio.

Em 2020, a percentagem de sintomas na polpa e na fossa apical dos frutos nos pomares 3 e 4 foi 88% e 95%, respetivamente. Nos pomares 2 e 5, a maioria dos sintomas localizou-se na fossa apical dos frutos, 67% e 64%, respetivamente. Em relação ao pomar 6, os sintomas dividiram-se pelas duas localizações quase equitativamente: 54% para polpa e 46% para fossa apical. Não se apresentam os valores referentes ao

pomar 1 porque a amostra dos frutos com sintomas não foi colhida (Figura 9).

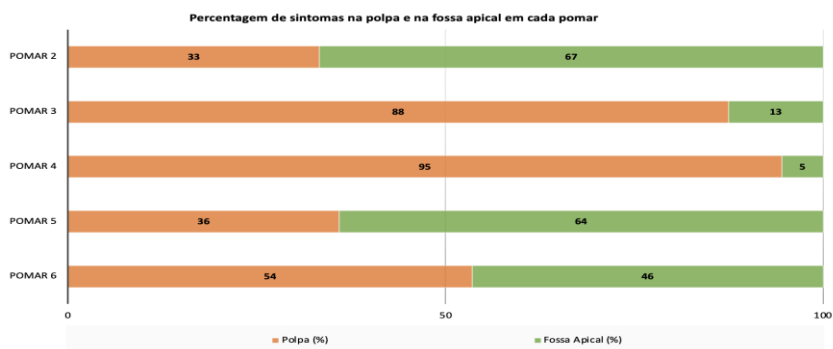


Figura 9 – Percentagem de sintomas de doença das manchas castanhas na polpa ou na fossa apical dos frutos nos frutos à colheita em cada pomar.

Estes resultados são consequência da baixa incidência de *S. vesicarium* nas flores e nos frutos pequenos nos pomares 3 e 4, da elevada incidência de *S. vesicarium* ao longo de todas as amostras no pomar 2 e da elevada incidência de *S. vesicarium* nos frutos pequenos e nos frutos à colheita no pomar 5.

Em suma, uma baixa incidência de *S. vesicarium* ao longo das amostras de flores e pequenos frutos e, um histórico baixo de DMC no pomar, conduziu a uma menor frequência de frutos à colheita com sintomas na fossa apical.

g) Identificação dos géneros de fungos obtidos a partir dos isolamentos realizados a partir dos diferentes órgãos analisados

A identificação de outros géneros de fungos para além de *S. vesicarium* iniciou-se por se ter verificado que a partir dos isolamentos das manchas típicas nas folhas e nos frutos à colheita não se desenvolvia apenas colónias de *S. vesicarium* e que, por vezes, nem era essa a espécie dominante. A partir do terceiro ano do projeto procedeu-se à identificação e quantificação relativa de outros géneros de fungos

isolados (*Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e *Epicoccum* sp.) nas diferentes amostras de cada pomar.

Em 2020, nos isolamentos efetuados a partir das amostras de **flores**, os fungos *S. vesicarium* e *Alternaria* sp. surgiram com expressão reduzida em todos os pomares, com uma percentagem máxima de 18% no pomar 2 (Figura 10).

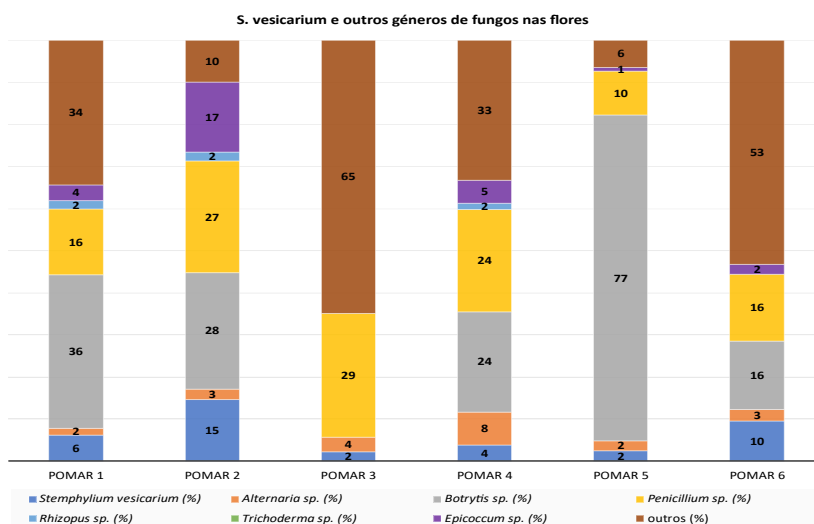


Figura 10 - Géneros de fungos existentes obtidos a partir dos isolamentos de flores.

Nestas amostras destacaram-se *Penicillium* sp. e *Botrytis* sp., como dominantes em praticamente todos os pomares. Este último apenas não se desenvolveu nos isolamentos correspondentes ao pomar 3. Contudo, mostrou grande expressão no pomar 5, representando 77%. Nos pomares 3 e 6 desenvolveram-se maioritariamente outros microrganismos, leveduras e bactérias não identificados, grupo designado por “outros” (Figura 10).

Relativamente à identificação dos géneros de fungos presentes nos isolamentos efetuados a partir das amostras de **frutos pequenos**

verificou-se que *Penicillium* sp. e *Alternaria* sp foram dominantes em praticamente todos os pomares. No pomar 3 destacou-se *Penicillium* sp. com 91% e no pomar 2, *Alternaria* que representou 43%. *Stemphylium vesicarium* surgiu em percentagem baixa, representando no máximo 12% dos fungos isolados no pomar 1. Observou-se ainda que, *Botrytis* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e *Epicoccum* sp. não se desenvolveram ou tiveram uma expressão muito baixa nos isolamentos dos pequenos frutos em todos os pomares. Refere-se que no pomar 1 desenvolveram-se maioritariamente outros microrganismos, leveduras e bactérias não identificados “outros” (Figura 11).

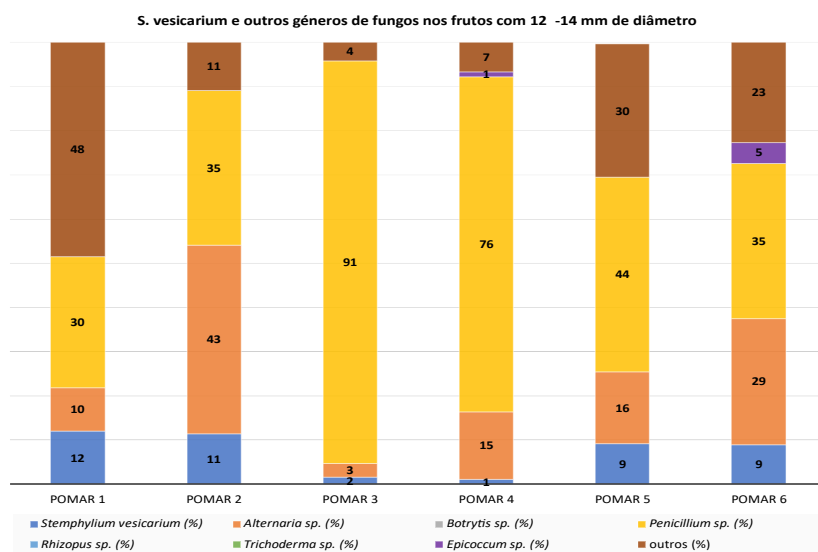


Figura 11 - Géneros de fungos obtidos a partir dos isolamentos de frutos pequenos.

A partir das amostras de **folhas com sintomas** apurou-se que *Alternaria* sp. foi dominante em todos os pomares, tendo a sua máxima expressão no pomar 3 (80%). *Stemphylium vesicarium* apresenta maior expressão nos pomares 1, 2, 3 e 4, no entanto, esta manteve-se muito reduzida relativamente ao expectável. Em conjunto, *Alternaria* sp. e *S. vesicarium*

explicaram a quase totalidade dos fungos presentes nos isolamentos das folhas, excetuando o pomar 1 e 6 nos quais a maioria pertenceu ao grupo designado por “outros”.

Verificou-se ainda que *Botrytis* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e *Epicoccum* sp. não se desenvolveram ou tiveram uma expressão muito reduzida nos isolamentos realizados a partir das folhas em todos os pomares (Figura 12).

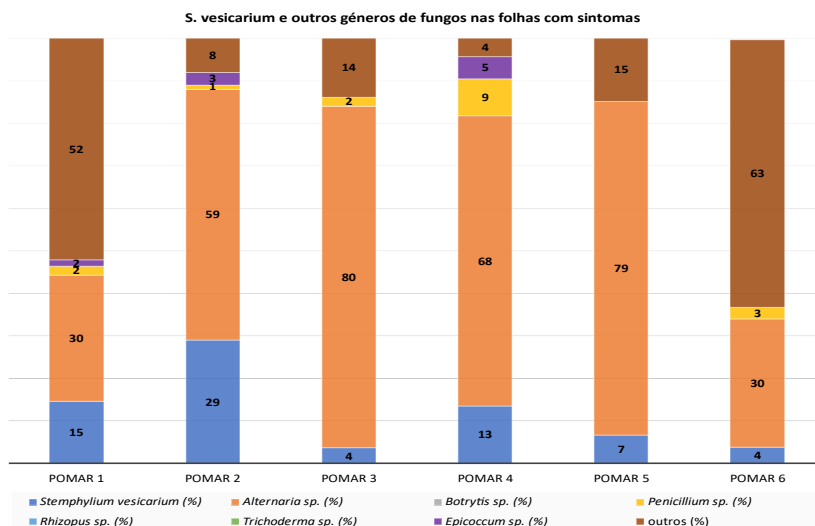


Figura 12 - Géneros de fungos existentes obtidos a partir dos isolamentos de folhas com sintomas.

Em relação à identificação dos géneros de fungos presentes na amostra **frutos com sintomas à colheita**, *Alternaria* sp. e *S. vesicarium* foram os dominantes em todos os pomares, exceto no pomar 3 em que o *S. vesicarium* explicou apenas 6% dos fungos isolados a partir de manchas nos frutos associadas à doença das manchas castanhas. *Alternaria* sp. superiorizou-se ao *S. vesicarium* nos pomares 2 (37%), 3 (69%) e 5 (31%) e *S. vesicarium* foi o fungo dominante nos pomares 4 (45%) e 6 (61%).

Verificou-se ainda que *Botrytis* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e *Epicoccum* sp. não se desenvolveram ou tiveram uma expressão muito baixa nos isolamentos dos frutos com sintomas à colheita em todos os pomares (Figura 13).

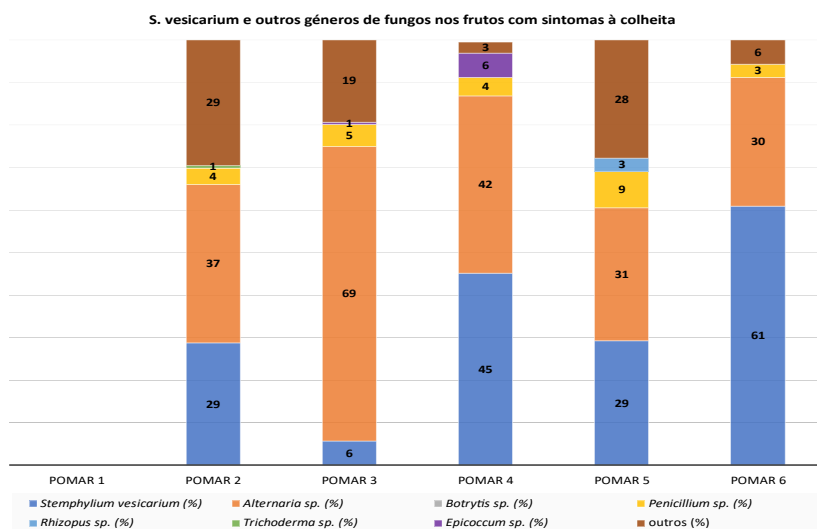


Figura 13 - Géneros de fungos obtidos a partir dos isolamentos de frutos com sintomas à colheita.

Os resultados obtidos a partir dos isolamentos das flores e em parte nos pequenos frutos podem estar relacionados com a elevada precipitação e humidade relativa que se fizeram sentir na época de floração em 2020 e, com a demora no transporte desde as organizações de produtores até ao laboratório, que decorreu do período de pandemia.

A percentagem mais elevada de *S. vesicarium* nos frutos com sintomas à colheita pode resultar de condições meteorológicas favoráveis ao desenvolvimento do fungo, da maior quantidade de inóculo presente nos pomares no final da campanha e, dos frutos em plena maturação

serem mais suscetíveis à contaminação pelo patógeno (Sousa et al., 2004). Apesar disso, *Alternaria* sp. sobressaiu nos resultados, o que eventualmente pode também ter estado relacionado com o facto de, na campanha de 2020, a incidência da DMC ter sido baixa na generalidade dos pomares, comparando com anos anteriores. Os géneros *Rhizopus*, *Trichoderma* e *Epicoccum* não se desenvolveram ou manifestaram-se em baixas percentagens nas diferentes amostras.

Em algumas amostras/pomares, os organismos designados por “outros microrganismos” (fungos, bactérias, leveduras, entre outros) tiveram uma expressão considerável, desconhecendo-se ainda o seu envolvimento na expressão de sintomas.

Estes resultados são suscetíveis a diversas alterações conforme as condições meteorológicas e a incidência e severidade da doença das manchas castanhas na generalidade dos pomares verificadas em cada campanha de produção.

Em suma, a etiologia da doença poderá ser complexa e estar eventualmente associada a um conjunto de espécies (*S. vesicarium* e *Alternaria* sp.). Será necessário realizar ensaios de patogenicidade com as espécies separadas e em conjunto para tentar esclarecer as dúvidas associadas à doença.

Principais Conclusões destas linhas de trabalho

Avaliação da presença de *S. vesicarium* nos detritos da cultura deixados no solo dos pomares, nomeadamente a lenha de poda e as folhas do ano anterior: concluiu-se que efetivamente o fungo tem a capacidade de os colonizar (fase saprófita), o que assegura a permanência no pomar de um ano para outro. Verificou-se que nas folhas caídas no solo existe um número elevado de esporos, constituindo uma fonte de inóculo potencial muito importante no pomar.

Resultados da incidência da doença das manchas castanhas ao nível das modalidades: concluiu-se que o fator pomar (histórico da doença e idade / pomar) e as condições meteorológicas revelaram uma grande

influência nos resultados. Pelo contrário, as modalidades em cada pomar apresentaram resultados muito variáveis entre as amostras recolhidas, não havendo consistência entre os mesmos em todos os anos do projeto ProtecEstenfilio. Há a salientar algumas limitações do ensaio que influenciaram os resultados e a sua comparação, nomeadamente a gestão diferenciada de cada pomar e o facto de na mesma modalidade terem sido testados produtos diferentes entre pomares.

Colonização de infestantes por *S. vesicarium*: as espécies *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, *Calendula arvensis* L., *Senecio vulgaris* L., *Picris echinoides* L., *Matricaria maritima* L., *Convolvulus arvensis* L., *Equisetum telmateia* Ehrh., *Mentha* sp., *Lavatera cretica* L., *Malva* sp., *Epilobium tetragonum* L., *Poa trivialis* L., *Sonchus tenerrimus* L., *Phalaris coerulescens* Desf., *Lolium multiflorum* Lam., *Hordeum murinum* L., *Poa pratensis* L., *Chenopodium album* L., *Chenopodium murale* L., *Medicago polymorpha* L., *Trifolium repens* L., *Vicia hirsuta* (L.) Gray, *Geranium columbinum* L., *Lythrum junceum* Banks et Sol., *Dactylis glomerata* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Lolium perenne* L., *Poa annua* L. e *Rumex crispus* L. foram infetadas por *S. vesicarium* e que *Senecio vulgaris* L., *Convolvulus arvensis* L., *Hordeum murinum* L., *Lolium multiflorum* Lam. e *Rumex crispus* L. surgiram sempre como as mais frequentes nos pomares.

Identificação das espécies de fungos isoladas a partir das diferentes amostras vegetais analisadas: concluiu-se que o género *Alternaria* foi dominante, tanto em folhas como em frutos com sintomas associados à doença das manchas castanhas, enquanto *S. vesicarium* foi apenas nos frutos, em 2020. Este resultado permite concluir que a observação visual dos sintomas no campo possa ser confusa e que os sintomas associados à doença das manchas castanhas poderão estar associados a um complexo fúngico.

Análise da localização dos sintomas nos frutos à colheita aferiu-se que uma incidência elevada de *S. vesicarium* em flores e pequenos frutos conduziram maioritariamente a sintomas na fossa apical.

Apesar da fraca robustez de alguns dos resultados obtidos neste projecto é necessário que se prossiga a investigação no âmbito desta desafiante doença. Esclarecer alguns aspetos da sua etiologia e epidemiologia permitirá adotar uma proteção mais eficiente e sustentável. Neste sentido, é essencial que nos trabalhos futuros se identifique o complexo de patógenos e/ou outros microrganismos associados à doença, se proceda à caracterização da agressividade dos isolados do fungo presentes nos pomares e, se ensaiem outros produtos ou técnicas culturais que já se revelaram bastante eficazes noutras condições ou culturas.

Noutra vertente, e porque para além do histórico do pomar, o grande fator de influência da incidência prende-se, como já foi dito, com as condições meteorológicas, seria útil para a análise dos múltiplos dados recolhidos, combinar ferramentas de estatística e de cartografia e georreferenciação. A sobreposição de dados de localização dos pomares, de dados meteorológicos de estações próximas dos mesmos (disponibilizando dados mais detalhados, como temperaturas ou precipitação/humectação à floração, por exemplo) poderá contribuir para o conhecimento acerca da epidemiologia da DMC.

B-Ensaio de eficácia de fungicidas e métodos de luta inovadores para a estenfilose da pereira

Oito fungicidas foram testados em ensaios *in vitro* para *S. vesicarium*: captana, tirame, ciprodinil, fluaziname, fluopirame, fluxapiroxade, tebuconazol e trifloxistrobina; e um desinfetante, hipoclorito de sódio. Foram executados dois tipos de ensaios: testes preliminares de avaliação da sensibilidade de *S. vesicarium* a 10 mg mL⁻¹ de substância ativa fungicida no crescimento micelial do fungo e a determinação das

concentrações mínima inibitória (MIC) e mínima fungicida (MFC) na germinação de esporos. Todos os isolados foram provenientes da região Oeste de Portugal. Nos testes preliminares, quase todos os isolados revelaram insensibilidade aos fungicidas testados, mas só 22% foram insensíveis ao fluaziname. As MIC e MFC foram determinadas exceto para fluopirame e fluxapiróxade. O Cl₂, na formulação de hipoclorito de sódio, apresentou uma MIC e MFC inferior a 0,5%.

In vivo foram executados dois tipos de ensaios: eficácia biológica de produtos fitofarmacêuticos (PFF) homologados para cultura e com ação sobre *S. vesicarium* e otimização de meios de luta química com estratégia de posicionamento de PFF em combinação com diferentes indutores de resistência na proteção dos frutos.

Material e métodos

Para a determinação da eficácia de fungicidas *in vitro* foram realizados testes preliminares de avaliação da sensibilidade a 10 mg.L⁻¹ para cinco fungicidas e determinadas as concentrações mínimas inibitórias (MIC) e concentrações mínimas fungicidas (MFC) para oito fungicidas e um desinfetante em vários isolados de *Stemphylium vesicarium* obtidos na região Oeste de Portugal.

Origem e obtenção dos isolados

Os isolados de *Stemphylium vesicarium* foram obtidos da região do Oeste, em 2015, 2018 e 2019 provenientes de folhas e frutos com sintomas de estenfiliose em pereiras da cultivar Rocha. Pequenos pedaços de frutos ou folhas com sintomas da doença, depois de mergulhados em hipoclorito de sódio a 1% e lavados em água destilada esterilizada, foram colocados em meio de PDA (Potato Dextrose Agar) com 0,5% KSCN (tiocianato de potássio). As placas incubaram a 25°C na escuridão. A purificação do fungo, pelo método do esporo único, foi efetuada em PDA e a esporulação em meio de agar V8 contendo 20% de sumo V8 Original (Campbell Soup Company, Camden, NJ, EUA), 0,4% de CaCO₃ (Merck) e 1,6% de agar técnico n.º 3 (Oxoid) ou agar-tomate

contendo 1,25% de concentrado de tomate (Compal), 0,3% de CaCO_3 (Merck) e 1,28% de agar técnico n.º 3 (Oxoid). Para a obtenção de esporos, as placas foram submetidas a um fotoperíodo de 16 horas a 22,5°C, durante 7 a 10 dias.

Fungicidas

Nos **ensaios *in vitro***, foram usados os seguintes fungicidas em formulação comercial, pertencentes a oito grupos químicos diferentes:

- ftalimida – Scab (captana 80% WG, Nufarm);
- ditiocarbamato – Pomarsol Ultra D (tirame 80% WG, Bayer);
- anilino pirimidina – Chorus (ciprodinil 50% WG, Syngenta);
- dinitroanilina – Shirlan (fluaziname 50% SC, Syngenta);
- piridinil-etil-benzamida (SDHI) – Luna Privilege (fluopirame 41,7% SC, Bayer);
- pirazol-carboxamida (SDHI) – Sercadis (fluxapiraxade 26,5% SC, Syngenta);
- triazol – Horizon (tebuconazol 25% ME, Bayer);
- estrobilurina – Flint (trifloxistrobina 50% WG, Bayer);
- desinfetante hipoclorito de sódio com 14% Cl_2 (BDH Chemicals).

Nos **ensaios *in vivo***, ao longo dos três anos houve produtos fitofarmacêuticos (PFF) que foram retirados do mercado, consequentemente interrompidos nos ensaios, e outros que foram reautorizados. Deste modo, as substâncias ativas de PFF usados nos ensaios de campo foram:

- tirame,
- fluopirame+tebuconazol,
- pentiopirade,
- boscalide+piraclostrobina,
- fluxapiraxade,
- fludioxonil,
- clortalonil,
- ciprodinil+fludioxonil,

-
- pirimetanil,
 - hidrogenocarbonato de potássio,
 - trifloxistrobina,
 - tiofanato-metilo,
 - cresoxime-metilo,
 - ebuconazol,
 - ditianão+pirimetanil
 - metirame.

Os produtos indutores de resistência, na proteção dos frutos, foram:

- fosfonato de potássio,
- quitosano,
- silício
- ácido salicílico.

Estes produtos foram posicionados em maio e junho em mistura com PFF e aplicados de forma estreme nos últimos 40 dias antes da colheita. No total foram repetidos em seis aplicações por campanha.

Teste preliminar de avaliação da sensibilidade

Para avaliação da sensibilidade preliminar dos isolados de *Stemphylium vesicarium* aos fungicidas, foram cultivados discos de micélio com 5 mm de diâmetro, retirados de culturas com 7 dias de idade, em PDA adicionado da suspensão fungicida a uma concentração final de substância ativa de 10 mg.L⁻¹. As placas foram incubadas a 25°C na escuridão. O crescimento micelial do fungo foi avaliado ao 5.º e 7.º dias de incubação, através da medição de dois diâmetros perpendiculares. Foram testados, em triplicado, 73 isolados com os fungicidas fluopirame e tebuconazol, 53 isolados com tirame e trifloxistrobina e 18 isolados com fluaziname. Os isolados que mostraram crescimento micelial foram considerados insensíveis e os restantes foram considerados sensíveis (Alberoni et al., 2005).

Determinação das concentrações mínima inibitória (MIC) e mínima fungicida (MFC) para esporos

A avaliação da MIC e MFC em esporos de *Stemphylium vesicarium* foi efetuada em dez isolados para fluopirame e tebuconazol, nove isolados para os fungicidas captana, ciprodinil, fluaziname, fluxapiroxade e o desinfetante hipoclorito de sódio e num isolado para tirame e trifloxistrobina pelo método padrão aprovado de testagem de suscetibilidade em microdiluição para fungos filamentosos (Rex et al., 2008).

Eficácia biológica de fungicidas

Para a determinação da eficácia biológica de fungicidas *in vivo* foram implementados os campos experimentais segundo as regras oficiais para o efeito, com o dispositivo experimental de quatro blocos completos totalmente causalizados. O método de observação foi o seguinte: em cada modalidade, foi realizada a observação de 100 frutos nas duas árvores centrais nas parcelas elementares com quatro árvores, com a quantificação do número de frutos com ou sem manchas de estenfiliose segundo a seguinte tipologia de severidade:

- nível 1 – ausência de sintomas;
- nível 2 – até três manchas no fruto;
- nível 3 – mais de três manchas no fruto.

O momento de observação e frequência foi de duas a três observações antes e próximo da colheita. As aplicações dos produtos foram por pulverização foliar através de um pulverizador pneumático de costas, com a periodicidade de 7 a 10 dias entre tratamentos, num total que variou entre 12 e 14 tratamentos.

Resultados

Origem e obtenção dos isolados

Foram obtidos 73 isolados de *Stemphylium vesicarium*, da região Oeste de Portugal, a partir de frutos e folhas.

Teste preliminar de avaliação da sensibilidade

O teste preliminar de avaliação de sensibilidade de *Stemphylium vesicarium* a fungicidas revelou que houve crescimento de micélio em todos os isolados testados, no meio de cultura com junção de 10 mg.L⁻¹ dos fungicidas fluopirame, tebuconazol, tirame ou trifloxistrobina. Nas placas com fluaziname, não houve crescimento de micélio em 14 dos 18 isolados testados. O teste preliminar de avaliação revelou que nenhum dos isolados era sensível aos fungicidas fluopirame, tebuconazol, tirame e trifloxistrobina e que 22% dos isolados não eram sensíveis ao fungicida fluaziname.

A resistência de *S. vesicarium* a vários fungicidas tem sido bastante reportada (Brunelli et al., 1997; Collina et al., 2002; Alberoni et al., 2005; Alberoni et al., 2010a e Luz et al., 2018). No caso das estrobilurinas, a resistência também já tinha sido detetada em vários isolados italianos (Collina et al., 2007 e Alberoni et al., 2010b) o que presumivelmente se confirma na região Oeste de Portugal, com a falta de sensibilidade dos isolados testados neste trabalho. Resultados idênticos já tinham sido obtidos anteriormente por Luz et al. (2018), mas com um número mais reduzido de isolados.

O teste de avaliação preliminar de sensibilidade com 10 mg.L⁻¹ de concentração fungicida revelou que todos os isolados portugueses de *Stemphylium vesicarium* testados apresentavam insensibilidade aos fungicidas fluopirame, tebuconazol, trifloxistrobina e tirame. O fluaziname foi o único fungicida para o qual 78% dos isolados foram sensíveis.

Determinação das concentrações mínima inibitória (MIC) e mínima fungicida (MFC) para esporos

Os resultados obtidos para as MIC e MFC, em suspensão de esporos, dos fungicidas para *Stemphylium vesicarium* são apresentados no Quadro 7. O fluopirame e o fluxapirroxade apresentaram valores muito superiores de inibição aos testados, não se conseguindo determinar as concentrações mínimas inibitórias e fungicidas. As MIC e MFC de

trifloxistrobina, 3.100 mg.L⁻¹ e 6.300 mg.L⁻¹, respetivamente, são muito superiores à indicada no rótulo para uso no campo (50 mg.L⁻¹), tal como as de fluopirame e fluxapirroxade que não foram possível determinar, porque ultrapassaram as concentrações máximas testadas de 2.400 mg.L⁻¹ e 1.450 mg.L⁻¹, respetivamente. Para os restantes fungicidas, exceto o tebuconazol, existem sempre isolados com uma MIC e MFC superiores às concentrações de uso no campo. Para as substâncias ativas captana e tirame não se apresentam concentrações de uso no campo porque não estão autorizadas para a estenfiliose da pereira. O hipoclorito de sódio apresentou as MIC e MFC inferiores a 0,5% de Cl₂.

Quadro 7 - Concentração mínima inibitória (MIC) e concentração mínima fungicida (MFC) de oito substâncias ativas fungicidas e um desinfetante na germinação de esporos de *Stemphylium vesicarium*.

Substância ativa	Isolados testados (n.º)	MIC (mg.L ⁻¹)	MFC (mg.L ⁻¹)	Concentração de uso no campo (mg.L ⁻¹)
captana	9	< 80 - 600	< 80 – 2.500	–
ciprodinil	9	< 10 - 200	< 10 - > 3.300	150 - 250
fluaziname	9	15 - 60	30 - 500	150 - 200
fluopirame	10	> 2.400	> 2.400	150 - 200
fluxapirroxade	9	> 1.450	> 1.450	90
tebuconazol	10	< 12 - 45	20 - 45	80 - 150
tirame	1	16	16	–
trifloxistrobina	1	3.100	6.300	50
Cl ₂ (hipoclorito de sódio)	9	< 5.000	< 5.000	–

Os resultados indicam uma grande variabilidade dos isolados em relação à sensibilidade aos fungicidas testados, pelo que se deverá ainda aumentar mais o número de isolados em trabalhos posteriores.

Não foi possível determinar as MIC e MFC para os fungicidas fluopirame e fluxapirroxade porque a concentração máxima testada não inibiu o fungo. As MIC e MFC de trifloxistrobina são muito superiores à indicada no rótulo para uso no campo, tal como as de fluopirame e fluxapirroxade. Nos restantes fungicidas, com exceção para o tebuconazol, existiu uma variação muito grande de MIC e MFC conforme o isolado e alguns isolados com valores muito superiores aos de uso no campo. O hipoclorito de sódio apresentou as MIC e MFC inferiores a 0,5% de CL2.

Eficácia biológica de PFF

O resultado dos ensaios de eficácia biológica de diversos PFF para controlo de *Stemphylium vesicarium* é apresentado no Quadro 8. Este revela que há PFF que provavelmente já não têm a eficácia biológica original aquando da respetiva homologação. Pois, constatou-se que muitas destas eficácias estão abaixo dos 80%.

Quadro 8 – Eficácia biológica (percentagem) dos diversos PFF, entre 2018 e 2020.

Modalidade	2018	2019	2020	média
PPF 1	91,8	93,0	---	92,4
PPF 2		86,1	88,6	87,4
PPF 3	---	---	80,8	80,8
PPF 4	---	62,6	82,1	72,4
PPF 5	81,8	61,6	---	71,7
PPF 6	63,6	---	---	63,6
PPF 7	54,5	26,2	22,5	34,4
PPF 8	37,3	24,5	---	30,9
PPF 9	35,5	22,5	---	29,0
PPF 10	52,7	24,8	0	25,8
PPF 11	---	---	13,5	13,5
PPF 12	---	---	0,9	0,9
PPF 13	---	---	0	0
Incidência na testemunha	27,5	75,5	18,7	

Este resultado está de acordo com as ocorrências encontradas no campo em pomares comerciais nos últimos anos. Por outro lado, verificou-se que em anos de forte pressão da doença (75,5% de estragos na testemunha; 2019) a maioria das eficácias de PFF baixam muito enquanto alguns conseguem manter relativamente altas as referidas eficácias. Há, portanto, PFF com níveis de eficácia não aceitáveis que provavelmente derivam da menor sensibilidade do atual panorama de estirpes de *S. vesicarium* residentes nos pomares comerciais.

O ensaio de eficácia biológica de PFF homologados para cultura e com ação sobre *S. vesicarium* revela que em média, nos últimos três anos (2018 a 2020), as taxas de eficácia variaram entre 0% e 92,4% e que há PFF que mantêm a eficácia em anos de forte pressão da doença, mas a maioria dos PFF reduzem a respetiva eficácia nesses anos.

Eficácia biológica de PFF em combinação com produtos indutores de resistência

O resultado dos ensaios de eficácias biológicas na estratégia de PFF em combinação com produtos indutores de resistência na proteção dos frutos para controlo de *Stemphylium vesicarium* é apresentado no Quadro 9.

Quadro 9 – Eficácia biológica (percentagem) na estratégia de PFF em combinação com produtos indutores de resistência na proteção dos frutos, entre 2018 e 2020.

Modalidade	2018	2019	2020	média
PFF	93,0		93,1	93,1
ácido salicílico	73,4	41,7	90,9	68,7
ácido fosfónico	79,7	26,6	85,1	63,8
quitosano	64,1	18,9	71,0	51,3
silício	45,3	18,1	85,0	49,5
Incidência na testemunha	32,0	64,8	21,0	

O ácido salicílico teve 41,7% de eficácia semelhante em comparação com estratégia única com PFF (39,4%) em 2019, ano de forte pressão da doença. Em todos os produtos/modalidades testadas a eficácia aumenta nos anos com baixa incidência na testemunha (32,0% em 2018 e 21,0% em 2020) e é reduzida quando o ano é de forte pressão da doença (64,8% de incidência na testemunha).

O ensaio de otimização dos meios de luta química com estratégia de posicionamento de PFF em combinação com diferentes indutores de resistência na proteção dos frutos revelou taxas de eficácia a variarem entre 49,5% e 75,2%. O ácido salicílico com o posicionamento em mistura que lhe foi dado sugere ser comparável com a solução exclusiva de PFF.

C. Desenvolvimento de um equipamento para remoção do pomar, dos frutos e folhas tendo em vista a redução de inóculo de estenfiliose

A tarefa iniciou-se com a realização de testes preliminares para avaliar a remoção de restos de poda do solo com base no encordoamento na zona central da entrelinha e posterior remoção.

Para tal avaliou-se o encordoamento com vassouras vulgarmente utilizadas para encordar restos de poda em vinha (Figura 13) e procedeu-se à remoção da lenha de poda e folhas, bem como peras com uma máquina automotriz utilizada na recolha de azeitona do solo (Figura 14).

Após a validação dos conceitos preconizados para o equipamento a desenvolver passou-se ao trabalho de desenvolvimento que foi realizado em parceria com a empresa Pirra Máquinas Ferramentas Lda, de Estremoz.

O foco inicial do desenvolvimento foi a conceção, montagem e testagem de uma solução para remover sub-produtos do solo sem qualquer intervenção prévia (Figura 15).



Figura 13 – Encordoar subprodutos com máquina utilizada em vinha



Figura 14 – Remoção de subprodutos com máquina automotriz de recolha azeitona do solo



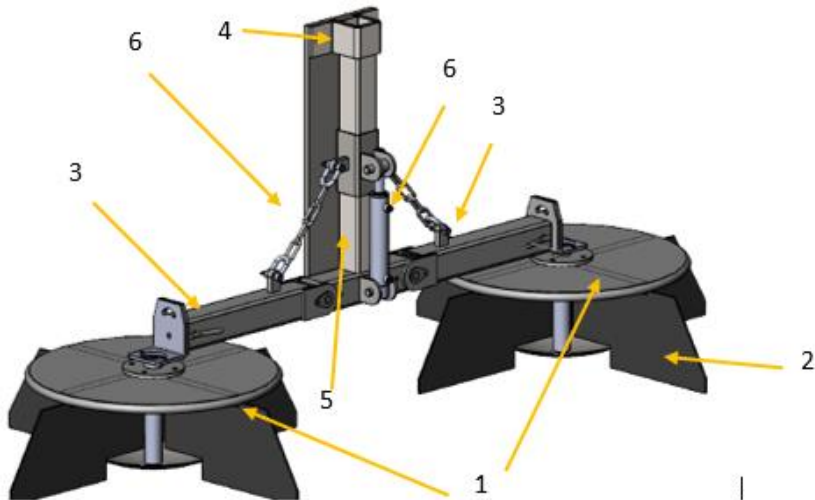
Figura 15 – Testagem do sistema para remoção sub-produtos do solo.

Após a testagem do sistema de remoção do solo, avançou-se na montagem dos restantes componentes.

A máquina desenvolvida é constituída por dois subsistemas:

- - Subsistema para encordoar;
- - Subsistema para recolher e armazenar.

O subsistema de encordoar (Figura16) é constituído por dois rotores verticais com travessas em tela de borracha acionados hidraulicamente. Cada um dos rotores está montado na extremidade de um braço articulado com ajuste manual do comprimento. Os braços telescópicos articulam-se numa estrutura de suporte que é montada no trator no lugar dos contrapesos frontais, sendo atuados hidraulicamente através de dois tirantes para colocar os rotores na posição de transporte ou de trabalho.

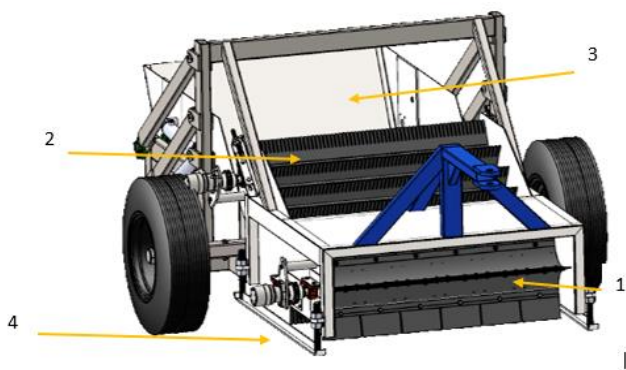


Legenda: 1- rotor; 2 – travessas em tela de borracha reforçada; 3- braços telescópicos articulados; 4 – estrutura de suporte; 5 – cilindro hidráulico; 6 – tirante.

Figura 16 - Esquema dos componentes do sub-sistema para encordoar

O subsistema para recolher e armazenar é semi-montado (Figura 17), dispondo de uma lança articulada que se fixa ao sistema de engate de três pontos do trator. A recolha é efetuada por um rotor transversal em tela de borracha que envia o material a recolher para um transportador elevador de travessas, que o descarrega para a caixa de armazenamento temporário colocada na traseira.

O acionamento do rotor transversal e do tapete transportador elevador é efetuado por motores hidráulicos, sendo a caixa de armazenamento temporário movimentada por cilindros hidráulicos para elevar e descarregar.



Legenda: 1 – rotor transversal; 2 – tapete transportador elevador de travessas; 3 – Caixa de armazenamento temporário; 4 – patins.

Figura 17 - Subsistema de recolha e armazenamento temporário.

Resultados

Os testes confirmaram que o conceito de encordoar e recolher os subprodutos da superfície do solo numa única passagem de máquina é exequível (Figura 18).

O subsistema para encordoar assegura a remoção do material existente no solo na projeção da copa (Figura 19) mesmo com erva junto ao tronco. Em trabalho, pretende-se que os rotores encordoadores apenas toquem no solo, o que nem sempre se consegue devido à irregularidade da superfície da entrelinha, bem como pelo facto da máquina não permitir mover os braços articulados de forma independente.



Figura 18 – Aspecto entrelinha após remoção.



Figura 19 – Aspecto do encordoador em trabalho .

O subsistema de recolha (Figura 20) remove os sub-produtos da superfície do solo bem como parte da erva existente na entrelinha (Figura 21).



Figura 20 – Subsistema de recolha e armazenamento.



Figura 21 – Aspecto do material recolhido.

A quantidade de erva removida da entrelinha não condiciona o enrelvamento, mas se a erva estiver alta pode bloquear o tapete elevador por empapamento. A erva alta também condiciona a capacidade de remoção das folhas visto que estas tendem a ficar misturadas no meio da erva. Quando o volume de material a recolher é grande, haverá tendência a recolher o material mais grosseiro e a deixar ficar material de menor dimensão como as folhas. Um adequado

conhecimento do equipamento permitirá ao operador ajustar a velocidade de avanço de modo a otimizar o trabalho realizado.

Na figura 22 mostra-se a dimensão dos ramos de poda recolhidos, que tendem a encher a caixa facilmente. Na construção de equipamentos de série poder-se-á aumentar a capacidade da caixa de armazenamento, embora se possam equacionar alternativas para reduzir o volume do material a remover.

Em relação à recolha de peras, as irregularidades na superfície da entrelinha (Figura 23) tendem a condicionar a distribuição dos frutos retirados da projecção da copa pelos rotores, levando a que as peras que ficam no trajeto das rodas do trator sejam esmagadas. Está previsto a colocação de um componente fixo no braço articulado para minimizar a projecção de frutos para o alinhamento das rodas do trator, de modo a evitar o seu esmagamento. De referir ainda que a dimensão da caixa de recolha permitirá uma maior autonomia na recolha dos frutos do que da lenha de poda.



Figura 22 – Caixa cheia com material lenhoso.



Figura 23 – Irregularidade do solo afecta encordoamento.

Conclusões

Os aspetos mais relevantes são:

- Exequibilidade do conceito de máquina que encordoia e recolhe sub-produtos dos pomares numa única passagem;
- Utilização do trator como equipamento base;

- Construção de uma unidade de encordoamento de montagem frontal;
- Construção de uma unidade de recolha e armazenamento temporário semi-montada no sistema de engate de três pontos.

Os testes de campo revelaram que existem detalhes que carecem de melhoria para incrementar a capacidade de remoção.

Atendendo aos atrasos na construção e montagem dos componentes da máquina, não foi possível realizar o número de testes para avaliar a durabilidade de componentes e a capacidade de remoção em diversas condições de trabalho, pelo que é pertinente dar continuidade ao trabalho iniciado, para o qual é necessário assegurar o seu financiamento.

Referências Bibliográficas

- Alberoni, G., Collina, M., Pancaldi, D., Brunelli, A., 2005. Resistance to dicarboximide fungicides in *Stemphylium vesicarium* of Italian pear orchards. *European Journal of Plant Pathology* 113, 211-219.
- Alberoni, G., Collina, M., Lanan, C., Leroux, P., Brunelli, A., 2010a. Field strains of *Stemphylium vesicarium* with a resistance to dicarboximide fungicides correlated with changes in a two-component histidine kinase. *European Journal of Plant Pathology* 128, 171-184.
- Alberoni, G., Cavallini, D., Collina, M. e Brunelli, A. 2010b. Characterisation of the first *Stemphylium vesicarium* isolates resistant to strobilurins in Italian pear orchards. *European Journal of Plant Pathology* 126, 453-457.
- Brunelli, A., Gherardi, I., Adani, N., 1997. Reduced sensitivity of *Stemphylium vesicarium*, causal agent of pear brown spot, to dicarboximide fungicides. *Informatore Fitopatologico* 47, 44-48.
- Collina, M., Gherardi, I., Brunelli, A., 2002. Acquired resistance of *Stemphylium vesicarium* to procymidone on pear in Italy. *Acta Horticulturae* 596, 547-549.
- Collina, M., Alberoni, G., Brunelli, A., 2007. First occurrence of strobilurin-resistant isolates of *Stemphylium vesicarium* in an Italian pear orchard.

-
- Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 72, 735-738.
- Comporta T., Reis P., Mota M., Oliveira C. e Rego C. 2017. Estenfiliose da pera 'Rocha' II. Frutas, Legumes e Flores, 174 (abril), 26.
- Dias D. 2020. Monitorização da estenfiliose em ensaios de campo da Frutoeste, CRL. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Diogo E., Sánchez C., Leão M. e Sousa R. 2017. A estenfiliose da pereira 'Rocha' em Portugal. Agrotec, 24 (setembro), 46–48.
- INE. 2020a. Boletim mensal da agricultura e pescas: novembro de 2020. Instituto Nacional de estatística. Lisboa. Portugal.
- INE. 2020b. Boletim mensal da agricultura e pescas: setembro de 2020. Instituto Nacional de estatística. Lisboa. Portugal.
- Isidoro N. e Azevedo J. 2005. Estenfiliose (*Stemphylium vesicarium*) da pereira 'Rocha', na região do Oeste. Manual técnico de produção integrada de pera 'Rocha', 1ª edição, Cadaval, 87–98.
- Köhl J., Haas B., Geijn H., Speksnijder A., Kastelein P., Hoog S. & Ende B. 2009. Pathogenicity of *Stemphylium vesicarium* from different hosts causing brown spot in pear. European Journal of Plant Pathology, 124(1), 151–162. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9402-2>.
- Köhl J., Jong P., Kastelein P., Haas B., Anbergen R., Balkhoven H. & Wubben J. 2013. Dynamics of pear-pathogenic *Stemphylium vesicarium* in necrotic plant residues in Dutch pear orchards. European Journal of Plant Pathology, 137(3), 609–619. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0274-8>.
- Llorente I. e Montesinos E. 2006. Brown spot of pear: An emerging disease of economic importance in Europe. Plant Disease, 90(11), 1368–1375. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1368>.
- Llorente I., Moragrega C., Ruz L. e Montesinos E. 2012. An update on control of brown spot of pear. Trees - Structure and Function, 26(1), 239–245. <https://doi.org/10.1007/s00468-011-0607-1>.

- Llorente I., Vilardell A. e Montesinos E. 2006. Infection potential of *Pleospora allii* and evaluation of methods for reduction of the overwintering inoculum of brown spot of pear. *Plant Disease*, 90(12), 1511–1516. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1511>.
- Luz J., Amaro C., Isabel R., Jambrek A. e Barrios D. 2018. Eficácia de fungicidas in vitro para *Stemphylium vesicarium* da pereira. *Revista de Ciências Agrárias*, 41, 131–140. <https://doi.org/10.19084/RCA.17072>.
- Mishra B. e Singh R. 2017. Evaluation of biocontrol agents for management of *Stemphylium* blight of onion. *Journal of Hill Agriculture*, 8(3), 325–328.
- Rego C., Cabanas A., Mota M. e Oliveira C. 2019. A estenfiliose e as infestantes. *Agroi9 Fruticultura*, 6(Novembro), 28.
- Reis P., Mota M., Rego C., Oliveira C. e Comporta T. 2018. Incidence and pathogenicity of brown spot disease in ‘Rocha’ pear Portuguese orchards. XIII Internacional Pear Symposium, 1303, 335–342. Montevideo, Uruguai.
- Rex, J.H., Alexander, B.D., Andes, D., Arthington-Skaggs, B., Brown, S.D., Chaturveli, V., Espinel-Ingroff, A., Ghannoum, M.A., Knapp, C.C., Motyl, M.R., Ostroky-Zeichner, L., Pfaller, M., Sheehan, D.J., Wlash, J.J., 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved Standard – Second Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute Document M38-A2, 28, 1–34.
- Rossi V. e Patteri E. 2009. Inoculum reduction of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot of pear, through application of Trichoderma-based products. *Biological Control*, 49(1), 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.12.012>.
- Rossi V., Patteri E., Giosué S. e Bugiani R. 2005. Growth and sporulation of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot of pear, on herb plants of orchard lawns. *European Journal of Plant Pathology*, 111(4), 361–370. <https://doi.org/10.1007/s10658-004-5273-3>.
- Sousa A., Pina A. e Sousa A. 2004. A stemphyliose da pereira ‘Rocha’ em Portugal - Perspectivas para os seu controlo. *Cadernos Rurais*, N°2, (Fevereiro), 1–23.

Sousa R. 2020. Entrevista “Estenfiliose da pereira: como está a região Oeste a lidar com a doença?”. Syngenta Portugal. Blog Alimentar com Inovação. Disponível em <https://blog.syngenta.pt/estenfiliose-da-pereira-como-esta-a-regiao-oeste-a-lidar-com-a-doenca/>.

Zapata-Sarmiento D., Palacios-Pala E., Rodríguez-Hernández A., Medina D., Rodríguez-Monroy M. e Sepúlveda-Jiménez G. 2020. *Trichoderma asperellum*, a potential biological control agent of *Stemphylium vesicarium*, on onion (*Allium cepa* L.). Biological Control, 140, 104-105. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104105>.

GO PrunusBOT - Sistema robótico aéreo autónomo de pulverização controlada e previsão de produção frutícola



Parceria

UBI – Universidade da Beira Interior (**Líder**);
AAPIM - Associação de Agricultores p/a Produção Integrada de Frutos de Montanha;
APPIZÊZERE - Associação de Proteção Integrada e Agricultura Sustentável do Zêzere;
COTHN-CC- Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional- Centro de Competências;
IPCB-ESA – Instituto politécnico de Castelo Branco | Escola Superior Agrária;
Produtor – Fernando Valério;
Produtor – Gonçalo Batista;
Sociedade Agrícola Quinta de Lameçais - Organização de Produtores.

Palavras-chave: pêssego; robótica autónoma; pulverização de infestantes; previsão de produção.

Website: <https://goprunus.wixsite.com/prunoideas>

Investimento total: 430 556,09€

Logótipos dos Parceiros



Gonçalo Batista

Fernando Valério

Objetivos do GO PrunusBOT

1. Conceber, desenvolver e testar sistemas robóticos aéreo e terrestre autónomo destinado à locomoção nas entrelinhas de pomares, incorporando câmaras multiespectrais, para que através de algoritmos de análise e processamento de dados, seja efetuado:
 - o reconhecimento e classificação de infestantes;
 - o reconhecimento e classificação de frutos em árvores.
2. Desenvolver e testar um pulverizador regulável de alta precisão (adaptável) e respetivo controlador a incorporar ao sistema robótico terrestre autónomo para controlo de infestantes.
3. Avaliar o impacto da aplicação particular de herbicida nas infestantes na produção e qualidade dos frutos.
4. Avaliar a precisão das previsões de produção por análise de imagens multiespectrais, utilizando, para validação:

A avaliação real da produção com base no método tradicional de contabilização da produção de uma amostra de árvores (médias e variâncias);

A avaliação da eficiência técnica e económica do pomar através de modelos empíricos em função da carga;

A previsão da carga ótima com modelos empíricos para fins de execução de uma “monda de precisão”;

A integração da informação sobre o histórico de anos transatos, as condições edafoclimáticas, o estado sanitário e as práticas de fertilização.

5. Apanha e recolha de frutos caídos, através de uma garra acoplada a um braço cartesiano montado num sistema robótico terrestre.

Equipa do GO PrunusBOT

Entidades	Pessoas
UBI	Hugo Proença
	Pedro Dinis Gaspar
	Pedro Inácio
	Paulo Fiadeiro
	André Veiros (bolseiro)
	Eduardo Assunção (bolseiro)
	Ricardo Mesquita (bolseiro)
AAPIM	Francisco Vieira
	Paulo Silvino
APPIZÊZERE	Anabela Barateiro
	Ana Rita Gago Marques
	Cristina Ramos
	Preciosa Fragoso
	Sandra Lopes
COTHN	Carmo Martins;
	Pedro Turras
	Helder Coelho
IPCB-ESA	António Ramos
	Cristina Canavarro
	João Pedro Luz
	José Nunes e Turras
	José Sarreira Monteiro
	Maria Paula Simões
	Dora Ferreira (bolseira)
	Hugo Fonseca (bolseiro)
COTHN	Carmo Martins
Produtores	Gonçalo Batista
	Fernando Valério
SAQL	Paulo Parente

PrunusBOT - Sistema robótico aéreo autónomo de pulverização controlada e previsão de produção frutícola

Pedro D. Gaspar^{1,2*}, Eduardo Assunção¹, Ricardo Mesquita¹, André Veiros¹, António Ramos³ e Maria Paula Simões^{3,4}

¹UBI – Universidade da Beira Interior, Rua Marquês d’Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã, Portugal

²C-MAST - Centre for Mechanical and Aerospace Science and Technologies, Covilhã

³IPCB-ESA -Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Quinta da Senhora de Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

⁴CERNAS - Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Av. Pedro Álvares Cabral 12, 6000-084 Castelo Branco

*Email: dinis@ubi.pt

Resumo

A robótica autónoma destinada a operações de análise e atuação nas culturas agrícolas tem vindo a evoluir, existindo exemplos de monitorização de culturas, de rega automatizada (que integra diferente informação edáfica e meteorológica), de aplicação localizada de fertilizantes e de herbicidas, de colheita automatizada e de manuseamento/transporte de cargas.

Este projeto pretendeu conceber um sistema robotizado para previsão da colheita e aplicação particularizada de herbicida para controlo de infestantes. O sistema descrito neste artigo é composto por robôs autónomos, terrestre e aéreo com visão computacional por câmaras RGB e multiespectrais, que possibilitam i) deteção e reconhecimento de infestantes para aplicação precisa de produtos fitofarmacêuticos, ii) deteção e reconhecimento de frutos em árvores e copas destas, para caracterização das plantas e estimativa de produção.

O reconhecimento, quer seja de infestantes como de frutos, é realizado através do método de inteligência artificial Faster R-CNN, aplicado aos datasets de imagens recolhidas em campo. No reconhecimento das infestantes é calculado o seu centróide, para onde é deslocado o bico

de pulverização, anexo ao braço robótico cartesiano incorporado no robô terrestre autônomo. A função de reconhecimento dos frutos conduz à sua contagem, permitindo uma previsão da produção. Esta detecção é dificultada pela variação da iluminação natural, oclusão de frutos causada por folhas, ramos e outros frutos e múltiplas detecções da mesma fruta em imagens sequenciais. Os resultados experimentais de detecção de infestantes e de frutos em imagem de vídeo indicam uma precisão média de 85%.

A estimativa da produção é complementada pela previsão do volume da copa da árvore obtido por aquisição de imagem captada via câmara montada em drone, destinada a suportar modelos empíricos de carga das árvores. A função de pulverização de infestantes é complementada com a capacidade de apanha de frutos caídos no chão. Pretende-se assim contribuir para um sistema de produção mais sustentável através da redução de utilização de produtos fitofarmacêuticos e simultaneamente apoiar o produtor na gestão da carga do pomar com reflexos na gestão da cadeia comercial.

Palavras-chave: pêssego; robótica autônoma; pulverização de infestantes; previsão de produção.

Abstract

Autonomous robotics for analysis operations and operations in agricultural crops has been evolving, with examples of crop monitoring, automated irrigation that integrates different soil and meteorological information, localized application of fertilizers and herbicides, automated harvesting, handling/transport of loads.

This project aimed to design a robotic system for harvest prediction and individualized application of herbicide to control weeds. The system described in this article is composed of autonomous robots, land and air with computer vision by RGB and multispectral cameras, which enable i) detection and recognition of weeds for precise application of plant

protection products, ii) detection and recognition of fruits in trees and crowns of these, for plant characterization and production estimate.

The recognition, whether of weeds or fruits, is carried out using the Faster R-CNN artificial intelligence method, applied to the datasets of images collected in the field. In the recognition of weeds, their centroid is calculated, where the spray nozzle, attached to the Cartesian robotic arm incorporated in the autonomous land robot, is moved to. The fruit recognition function leads to their counting, allowing a production forecast. This detection is hampered by varying natural lighting, occlusion of fruits caused by leaves, branches and other fruits, and multiple detections of the same fruit in sequential images. Experimental results of weed and fruit detection in video image indicate an average accuracy of 85%.

The production estimate is complemented by the prediction of the tree canopy volume obtained by acquiring an image captured via a camera mounted on a drone, designed to support empirical models of tree load. The weed spraying function is complemented with the ability to pick up fallen fruit. The aim is thus to contribute to a more sustainable production system by reducing the use of plant protection products and simultaneously supporting the producer in managing the load of the orchard, with consequences in the management of the commercial chain.

Keywords: peach; autonomous robotics; weed spraying; production forecast.

Introdução

O processo de produção frutícola envolve a gestão de um vasto conjunto de técnicas culturais. Entre estas podem salientar-se as questões relacionadas com a manutenção do solo em pomares, que tem como objetivo o controlo das espécies infestantes, e a manutenção ou aumento da fertilidade do solo, tendo em consideração a sua preservação. É importante salientar que esta técnica tem um impacto

direto no desenvolvimento das plantas (Ferreira et al., 2017) e na gestão de água (Simões et al., 2017). Outra atividade de relevo consiste na previsão da produção para gerir todos os aspetos relacionados com a colheita e comercialização, entre os quais os contratos de fornecimento, até à definição dos valores de seguros de colheita. Para a previsão da colheita, atualmente é realizada uma seleção aleatória de um determinado número de árvores onde se procede à contagem dos frutos, podendo ser apoiada por medições de calibre. A precisão da estimativa da produção aumenta com o tamanho da amostra, mas requer mais trabalho e tempo, o que se traduz em maiores custos. Paralelamente, denota-se o desenvolvimento de soluções robóticas autónomas destinadas a operações de análise e atuação nas culturas, existindo hoje exemplos de sistemas robóticos destinados à monitorização de culturas, à rega automatizada que integra diferente informação edáfica e meteorológica, à aplicação localizada de fertilizantes e de herbicidas, à colheita automatizada e ao manuseamento/transporte de cargas. Neste sentido pretende-se desenvolver sistemas robóticos aéreo e terrestre autónomos, capazes de realizar duas funções: aplicação precisa de herbicida e estimativa da produção, pela análise/processamento de dados de imagens digitais de câmaras RGB e multiespectrais. Dois algoritmos de caracterização de análise serão desenvolvidos. O 1º algoritmo distingue a mancha de infestantes localizada na linha das plantas para aplicação precisa de herbicida. Um 2º algoritmo caracteriza a árvore, determina a copa e distingue os frutos, calculando as suas dimensões, para realizar a previsão da produção, transitando o sistema robótico nas entrelinhas do pomar para captar imagens laterais e de topo das árvores.

O desenvolvimento de um equipamento robótico com estas características destina-se ao controlo de infestantes numa fase inicial do seu desenvolvimento visando a utilização de menor quantidade de herbicida, quer pelo menor volume das infestantes, quer pela precisão da aplicação que será apenas dirigida aos objetos de cor verde, quer pela autonomia de realização da tarefa. A precisão do controlo das

infestantes e a menor quantidade de herbicida contribuem para o aumento da rentabilidade do pomar, quer por via da possível diminuição dos custos variáveis, quer pelo aumento da produção resultante da maior disponibilidade de água e fertilizantes. Adicionalmente, estes resultados enquadram-se numa melhoria da sustentabilidade ambiental da cultura provada pela redução da aplicação de produtos fitossanitários.

Por outro lado, a previsão mais assertiva da produção com os algoritmos de análise e processamento de imagem de caracterização das árvores e de segmentação e classificação dos frutos, possibilita aos produtores uma melhor gestão da carga e previsão da produção, podendo gerir melhor a necessidade de monda de frutos para aumentar o seu calibre e negociar com maior confiança as quantidades e a qualidade (calibre) dos frutos na celebração de contratos de fornecimento. Esta vantagem resulta numa maior rentabilidade da produção e na promoção das relações Produtor/Retailista, contribuindo para a redução do desperdício alimentar devido à rejeição de produto, já que este poderá ser conduzido atempadamente para outro fim.

Após o desenvolvimento desta tecnologia em pomares de Prunóideas, esta poderá ser adaptada a outro tipo de pomares (Pomóideas) com repercussões a nível regional e nacional.

Deteção de frutos

A previsão de produção e da necessidade de embalamento no início da campanha agrícola são muito importantes para os produtores agrícolas e de embalagens. A previsão possibilita o planeamento da colheita, o espaço de trabalho, o armazenamento, apresentando outros benefícios adicionais.

As redes neuronais artificiais convolucionais (CNNs) têm contribuído grandemente para o progresso da deteção e classificação de objetos. Sa et al. (2016) propuseram a utilização da rede Faster R-CNN com o objetivo de detetar pimento, melão, maçã, abacate, manga, morango e laranja. O presente estudo baseia-se neste estudo científico como base

de trabalho. Dada a inexistência de estudos científicos com pêssegos, este artigo apresenta os resultados de detecção de pêssegos aplicando o método de detecção de objetos Faster R-CNN.

Deteção de copas de árvores

A avaliação do tamanho das copas das árvores é um instrumento para avaliar o desempenho individual de cada planta, permitindo estimar as necessidades de água, de fertilizantes e de pesticidas e o rendimento de produção. Com veículos aéreos não tripulados e câmaras minimizadas de alta resolução é possível estimar o tamanho das copas das árvores usando imagens e modelos de visão computacional. Nesse trabalho, sugerimos uma metodologia para detecção de copas de árvores que tem como base a aprendizagem profunda e CNN.

Manutenção do solo em pomares de pessegueiro

O controlo das infestantes é uma operação cultural que visa diminuir a competição que estas exercem com a cultura pelos fatores água e nutrientes. Na região da Beira Interior, o tipo de manutenção do solo mais comum em pomares de pessegueiro é um sistema misto constituído por solo nu não mobilizado na linha e enrelvamento na entrelinha (Simões, 2017). A aplicação de herbicida no início do ciclo vegetativo apresenta uma particular importância no controlo das infestantes, sendo um dos fatores determinantes para o seu sucesso, devendo ser realizada 2 a 3 semanas antes do abrolhamento (Simões, 2021). Após essa primeira aplicação, que corresponde a toda a área da linha das plantas (habitualmente corresponde a uma faixa de 2 m (1 m para cada lado da linha das plantas), observa-se sempre a presença de algumas infestantes, que se pretende que sejam eliminadas de forma particularizada.

A detecção automática de infestantes é uma das soluções viáveis para redução ou exclusão eficiente de produtos químicos na produção. Os estudos e pesquisas têm focado e combinando abordagens modernas que analisam e avaliam automaticamente infestantes em imagens. Este

estudo propõe um método para deteção de infestantes que pode ser embutido em dispositivos móveis.

Modelos empíricos no estudo da eficiência do sistema produtivo em pessegueiro

O sistema de plantação foi definido por Robinson et al. (1991), como sendo a combinação do porta-enxerto (vigor), do desenho da plantação (densidade e compasso), da forma de condução e do regime de poda. Como os ensaios de sistemas de plantação apenas dão informação sobre as condições particulares de cada caso, Robinson e Lakso (1991) estabeleceram as bases da “eficiência produtiva” para permitir uma melhor compreensão sobre o desempenho da árvore ou do pomar. A expressão da produção por unidade de área transversal da secção do tronco (kg/cm^2) e por unidade de volume da copa (kg/m^3) são os indicadores mais utilizados para efeitos de comparação entre diferentes sistemas produtivos. Considerando fatores produtivos e económicos, um índice de eficiência do pomar deve corresponder à máxima receita do produtor. Esta, por sua vez, deverá ser uma solução de compromisso entre a redução da carga e o acréscimo na valorização dos frutos, através de uma eficiente tecnologia de monda de frutos (Robinson et al., 2013).

Ramos (2017) desenvolveu modelos empíricos a partir de uma base de sete casos estudados (case-studies) com o pessegueiro ‘Catherine’ na zona sul do concelho do Fundão, de forma a efetuar a previsão empírica da capacidade produtiva do pomar.

Robô terrestre autónomo

A robótica terrestre agrícola surge em 1920 com a pesquisa de métodos de orientação autónoma de veículos para agricultura. Entre os anos de 1950 e 1960, são iniciados os primeiros protótipos e apenas na década de 80, com o desenvolvimento do computador, a orientação com recurso à visão computacional tal se tornou possível (Veiros et al., 2019). A evolução da tecnologia juntamente com a necessidade de otimizar os processos de produção agrícola, deu origem a uma robótica

apta a executar tarefas, como o controlo de infestantes, monitorização de áreas, colheita, poda, pulverização, entre outros, nas mais diversas culturas. Independentemente do atual progresso da robótica terrestre, esta continua a apresentar-se como uma área de difícil aplicação na agricultura, devido à complexidade requerida e à dificuldade em generalizar os sistemas, nomeadamente, a variabilidade nos contextos extrínsecos, como as condições ambientais e obstáculos físicos à circulação, e intrínsecos, como o crescimento das culturas e a heterogeneidade de cor.

São já vários os robôs terrestres autónomos desenvolvidos para aplicação agrícola. Relativamente ao combate às infestantes existem sistemas robotizados terrestres que fazem uso de visão computacional para detetar a infestante e braços robóticos para posicionar o bico de pulverização (Sukkarieh, 2016; Wendel & Underwood, 2016; McCool, et al., 2018; Ecorobotix; 2019). Foram desenvolvidos e estão disponíveis um conjunto de robôs terrestres destinados a operações em vinhas (Diago et al., 2015; Naio Technologies, 2019; Agrob, 2019). Outros robôs foram desenvolvidos para tarefas associadas ao manuseamento, transporte, entrega, sementeira e recolha de dados de plantas e solos (Blender et al., 2016; Grimstad & From, 2017; Harvestai, 2019; Earthsense, 2019).

Robô aéreo autónomo

Veículos aéreos não tripulados, habitualmente denominados por drones, são sistemas eletrónicos de baixa manutenção e alta versatilidade. Esta tecnologia tem sido cada vez mais estudada e desenvolvida ao longo dos anos, sendo também aplicada da agricultura. Atualmente, os drones têm já impacto direto na agricultura através da realização de tarefas específicas, destacando-se a monitorização e apoio na tomada de decisão dos produtores. Um exemplo é o DJI AGRAS T20 (DJI, 2020), que foi desenvolvido para possibilitar a pulverização autónoma, fazendo uso de um sistema de Posicionamento Cinemático em Tempo-Real (Real-Time Kinematic - RTK). Trata-se de drone com certificado IP67, possuindo um radar omnidirecional para deteção de

obstáculos, sejam estes objetos ou solo, e um sistema de monitorização em tempo real. Segundo Veroustraete (2015), o maior ganho desta tecnologia na agricultura é o seu uso com câmaras multiespectrais e RGB para monitorizar o progresso e o crescimento das plantações em grande escala, fazendo uso do Normalized Difference Vegetative Index (NDVI) e de sensores near-infrared (NIR).

Materiais e Métodos

Modelo de deteção de frutos

No modelo Faster R-CNN, as saídas das camadas de convolução são denominadas de “mapas de características”. Numa segunda fase, utiliza-se a última camada de convolução como entrada da “Rede de proposta de regiões”, no qual produzem as regiões de interesses (ROIs – Region Of Interest) que contém os possíveis objetos. Essas ROIs são utilizadas na última fase do modelo de deteção para classificação dos objetos, bem como para um possível ajuste de posição do enquadramento da deteção do objeto na imagem de entrada. A Figura 1 mostra um esquema simplificado do método Faster R-CNN no contexto de deteção de pêssegos.

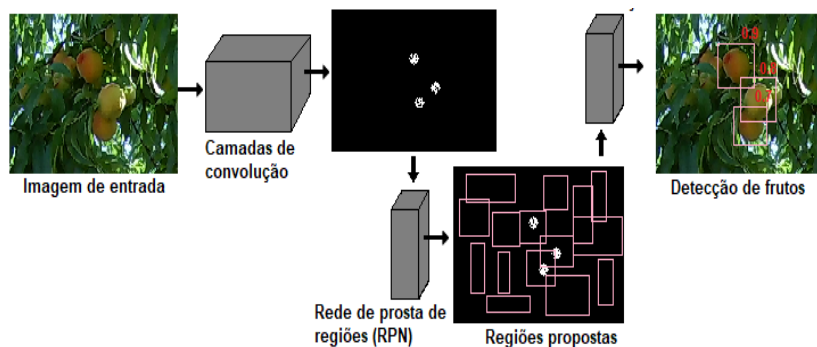


Figura 1 - Esquema simplificado do método Faster R-CNN no contexto de deteção de pêssegos.

Uma base de dados de imagens foi construída com imagens de pomares de pessegueiro localizados na região da Beira Interior (Portugal), mais especificamente no Ferro, Orjais e Soalheira. Foi utilizada uma câmara Eken H9R para capturar as imagens. As imagens foram dimensionadas para um tamanho de 2736x1824. Para treino do modelo foram utilizadas 200 imagens de pessegueiros com canais RGB e 40 para teste. Para avaliar o desempenho de deteção foi utilizado a métrica AP (Average Precision).

Modelo de deteção de copas de árvores

Neste estudo foi criada uma base de dados de imagens com imagens de pomares de pessegueiro localizados na Beira Interior (Portugal), nomeadamente Ferro, Orjais e Soalheira, compreendendo duas zonas distintas de produção de pêssego, a norte e a sul da serra da Gardunha. Foi utilizada uma câmara RGB acoplada a um drone para capturar as imagens. A Figura 2 ilustra a aquisição das imagens que compõe a base de dados.



Figura 14 – Exemplo 1 de imagem capturada para composição da base de dados de imagens.

O mesmo modelo (Faster R-CNN) foi utilizado para a deteção de frutos e para a deteção das copas das árvores. A diferença residiu na base de dados em que o modelo foi treinado. O modelo Faster R-CNN tem como saída os retângulos que delimitam os objetos detetados. No entanto, as copas das árvores diferem muito geometricamente de retângulos. Como forma de reduzir esta diferença, foi proposta a aproximação geométrica de um retângulo para uma elipse conforme ilustrado na Figura 3.

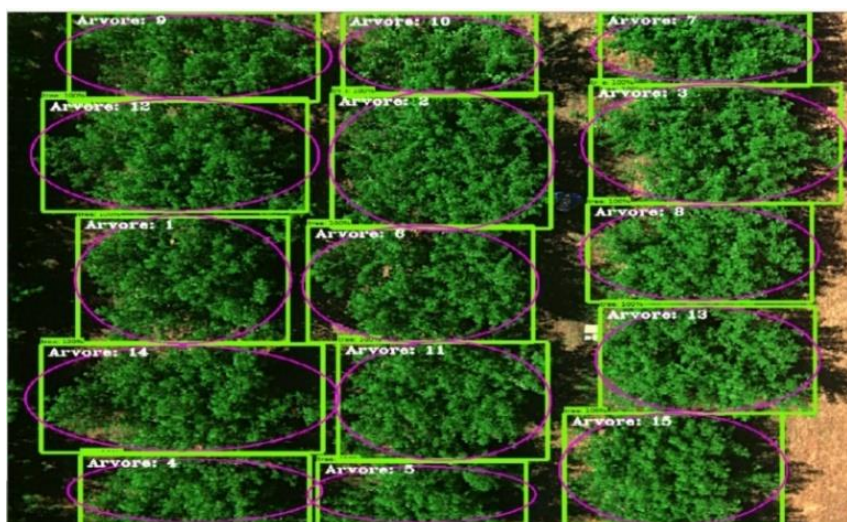


Figura 3 – Exemplo de resultado de deteção de copas de árvores, ajustando a um retângulo ou uma elipse.

Manutenção do solo em pomares de pessegueiro

Para a realização deste trabalho utilizaram-se 3 Unidades de Observação (UO), que correspondem a 3 pomares de pessegueiros. Em cada UO marcaram-se 4 blocos de 4 plantas contíguas. Ao longo de 3 ciclos vegetativos foi realizada a monitorização da ocupação do solo por infestantes, tanto na linha como na entrelinha. Para tal, utilizou-se a metodologia referida por Simões et al. (2017), que consistiu em determinar a percentagem de ocupação do solo por infestantes

utilizando uma grelha de 64 quadrículas de 7,5 cm × 10,0 cm. A ocupação por infestantes foi classificada de acordo com o Quadro 1, para poder ser posteriormente relacionada a ocupação de infestantes com o volume de copa e a produção.

Quadro 1 – Classificação do desenvolvimento das infestantes na linha e entrelinha.

Linha	altura infestantes				Entrelinha	altura infestantes			
	< 10 cm	10-15 cm	15-20 cm	> 20 cm		< 10 cm	10-15 cm	15-25 cm	> 25 cm
ocupação					ocupação				
0-20%	1	1	2	2	<50%	1	1	2	3
20-40%	1	2	3	3	50 a 80%	1	2	3	4
40-60%	2	3	3	4	80 a 100%	1	3	4	5
60-80%	3	3	4	4					
100%	3	4	4	5					

Modelo de detecção de infestantes

Foi empregue um algoritmo de inteligência artificial por aprendizagem profunda (Deep Learning) com uma CNN com uma estrutura encoder-decoder de segmentação de imagens, nomeadamente a DeepLabv3 (Chen et al., 2018; Fawakherji et al., 2019), adaptada e treinada para segmentar as imagens das infestantes no pomar de pessegueiros. A Figura 4 ilustra o modelo simplificado.

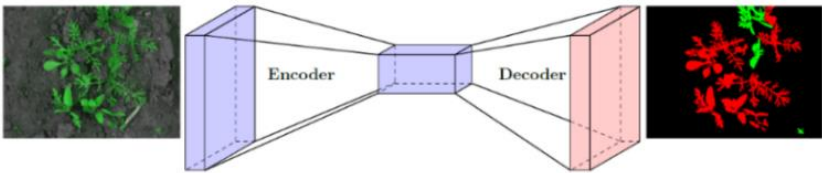


Figura 4 – Descrição simplificada do modelo com rede neuronal de segmentação de infestantes.

O sistema de visão computacional tem a finalidade de fornecer às componentes mecânicas do pulverizador, isto é, ao manipulador robótico cartesiano, as localizações espaciais (coordenadas) dos centróides das infestantes, para que o manipulador robótico se possa movimentar no plano x-y para cada uma destas localizações em coordenação com a locomoção do rover robótico e ativar o bico de pulverização para aplicação do herbicida. O manipulador robótico também se movimenta segundo z no sentido de afastar (abrir) ou aproximar (fechar) a área de pulverização em função da área da infestante.

Previsão da capacidade produtiva do pomar com modelos empíricos (ex.: pessegueiro ‘Catherine’)

Na época da colheita do pêssigo ‘Catherine’ foi realizada: a) medição da altura (A) e da largura (L) máxima (direção da entrelinha) para determinar o volume de 15 árvores individuais ($V = A \times L \times D$), sendo D a distância entre plantas na linha; e b) registo do peso da produção e do número de frutos por cada árvore individual. A avaliação do efeito da carga (X, nº de frutos por árvore) no peso médio do fruto (Y, g/fruto) foi efetuada por ajustamento não linear, de acordo com a Equação (1):

$$Y = 1/(a \times X + 1/b) \quad (1)$$

Em que a e b são os parâmetros do modelo (equação não linear). Pela equação do modelo é possível verificar que o peso médio do fruto pode ser estimado em função da carga e dos parâmetros a e b. Com o peso médio do fruto também se pode estimar a distribuição da produção por classes de calibre (Ramos, 2017). Deste modo, para além da contagem de frutos são necessários, apenas, os parâmetros a e b para calcular todos os resultados produtivos e económicos do pomar. A aplicação do modelo a cada case-study leva à obtenção de diferentes parâmetros a e b quando se utilizam as cargas expressas por árvore, mas o parâmetro a revelou-se constante quando as cargas se expressam por unidade de volume (nº de frutos/m³).

Principais resultados

Modelo de detecção de frutos

Nesse trabalho foi utilizada a métrica AP para avaliar a detecção dos pêssegos. Foi considerado como detecção o valor de IoU de 0,5, conforme o utilizado na maioria dos trabalhos de detecção de objetos. O valor de AP foi calculado (com IoU = 0,5) para as inferências das detecções das 40 imagens de teste e 200 imagens de treino, obtendo-se o resultado de 0,87. Este valor obtido indica uma boa precisão na detecção dos frutos, conforme se pode confirmar pela análise da Figura 5.

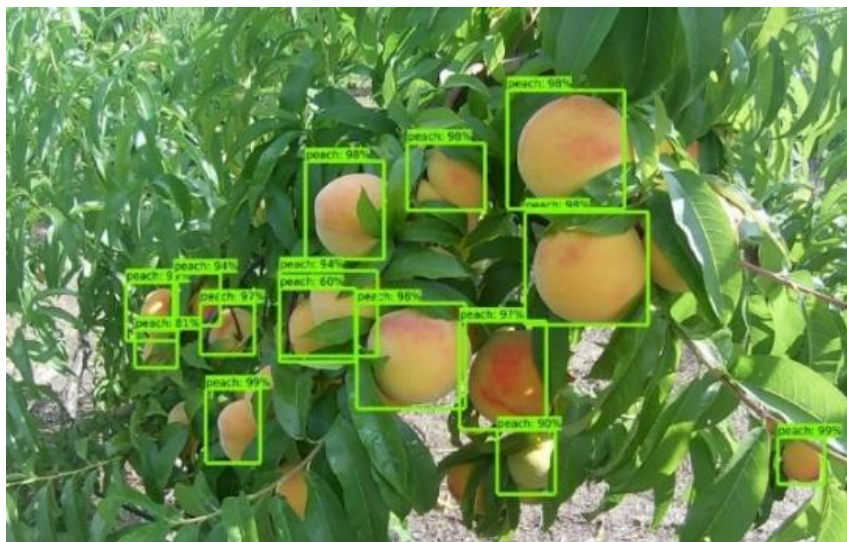


Figura 5 – Exemplo de resultado de detecção de frutos de pêssegos.

Modelo de detecção de copas de árvores

A métrica AP foi utilizada para avaliar a detecção das copas de árvores. O valor de AP foi calculado para as inferências das detecções de 30 imagens de teste, obtendo-se o resultado de 0,85. Um exemplo de resultado de detecção pode ser visualizado na Figura 6. Uma possível

alternativa para melhorar o resultado de deteção da copa das árvores apresentado nesse trabalho seria a utilização do modelo de deteção/segmentação Mask R-CNN (He et al., 2017). Figura 6, mostra uma ilustração do resultado de saída do modelo Mask R-CNN. Nesse modelo, além da posição das árvores (deteção) também são fornecidos os pixéis pertencentes a cada copa da árvore (segmentação).



Figura 6 – Exemplo de como será o resultado de deteção de copas de árvores com o modelo Mask R-CNN.

Manutenção do solo em pomares de pessegueiro

Das observações realizadas verifica-se que todas as UO apresentam solo nu não mobilizado na linha e enrelvamento da entrelinha, obtidos por aplicação de herbicida na linha e destroçamento do enrelvamento na entrelinha. Os resultados obtidos indicam também que todos os produtores fazem um primeiro controlo no final do inverno, próximo do abrolhamento, com aplicação de herbicida numa faixa de 90 a 100 cm para cada lado da linha. Contudo, a aplicação de herbicida no final

do inverno não é suficiente para controlar o desenvolvimento das infestantes, existindo sempre algumas infestantes que permanecem e, posteriormente, encontram as condições ideais para se desenvolverem, sendo habitual duas aplicações de herbicida/ciclo vegetativo, de acordo com a conta de cultura (Dias et al., 2017). Assim, evidencia-se a necessidade de controlar o desenvolvimento das infestantes que surgem após a primeira aplicação de herbicida (Figura 7) e que, ao terem menos competição entre si, poderão atingir grande porte ou colonizar rapidamente o solo, tornando-se dominantes.

A aplicação particularizada através de um sistema robótico, permitiria uma eliminação numa fase do ciclo vegetativo correspondente ao início do crescimento dos frutos, tendo como vantagem não só a eliminação da infestante em si, mas a diminuição da quantidade de herbicida visando uma prática agrícola mais sustentável.



Figura 7 – Infestantes remanescentes após aplicação de herbicida.

Modelo de deteção de infestantes

Na Figura 8-A é apresentada uma imagem de entrada do sistema de visão computacional enquanto na Figura 8-B é apresentado o resultado de saída do sistema de inteligência artificial de deteção de infestantes. As regiões em cor azul correspondem às segmentações das infestantes e os pontos em cor verde correspondem às coordenadas dos centróides das regiões segmentadas que representam as localizações das infestantes. O manipulador robótico, em coordenação com a locomoção do R2A2 irá movimentar-se para cada uma das coordenadas x-y dos centróides das infestantes, sendo aí ativado o bico de pulverização, a uma distância mais próxima ou mais afastada, de acordo com a área ocupada pela infestante.

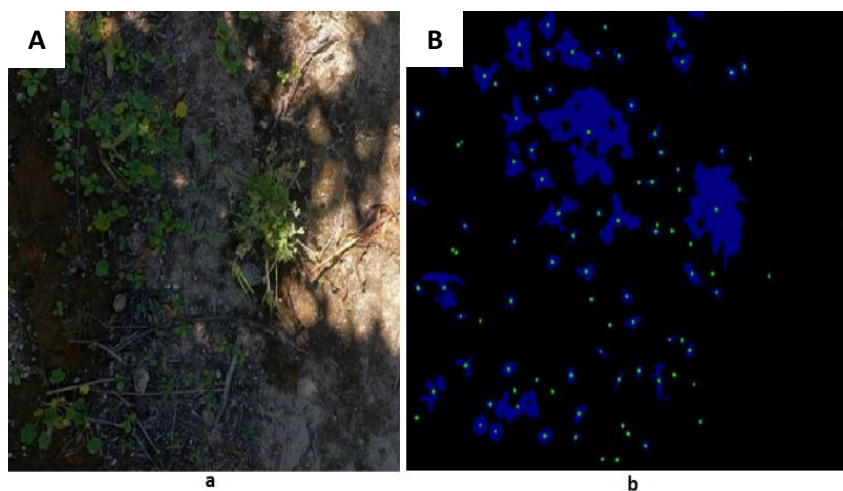


Figura 8 – Aplicação do algoritmo de inteligência artificial por aprendizagem profunda via CNN para deteção de infestantes: **A** - Imagem original; **B** - Imagem segmentada com as obtenções dos contornos e centróides

Modelos empíricos no estudo da eficiência do sistema produtivo

A Figura 9 mostra, como exemplo, a aplicação do modelo à produção do pessegueiro ‘Catherine’ em 2019. Apesar de algumas diferenças que

se notam entre alguns valores observados e os respetivos valores estimados (relação 1:1, $R^2 = 78\%$), é de salientar que a amplitude de variação dos pesos médios por árvore individual é semelhante e que o peso médio observado e estimado do conjunto das 15 árvores é idêntico (quadrados). Estes resultados sugerem que a previsão empírica pode ser uma ferramenta útil para avaliar a capacidade produtiva do pomar, por simples medição do volume e contagem dos frutos, e um importante complemento às metodologias de análise de imagens, sempre e quando estas possam ser utilizadas de forma prática e recorrente na medição do volume e na contagem de frutos das árvores.

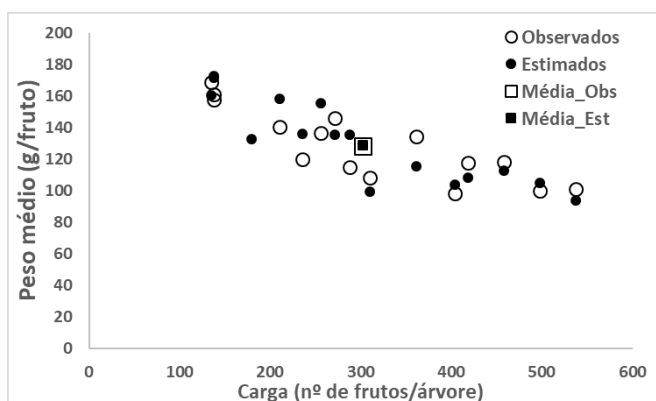


Figura 9 - Representação gráfica dos valores observados do peso médio do fruto em função da carga e dos correspondentes valores estimados.

Robô terrestre autónomo

No âmbito deste projeto está a ser desenvolvido o robô terrestre R2A2 (Robotic Rover for Agricultural Activities). Durante o desenvolvimento do robô foi necessário garantir os seguintes requisitos: movimentação autónoma; altura máxima de 60 cm (altura a que se iniciam os ramos das árvores); capacidade de desenvolver tarefas perto do tronco sem danificar as árvores e ultrapassar rampas de até 20º de inclinação. O R2A2 (Figura 10) foi construído em perfis de alumínio, com uma estrutura de T, criando uma estrutura leve e resistente.

Devido a configuração dos perfis, o robô é de fácil montagem, sendo possível anexar novos segmentos ao longo do seu desenvolvimento. O R2A2 contém um sistema de quatro rodas, cada uma com um motor independente alargando desta forma os movimentos do robô. Cada motor está equipado internamente com uma caixa de multiplicação e um driver que providencia 25 Nm, a cada roda, controlados por um microcontrolador. O R2A2 integra um bico pulverizador acoplado a um braço robótico, um reservatório de herbicida e um sistema de visão computacional de detecção de infestantes. Na Figura 10 encontra-se uma imagem do R2A2 com a localização dos vários componentes: (1) Reservatório de herbicida; (2) Sistema de visão computacional composto por câmara RGB; (3) Manipulador robótico cartesiano com bico pulverizador e (4) Sistema de controlo composto por microcomputadores Raspberry Pi 4 e microprocessadores ESP32.



Figura 10 – Rover Robótico de Aplicações Agrícolas. Legenda: 1) Reservatório de herbicida. 2) Sistema de visão computacional. 3) Manipulador robótico cartesiano com bico pulverizador. 4) Sistema de controlo.

O sistema é alimentado por duas baterias de 12 V conectadas em série através da placa de alimentação (Figura 10), resultando numa tensão de alimentação de 24 V e uma capacidade conjunta de 55 Ah. São também utilizados um conjunto de conversores DC-DC para regular a diferença de potencial dos vários componentes eletrónicos. Para o posicionamento, tanto da garra como do sistema de pulverização, é utilizado um eixo linear controlado por um motor de passo em conjunto com um sistema de uma câmara, um minicomputador e um dos algoritmos de visão computacional descritos anteriormente.

Em suma, os robôs terrestres desenvolvidos para a agricultura já são uma realidade, mostrando um papel importante, tanto nas diversas fases das culturas como no apoio à decisão do produtor. De igual forma, pode-se verificar que o robô terrestre R2A2, mostra resultados promissores no combate à poluição ambiental, no desperdício alimentar e no desenvolvimento de tecnologia relacionada com a área. Futuros trabalhos estarão associados com a otimização do sistema, tal como na validação dos dados.

Robô aéreo autónomo

Com o objetivo de monitorização das culturas e solos, deteção do volume das árvores e desenvolvimento de tecnologias futuras relacionadas com a área, foi construído um veículo aéreo não tripulado. Para se encontrar em conformidade com todas as exigências foi necessário garantir que o drone cumpria com as seguintes características: voos autónomos, carga máxima superior ao peso de



Figura 11 – Imagem do primeiro teste de voo do drone construído.

uma câmara multiespectral e visível, sistema aberto e alto alcance. Após análise e para que todos os requisitos fossem cumpridos optou-se por um drone (Figura 11) de seis motores, equipado com uma Pixhawk Cube 2.1 permitindo, desta forma, o planeamento dos voos por pontos em conjunto com o programa de código aberto Mission Planner. Como antena GPS optou-se pela Here+ e um recetor/emissor TBS Crossfire, este é alimentado por uma bateria 4S de 5000 mAh.

Considerações finais

O modelo de deteção de objetos Faster R-CNN foi utilizado para deteção de imagens de pêssegos, mostrando um bom desempenho, inclusive para frutos agrupados e oclusos. Para a deteção de copas de árvores, o resultado para as inferências das deteções foi de 0,85 AP. Já para o algoritmo de deteção de infestante, que utiliza técnicas de visão computacional tradicional, obteve uma precisão de 80%. A monitorização das infestantes indica as vantagens de um controlo particularizado das infestantes que aparecem depois do controlo realizado no final do inverno/início do abrolhamento.

Os modelos empíricos representam ferramentas bastante úteis para estudar e caracterizar a eficiência do sistema produtivo, permitindo ainda fazer previsões/simulações do desempenho da árvore em função da capacidade produtiva instalada. Neste contexto, o algoritmo de determinação do volume das árvores a partir de imagens captadas pelo drone, vem possibilitar previsões mais acertada dada a obtenção de mais dados (volume) das árvores.

O robô terrestre R2A2, que se encontra em desenvolvimento, mostra-se promissor em diversas fases das culturas como no apoio à decisão do produtor. Tal como este, o robô aéreo autónomo apresenta-se como uma mais-valia na monitorização das culturas e solos, deteção do volume das árvores e desenvolvimento de tecnologias futuras relacionadas com a área.

Referências Bibliográficas

- Agrob. 2019. <http://agrob.inesctec.pt/>
- Bargoti, S. & Underwood, J. 2017. Deep fruit detection in orchards. ICRA, 3626–3633.
- Bargoti, S. & Underwood, J.P. 2017. Image segmentation for fruit detection and yield estimation in apple orchards. J. Field Robotics 34:1039–1060.
- Blender, T., Buchner, T., Fernandez, B., Pichlmaier, B., & Schlegel, C. 2016. Managing a Mobile Agricultural Robot Swarm for a seeding task. IECON 2016, Florence, 2016, pp. 6879-6886.
- Bradski, G. 2000. The OpenCV Library. Dr. Dobb's Journal of Software Tools.
- Chen, L.-C., Zhu, Y., Papandreou, G., Schroff, F., e Adam, H. 2018. Encoder-decoder with atrous separable convolution for semantic image segmentation, ECCV 2018, 833-851. <https://arxiv.org/abs/1802.02611>
- Diago, M. P., et al. 2015. Vinerobot: On-the-go vineyard monitoring with non-invasive sensors. In 9th GiESCO Meeting, France.
- DJI. 2020. <https://www.dji.com/pt/t20?site=ag&from=nav>
- Dorj, U.O., Lee, M. & Yun, S.-s. 2017. An yield estimation in citrus orchards via fruit detection and counting using image processing. Comput. Electron. Agric., 140:103-112.
- Earthsense. 2019. <https://www.earthsense.co/>
- Ecorobotix. 2019. <https://www.ecorobotix.com/en/autonomous-robot-weeder/>
- Fawakherji, M., Youssef, A., Bloisi, D., Pretto, A., Nardi, D. 2019. Crop and weeds classification for precision agriculture using context-independent pixel-wise segmentation. 2019 IRC, 146-152, doi: 10.1109/IRC.2019.00029.
- Ferreira, D. Simões, M.P. 2017. Efeito da manta Ecoblanket no crescimento das plantas. In Simões, M.P. (coord). +Pêssego – Inovação nas Técnicas de Produção, COTHN: 191-199. ISBN 9789728785055.
- Grimstad, L., From, P. J. 2017. The Thorvald II agricultural robotic system. Robotics, 6(4), 24.

-
- Häni, N., Roy, P., Isler, V. 2019. A comparative study of fruit detection and counting methods for yield mapping in apple orchards. *J. Field Rob* 1-20.
- Harvestai. 2019. <https://www.public.harvestai.com/>
- He, K., Gkioxari, G., Dollár, P. & Girshick, R. 2017. Mask R-CNN. *IEEE ICCV 2017, Venice*, 2980-2988.
- J. L. Elser et al. 2019. Measuring bird damage to three fruit crops: A comparison of grower and field estimates. *Crop Prot.*, 123, pp. 1–4.
- Javier J. C., Xesús P. G., Mar V., & José M. M. 2019. Water Management Using Drones and Satellites in Agriculture. *Water* 11, no. 5: 874.
- Koirala, A., Walsh, K.B., Wang, Z., & McCarthy, C. 2019. Deep learning for real-time fruit Detection and orchard fruit load estimation: benchmarking of ‘mangoyo’. *Precision Agriculture* 1107–1135.
- McCool, C. et al. 2018. Efficacy of Mechanical Weeding Tools: A Study into Alternative Weed Management Strategies Enabled by Robotics. *IEEE Robotics and Automation Letters*, 3(2), 1184-1190.
- Naio Technologies. 2019. Vineyard weeding robot TED. <https://www.naiotechnologies.com/en/agricultural-equipment/vineyard-weeding-robot/>
- Ramos A. 2017. Avaliação da eficiência do pomar. Aplicação de modelos empíricos à produção de pêssago. In *MP Simões, +Pêssego (vol. II): Inovação nas Técnicas de Produção*, pg. 239-262. COTHN. Alcobaça (ISBN: 978-972-8785-05-5).
- Robinson TL e Lakso AN. 1991. Bases of yield and production efficiency in apple orchard systems. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116 (2): 188 194.
- Robinson TL, Lakso AN e Carpenter SG. 1991. Canopy development, yield, and fruit quality of ‘Empire’ and ‘Delicious’ apple trees grown in four orchard production systems for ten years. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116 (2): 179-187.
- Robinson TL, Lakso AN, Greene D e Hoying S. 2013. Precision crop load management. *NY Fruit Quarterly*, 21 (2): 3-9.
- Sa, I., Ge, Z., Dayoub, F., Upcroft, B., Perez, T. & Mccool, C. 2016. Deepfruits: A fruit detection system using deep neural networks. *Sensors* 16:1222.

- Simões, M.P. 2016. Manutenção do solo. In Simões, M.P. (coord). +pêssego – Guia Prático da Produção. COTHN: 57-72. ISBN 9789728785048.
- Simões, M.P., Ferreira, D. e Barateiro, A. 2017. Efeito da manta Ecoblanket em alguns parâmetros físico-químicos do solo. In Simões, M.P. (coord). +Pêssego – Inovação nas Técnicas de Produção, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional: 93-113. ISBN 9789728785055.
- Sukkarieh, S. 2016. An intelligent farm robot for the vegetable industry. VG12104. Sydney: Hort. Innovation Australia (ISBN 0 7341 3765 6).
- Veiros, A., Mesquita, R. & Gaspar, P.D. 2019. Current status and future trends in agricultural robotics. ICEUBI2019, Covilhã, Portugal.
- Veroustraete, F. 2015. The Rise of the Drones in Agriculture. EC Agriculture 2.2 (2015): 325-327.
- Wall-ye. 2019. <https://wall-ye.com/index-2.html>
- Wendel, A. & Underwood, J. 2016. Self-supervised weed detection in vegetable crops using ground based hyperspectral imaging. 2016 IEEE ICRA, Stockholm, 2016, pp. 5128-5135, doi: 10.1109/ICRA.2016.7487717.

GO PrunusFITO - Avaliação do impacto de alguns inimigos (pragas e doenças) nas culturas das prunóideas na região da Beira Interior e avaliação da eficácia de diferentes meios de luta



Parceria

APPIZÊZERE – Associação de Protecção Integrada e Agricultura Sustentável do Zêzere (**Líder**);

APPIM – Associação de Agricultores para Produção Integrada de Frutos de Montanha;

COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional – Centro de Competências;

FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

IPCB-ESA – Instituto Politécnico de Castelo Branco - Escola Superior Agrária Produtor – Gonçalo Filipe Rodrigues Batista;

Produtor – Joaquim Martins Duarte & Filhos, Lda;

SAQL – Sociedade Agrícola da Quinta de Lamaçais

Palavras-chave: pêssego; cereja; *Pseudomonas syringae*; *Ceratitis capitata*; *Drosophila suzukii*; *Asymmetrasca decedens*; *Microtus lusitanicus*.

Website: <https://goprunus.wixsite.com/prunoideas>

Investimento total: 437 268,09 €

Investimento Elegível: 387 879,64 €

Logótipos dos Parceiros



Gonçalo Filipe Rodrig



Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa



Joaquim Martins Duarte & Filhos, Lda



Objetivos do GO PrunusFITO

Cancro bacteriano - *Pseudomonas syringae*

- Monitorizar plantas e pomares com sintomatologia;
- Avaliar as condições edafoclimáticas locais, avaliando se existe algum padrão de dispersão da(s) doença(s) e monitorizar essa dispersão na região;
- Observar as relações entre as condições dos locais, as cultivares e a incidência dos cancrios, identificando práticas culturais que diminuam a probabilidade da sua instalação;
- Estabelecer um plano de atuação regional que vise a manutenção da sanidade dos pomares e o aumento da produtividade pela diminuição de perdas de plantas.

Drosophila suzukii e *Ceratitis capitata*

- Desenvolver e/ou aplicar em campo métodos de monitorização das populações aferindo a sua exequibilidade face às condições da região;
- Identificar fatores de risco;
- Identificar os iscos e armadilhas mais eficazes para monitorização ou para captura em massa;
- Definir estratégias preventivas de proteção, avaliar a eficácia de meios de proteção inovadores e a conjugação de medidas (preventivas e químicas) na limitação da proliferação das pragas;
- Identificar, das soluções químicas homologadas, as mais eficazes e a melhor oportunidade de tratamento, face às limitações de uso.

Cigarrinha-verde - *Asymmetrasca decedens*

- Confirmar a(s) espécie(s) presente(s), associando-as aos estragos observados;
- Monitorizar o ciclo de vida da praga;
- Avaliar, em 3 datas, o efeito da data da poda em verde em pessegueiros, na sua susceptibilidade à praga;

- Sensibilizar os produtores para a importância da instalação precoce de armadilhas para monitorização seguindo uma abordagem preventiva no controlo da praga.

Ratos - *Microtus lusitanicus*

- Identificar/monitorizar a praga;
- Avaliar as condições dos pomares e a sua envolvente, verificando se existe um padrão de dispersão e sua monitorização;
- Observar as relações entre essas condições e a incidência da morte de plantas, definindo as práticas culturais que limitam a praga.

Equipa do GO PrunusFITO

Entidades	Pessoas
AAPIM	Ana Celisa Abrantes;
	Francisco Vieira
APPIZÊZERE	Ana Rita Marques; Anabela Barateiro
	Cristina Ramos; Preciosa Fragoso;
	Sandra Lopes
COTHN	Carmo Martins; Helder Martins;
	Pedro Nunes
FCUL	Maria Teresa Rebelo
IPCB-ESA	Conceição Amaro; Cristina Canavarro
	João Pedro Luz; José Coutinho
	Luísa Potêncio; Maria Paula Simões
	Maria do Carmo Monteiro
SAQL, Lda	Paulo Parente
Produtor	Gonçalo Batista
Joaquim Martins Duarte e Filhos, Lda	Joaquim Duarte
Colaboração	Abel Veloso; Ana Carina Neto;
	Carlos Amado, Dora Ferreira;
	Julita Michalik; Patrícia Nascimento;
	Paulo Silvino; Rodrigo Pernadas
	Sérgio Alves; Vera Guerreiro

PrunusFITO - Avaliação do impacto de alguns inimigos (pragas e doenças) nas culturas das prunóideas na região da Beira Interior e avaliação da eficácia de diferentes meios de luta

Anabela Barateiro^{1*}, Cristina Ramos¹, Preciosa Fragoso¹, Sandra Lopes¹, Ana Celisa Abrantes², Francisco Vieira², Maria Teresa Rebelo^{3,6}, Conceição Amaro⁴, João Pedro Luz^{4,7}, José Pereira Coutinho^{4,7} e Maria Paula Simões^{4,5}

¹ APPIZÊZERE-Associação de Proteção Integrada e Agricultura Sustentável do Zêzere

² AAPIM-Associação de Agricultores para Produção Integrada de Frutos de Montanha

³ FCUL – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

⁴ IPCB-ESA -Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Quinta da Senhora de Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

⁵ CERNAS - Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Av. Pedro Álvares Cabral 12, 6000-084 Castelo Branco

⁶ CESAM – Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Campo Grande 1749-016 Lisboa, Portugal

⁷ QRural – Unidade de Investigação Qualidade de Vida no Mundo Rural, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Av. Pedro Álvares Cabral 12, 6000-084 Castelo Branco

*Email: abarateiro@gmail.pcom

Resumo

O G.O. PrunusFITO surgiu pela necessidade de conhecer melhor as dinâmicas populacionais de alguns dos inimigos mais relevantes em pessegueiro e cerejeira na Beira Interior, estabelecendo-se como prioritários o cancro, a mosca do mediterrâneo, a cigarrinha verde e ratos em pessegueiros, e a mosca de asa manchada em cerejeira.

Relativamente ao **cancro** foram realizadas observações em plantas sintomáticas de 2018 a 2020 e foi recolhido material vegetal do qual foi isolado presuntivamente, *Pseudomonas syringae* e os isolados

bacterianos foram processados através do sistema de identificação Biolog. Todas as bactérias, com identificação presuntiva de *Pseudomonas syringae* se confirmaram pertencer ao complexo *P. syringae*. O sistema de identificação Biolog não se mostrou apto para a identificação ao nível infraespecífico e consequentemente será posteriormente realizado um estudo taxonómico com base no perfil bioquímico gerado pelo Biolog.

No que respeita à **mosca do mediterrâneo**, os trabalhos desenvolvidos de 2018 a 2020 consistiram no acompanhamento dos voos da praga em 2 locais da Beira Interior, a sul e a norte da Gardunha, respetivamente. Foram instalados e acompanhados 2 ensaios de captura em massa com utilização das armadilhas com atrativo seco da Bayer (DecisTrap) e armadilhas com atrativo líquido da empresa Bioibérica (CeraTrap), em parcelas distintas. Os resultados indicam níveis populacionais com valores mais elevados na zona a sul da Gardunha. A captura em massa na parcela a norte da Gardunha revelou-se suficiente por si só, enquanto a sul, todos os anos houve necessidade de complementar com luta química.

As **cigarrinhas verdes** foram sinalizadas como emergentes nos pessegueiros na região, onde têm aparecido com frequência e causado estragos em plantas jovens. A monitorização decorreu em 2 pomares na zona a sul da Gardunha. Em 2018 foram colocadas e recolhidas semanalmente 4 armadilhas cromotrópicas amarelas/pomar, de abril a setembro. Em 2019 e 2020 aumentou-se para 6 armadilhas/pomar e alargou-se o período até novembro. Os resultados indicam níveis populacionais elevados de *Empoasca solani*, na primavera e início do verão, muito elevados de *Asymmetrasca decedens* no verão e outono e que a poda em verde pode potenciar os ataques, pois em 2018 e 2019, após esta operação, os novos rebentos não se desenvolveram e apresentaram sintomas intensos dos ataques destes insetos.

No que diz respeito ao **rato-cego** (*Microtus lusitanicus*) foram realizados censos de densidade relativa da espécie, em pomares de pessegueiro,

nos períodos de primavera e de outono, com o objetivo de relacionar a densidade relativa com os indicadores de presença e com os estragos causados. Os resultados indicam diferentes densidades relativas e diferentes níveis de estragos em diferentes pomares.

Os trabalhos sobre *Drosophila suzukii*, de 2018 a 2020, consistiram na monitorização da espécie em 3 pomares de cerejeira (Soalheira, Alcongosta e Vale Formoso) e um pomar de mirtilo (Ferro). Complementarmente foi feita a monitorização em mais 2 pomares de medronheiro (Pampilhosa-da-Serra e Castelo Branco). De abril a julho foram colocadas 3 armadilhas/local com diferentes atrativos alimentares – vinagre de cidra, atrativo “composto de vinagre” da empresa Mendes Gonçalves SA e atrativo “Suzukii Trap”, da empresa Bioibérica. Em 2019 e 2020 fez-se a monitorização durante todo o ano, para estudar a flutuação populacional e instalou-se um ensaio de cinco atrativos alimentares, em cerejeira. Os resultados indicam um comportamento diferencial dos atrativos alimentares usados. Estes trabalhos permitem conhecer melhor o comportamento da espécie na cultura da cerejeira na Beira Interior, aspeto essencial para a definição de melhores estratégias de proteção.

Palavras-chave: *Asymmetrasca decedens*; *Ceratitis capitata*; cereja; *Drosophila suzukii*; pêssago; *Pseudomonas syringae*.

Abstract

The Operational Group PrunusFITO emerged from the need to better understand the dynamics of some of the most relevant enemies in peach and cherry trees in Beira Interior, with priorities to bacterial canker, Mediterranean fruit fly, leafhoppers, and Lusitanian pine voles on peach trees and the spotted wing drosophila on cherries.

Regarding **bacterial canker**, observations were made on symptomatic plants from 2018 to 2021 and plant material with symptoms was collected. The bacterial isolates had a presumptive identification as *Pseudomonas syringae*. The identification system was not shown to be

suitable for identification at the infra-specific level and, consequently, a taxonomic study will be carried out based on the biochemical profiles generated by the Biolog system.

Regarding the **Mediterranean fruit fly**, the work carried out from 2018 to 2020 consisted of monitoring the flights of the pest at two locations in Beira Interior, south and north of Gardunha, respectively. Two mass capture tests were installed and monitored using Bayer's dry attracting traps (DecisTrap) and liquid attracting traps from Bioibérica (CeraTrap) in different plots. The results indicate population levels with higher values in the area south of Gardunha. Mass capture in the northern part of Gardunha proved to be sufficient, while in the south every year there was a need to supplement with chemical control.

Leafhoppers have been signalled as emerging on peach trees in the region, where they have appeared frequently and caused losses on young plants. Monitoring took place in two orchards in the area south of Gardunha mountain. In 2018, four yellow chromotropic traps were placed in each orchard and the insects counted weekly, from April to September. In 2019 and 2020 the plots were increased to six orchards and the collecting period was extended until November. The results indicate very high population levels and that summer pruning can enhance the outbreaks, because in 2018 and 2019, after this operation, the new shoots did not develop well and showed symptoms of the insect presence.

Regarding the **Lusitanian pine vole** (*Microtus lusitanicus*) in peach orchards, relative density censuses of the species were carried out in the spring and autumn periods to link the relative density with the indicators presence and damage caused. The results indicate different relative densities and different levels of damage in different orchards.

The work on ***Drosophila suzukii***, from 2018 to 2020, consisted of monitoring the species in three cherry orchards (Soalheira, Alcongosta, and Vale Formoso) and a blueberry orchard (Ferro). From April to July, three traps were placed per location with different attractants – cider

vinegar, “vinegar compound” attractant from Mendes Gonçalves, and “Suzukii Trap” attractant from the company Bioibérica. In 2019 and 2020, monitoring was carried out throughout the year to study population fluctuation and a test of five attractants in cherry were installed. The results indicate a differential behaviour of the used attractants. These works allow us to better understand the behaviour of the species in cherry growing in Beira Interior, an essential aspect for the definition of better control methods.

Keywords: *Asymmetrasca decedens*; *Ceratitis capitata*; cherry; *Drosophila suzukii*; peach; *Pseudomonas syringae*.

Introdução

A Beira Interior é uma zona de produção de prunóideas por excelência, principalmente cereja e pêssago, sendo a região com maior área ocupada por estas culturas e maior produção a nível nacional. Sendo culturas já bem enraizadas no contexto regional e havendo uma enorme tradição no seu cultivo, têm vindo a ser alvo de problemas fitossanitários emergentes na região e de agravamento de outros e que têm sido responsáveis por elevadas perdas nos pomares da região.

Nos pessegueiros, principalmente em novas plantações, têm surgido, com uma expressiva incidência, cancos parasitários provocados pela bactéria *Pseudomonas syringae* (Figura 1) e/ou pelo fungo *Diaporthe amygdali* (= *Fusicoccum amygdali*) e que têm levado à



Figura 1 – Sintomas de cancro bacteriano em pessegueiro.

morte de ramos ou árvores inteiras, registrando-se frequentemente avultados prejuízos.

A mosca do mediterrâneo (*Ceratitis capitata*) é um inimigo identificado na região há já bastantes anos, mas tem sido um problema crescente, afetando grande parte das cultivares com colheita a partir de meados de julho, atingindo maiores proporções na região a sul da serra da Gardunha.

As cigarrinhas verdes são uma praga emergente nos pomares de pessegueiros da região e em particular *Asymmetrasca decedens* é responsável por estragos importantes (Coutinho et al., 2015), tanto em plantas jovens, comprometendo o seu desenvolvimento, como em plantas mais velhas, após a poda em verde, debilitando os novos lançamentos.

Os ratos são atualmente, à semelhança da mosca do mediterrâneo, um problema que tem vindo a atingir maiores proporções, sendo responsáveis por elevados prejuízos nos pomares de prunóideas desta região, com especial relevância em pessegueiros, fazendo destes, um dos inimigos potenciais para a cultura podendo atingir a posição de inimigo-chave.

A *Drosophila suzukii* surgiu em pomares de cerejeiras na região da Beira Interior no ano de 2013, contudo foi em 2015 que a sua presença foi mais notada, tendo ocasionado estragos importantes nalgumas cultivares e parcelas.

Material e métodos

***Pseudomonas syringae* - Cancro bacteriano**

Porque os cancrios bacterianos têm tido uma expressão muito grave na região, no projeto está a ser avaliada a etiologia dos cancrios do pessegueiro e foi realizada a identificação através dos aspetos morfológicos das culturas puras em meios semi-seletivos e perfis bioquímicos usando o sistema de identificação microbiano Biolog GEN III Microplate (Biolog Inc., Hayward, CA, USA). Nas prospeções

realizadas, durante a duração do projeto, de 2018 até à data, foram processados 34 isolados.

Após isolamento em cultura pura, primeiro em agar nutritivo com 5% de sacarose (NSA) suplementado com 2% de cristal violeta e, posteriormente repicada para NSA, as colónias exibindo a forma característica domoide e cerosa (Figura 2) foram identificadas presuntivamente como pertencendo ao género *Pseudomonas*.



Figura 2 – Colónias características de *Pseudomonas syringae* em NSA.

Para a identificação foram selecionados alguns isolados mais característicos e cultivados em agar nutritivo com extrato de levedura (YNA – extrato de carne 4 g, peptona 5 g, extrato de levedura 2,5 g, NaCl 5 g, agar 15 g e água 1 L), durante 16 a 18 horas de idade a uma temperatura de 24°C.

Colónias bacterianas dos isolados selecionados foram suspensas no fluido de inoculação A (Biolog Inc., Hayward, CA, USA) obtendo-se uma concentração com transmitância de 95-98%, medida em turbidímetro (Biolog Inc., Hayward, CA, USA). De seguida, as microplacas GEN III foram inoculadas com a suspensão obtida e incubadas a 30°C durante

24 horas. A leitura dos resultados foi realizada através de um fotômetro de microplacas (Multiskan™ FC, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) munido de um filtro ótico de 596 nm.

O limite de positividade foi considerado 0,4 de absorvância. Assim, todos os poços das colunas 1 a 9 com valor de absorvância igual ou superior a 0,4 foram considerados positivos. Nas colunas 10 a 12, os poços com valor de absorvância igual ou superior a 50% da absorvância do poço A10 são considerados positivos. A leitura dos resultados foi introduzida no sistema Biolog (GEN III Data Collection) e a identificação realizada por comparação com a base de dados GEN III (Biolog Inc., Hayward, CA, USA).

***Ceratitis capitata* – Mosca do mediterrâneo ou da fruta**

Face ao habitual comportamento da praga na região decidiu-se monitorizá-la em duas zonas distintas, a norte e a sul da serra da Gardunha, respetivamente em Lamaçais e na Soalheira. As duas localizações apresentam condições climáticas distintas, tendo sido observado uma temperatura média superior na Soalheira comparativamente a Lamaçais, em 2015 e 2016 (Simões et al., 2017).

A monitorização foi feita em 3 anos (2018, 2019 e 2020), de julho a outubro.

A norte da serra da Gardunha utilizaram-se sempre armadilhas cromotrópicas amarelas com feromona, da Biosani (Figura 3A). O ensaio foi instalado numa parcela em Lamaçais, em 2018 e 2019. Em 2020, a parcela de Lamaçais foi arrancada e o acompanhamento passou a ser feito numa parcela em Belmonte.

A sul da serra da Gardunha, o ensaio foi instalado numa parcela na Soalheira. Em 2018, utilizaram-se 2 armadilhas Delta com trimedlure da empresa Biosani (Figura 3B). Nos anos 2019 e 2020 utilizou-se 1 armadilha Delta e 2 armadilhas Tephri com atrativo alimentar para

fêmeas (Econex Trypack Compact), conjuntamente com difusor de inseticida (Econex Snailnex) da empresa Econex (Figura 3C).



Figura 3 – A - Armadilha cromotrópica amarela com trimedlure para captura de machos; **B** - Armadilha Delta com trimedlure para capturas de machos; **C** - Armadilha Tephri com atrativo alimentar para fêmeas conjuntamente com difusor de inseticida.

Semanalmente, observaram-se frutos, desde aproximadamente 30 Dias Após Plena Floração até 1 mês antes do início previsto para colheita.

Para além da monitorização referida avaliou-se o efeito da captura em massa no controlo da praga, utilizando-se 2 produtos distintos, atrativo líquido da Bioibérica e atrativo seco da Bayer (Figuras 4 e 5).



Figura 4 – Garrafa para captura em massa de mosca do mediterrâneo, com atrativo líquido da empresa Bioibérica, Soalheira – **2019**



Figura 5 – Garrafa para captura em massa de mosca do mediterrâneo, com atrativo seco da empresa Bayer, Lamaçais - **2018**

Na parcela da Soalheira, com 1 ha da cultivar 58:GC:76, de colheita tardia, em 2018 e 2019, a captura em massa foi realizada com o atrativo líquido da Bioibérica, utilizando-se 80 armadilhas/ha, como indicado pela empresa e, em 2020, aumentou-se esse número para 120 armadilhas/ha. As armadilhas foram colocadas no final da fase de desenvolvimento dos frutos, cerca de 1 mês antes da previsão de colheita. Na Soalheira, foram colocadas em 14 de agosto de 2018, a 09 de julho de 2019 e a 23 de julho de 2020, tendo a colheita sido iniciada em 05 de setembro, 19 de agosto e 22 de agosto, respetivamente para os três anos.

A parcela de Lamaçais, com cerca de 0,65 ha da cultivar Gladys foi arrancada no final de 2019 e alterou-se o local de instalação para Belmonte, tendo o ensaio sido instalado numa parcela com a cultivar Extreme 486, que é também uma cultivar tardia e difundida na região. Foram utilizadas armadilhas de isco seco da Bayer (Figura 5), nos 3 anos, utilizando 80 armadilhas/ha, de acordo com a recomendação da empresa. As armadilhas foram colocadas nos dias 22 de agosto de 2018, 25 de julho de 2019 e 10 de agosto de 2020, iniciando-se a

colheita em 04 de setembro de 2018, 16 de agosto de 2019 e 25 de agosto de 2020.

***Asymmetrasca decedens* e *Empoasca solani* – Cigarrinhas verdes**

A monitorização das cigarrinhas verdes decorreu em dois pomares localizados no Lourçal do Campo e na Póvoa de Atalaia. Ambos os pomares englobam múltiplas cultivares de pessegueiro e são certificados em Produção Integrada, sendo sujeitos a irrigação gota-a-gota e técnicas cultivares periódicas como a poda, o controlo de infestantes (com aplicação de herbicidas na linha e remoção mecânica na entrelinha) e a aplicação ocasional de pesticidas para as doenças e pragas como o oídio ou a mosca-do-Mediterrâneo.

Usaram-se armadilhas adesivas cromotrópicas ama-relas (20 cm × 25 cm), da Biosani (Figura 3), que foram substituídas semanalmente. Em 2018, a monitorização decorreu entre abril e setembro (22 semanas), tendo sido colocadas quatro armadilhas por pomar e em 2019 e 2020, entre abril e novembro (30 semanas), com colocação de seis armadilhas por pomar. Para avaliar o efeito da poda em verde na suscetibilidade dos pessegueiros ao ataque das cigarrinhas verdes, em 2018, podaram-se, em cada pomar, nove pessegueiros: o monitorizado e os oito adjacentes. Já em 2019, foram podadas entre 24 e 30 árvores em torno dos pessegueiros com armadilhas cromotrópicas, também esses sujeitos à poda, em três locais por pomar. O aumento do número de armadilhas por pomar permitiu ampliar os replicados da poda em verde para melhor avaliar o seu impacto no ataque das cigarrinhas verdes.

O armazenamento e transporte das armadilhas para a FCUL foi feito em estruturas desenvolvidas pelo Prof. Doutor José Pereira Coutinho com o objetivo de minimizar os danos nos exemplares capturados (Figura 6 A-B). Os exemplares foram triados e identificados na FCUL até ao nível taxonómico mais baixo possível, por observação da sua morfologia à lupa.

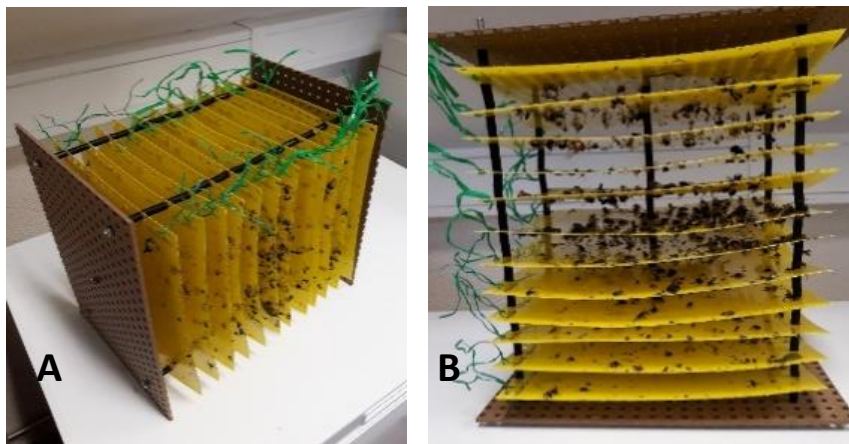


Figura 6 A-B - Armadilhas cromotrópicas amarelas utilizadas na monitorização de cigarrinhas-verdes colocadas na estrutura desenvolvida para o armazenamento e transporte mais eficiente até ao seu processamento em laboratório.

***Microtus lusitanicus* – Rato cego**

Pelo conhecimento do comportamento da praga optou-se por fazer a sua monitorização nas duas épocas de maior atividade nos pomares – na primavera e no outono. A monitorização decorreu nos anos de 2018, 2019 e 2020. As prospeções para avaliar a praga foram realizadas para avaliar a existência de atividade recente e estabelecer as unidades de observação. A atividade recente foi definida pela existência de buracos no solo com indícios “frescos” da passagem de ratos.

Foi estabelecido que a unidade de amostragem de um pomar teria que ter condições para serem colocados 100 iscos em buracos com evidência de passagem recente de ratos, numa área que não deveria ser superior a 2000 m².

Os buracos de colocação do isco foram identificados com uma estaca (Figura 7-A). O isco seria constituído por maçã fatiada, colocada de forma a ficar no interior do buraco, mas visível (Figura 7-B), para ser

retirada e avaliada após 24 horas. A contabilização corresponde à existência de sinais de roedura por parte dos ratos ou ao desaparecimento do isco (Figura 7-C).



Figura 7 – A - Marcação dos locais (buracos) de colocação do isco (maçã fatiada); **B-** Buraco com isco de maçã fatiada com sinais de passagem recente de ratos; **C-** Isco roído, no período de 24 horas após colocação.

Os pomares para acompanhamento ficaram definidos no primeiro ano, pela quantidade e consistência da presença a praga. Contudo, a atividade de prospeção foi contínua, procurando a presença e atividade dos ratos noutros pomares.

A gestão do enrelvamento e controlo de infestantes na linha foram deixados livremente a cargo dos produtores, não havendo indicações para a intervenção, por forma a relacionar a população de ratos e a sua dinâmica, com fatores reais de campo.

***Drosophila suzukii* – Mosca-de-asa-manchada ou Drosófila-de-asa-manchada**

A monitorização foi realizada na cultura da cerejeira, em três locais, com condições climáticas diferenciadas: em Soalheira, a sul da serra da Gardunha, em Alcongosta e Vale Formoso, a norte da serra da Gardunha, nos anos 2018, 2019 e 2020.

armadilhas comerciais os atrativos foram colocados conforme as indicações do fabricante, tal como as armadilhas.

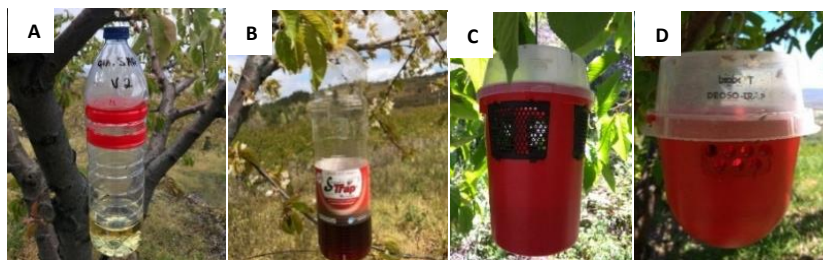


Figura 9 - A - Armadilhas tipo “Garrafa Pet” com fita vermelha; **B** - “Suzukii trap Bioibérica”; **C**- Drososan Koppert; **D** - Droso Trap Biobest

Os atrativos foram renovados de 3 em 3 semanas, com exceção das armadilhas comerciais, que se mantiveram todo o período recomendado pelo fabricante.

Os insetos foram recolhidos semanalmente e observados em laboratório, à lupa binocular, com contagem de machos e de fêmeas. Em 2018, em Soalheira e Alcongosta, foram contabilizados os auxiliares himenópteros capturados nas armadilhas “Garrafa Pet + vinagre de cidra”, “armadilha Garrafa Pet + vinagre de cidra + fita vermelha” e armadilhas comerciais “suzukii trap Bioibérica”.

Principais Resultados

Pseudomonas syringae - Cancro bacteriano

Os resultados da identificação dos isolados bacterianos de pessegueiro, realizados entre 2018 e 2021, podem-se observar no Quadro 1. Foram também incluídos resultados de quatro isolados de cerejeira obtidos em 2019, na mesma região abrangida pelo projeto do GO – PrunusFITO.

Quadro 1 – Número e origem dos isolados dos organismos causadores de cancro bacteriano entre 2018 e 2021.

Hospe- deiro	Identificação Biolog	Ano	Material vegetal	Nº. isolados	Freguesia	Concelho	
Pesse- gueiro	<i>Pseudomonas syringae</i>	2018	Flor	3	Gonçalo	Guarda	
				2	Teixoso	Covilhã	
			Ramo	2	Gonçalo	Guarda	
				2	n/d		
		Tronco	2	Gonçalo	Guarda		
		em processamento	2019	Ramo	2	Inguias	Belmonte
				5	n/d		
				2	Colmeal da Torre	Belmonte	
				5	Inguias	Belmonte	
	2021		Ramo	1	Teixoso	Covilhã	
				1	V.Formoso	Covilhã	
				1	Três Povos	Fundão	
				Tronco	1	Inguias	Belmonte
				1	Teixoso	Covilhã	
Total			30				
cerejeira	<i>Pseudomonas syringae</i>	2019	Ramo	1	Enxames	Fundão	
				1	Ferro	Covilhã	
			Tronco	1	Enxames	Fundão	
				1	Ferro	Covilhã	

n/d – não determinado.

Foram identificados como *Pseudomonas syringae* 18 isolados em pessegueiro em 2018 e 2019 e presuntivamente mais 12 isolados em 2021. Em 2020, não foi realizado trabalho experimental porque o Laboratório de Proteção Vegetal do Instituto Politécnico de Castelo Branco se encontrava encerrado por razões associadas aos estados de emergência.

Todos os isolados com colónias bacterianas características de *P. syringae* em meio de cultura NSA foram identificadas pelo sistema Biolog como pertencendo a essa espécie. A identificação infraespecífica

ao nível do patovar indicada pelo sistema Biolog não foi reconhecida nos hospedeiros em causa e por conseguinte essa identificação não é apresentada.

***Ceratitis capitata* – Mosca do mediterrâneo ou da fruta**

A monitorização da mosca do mediterrâneo na região da Beira Interior indica que as capturas se iniciam em junho/julho, sendo em setembro que se observa a densidade populacional mais elevada (Figura 10 e 11). Os resultados indicam uma grande variabilidade na população da praga, observando-se diferenças entre anos e entre parcelas, tanto no que respeita ao número de capturas de mosca nas armadilhas de monitorização, como nos estragos observados à colheita, tanto nas parcelas com captura em massa, como nas parcelas testemunha.

Considerando as parcelas a norte da serra da Gardunha (Lamaçais e Belmonte), e com base nas armadilhas de monitorização, em 2018, não se registaram capturas e as capturas em 2019 e 2020 foram sempre baixas (Quadro 2).

Quadro 2 – Capturas de *C. capitata* na parcela a norte da Gardunha (Lamaçais e Belmonte).

	julho	agosto	Frutos com mosca
2019	2 (25 julho)	1 (7 agosto)	1% (testemunha)
		1 (16 agosto)	Sem estragos na parcela com captura em massa
2020		1 (17 agosto)	Sem estragos

Considerando a parcela a sul da serra da Gardunha (Soalheira), em 2018, para além de se registarem capturas muito baixas, com o primeiro registo no final de julho, não houve necessidade de se intervir quimicamente na parcela com captura em massa.

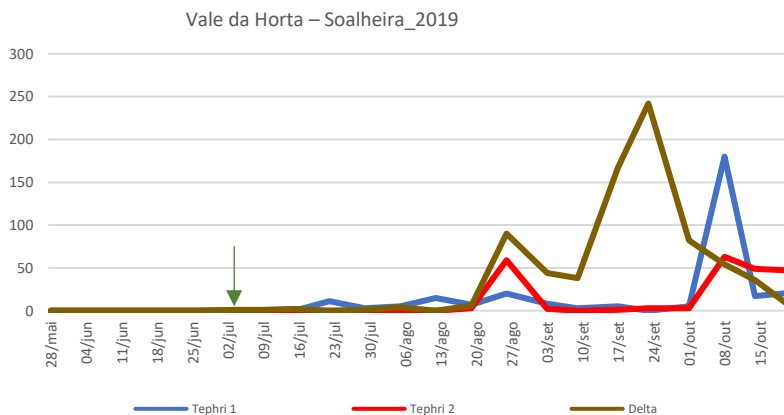


Figura 10 – Índices populacionais de *C. capitata* na parcela da Soalheira, em 2019

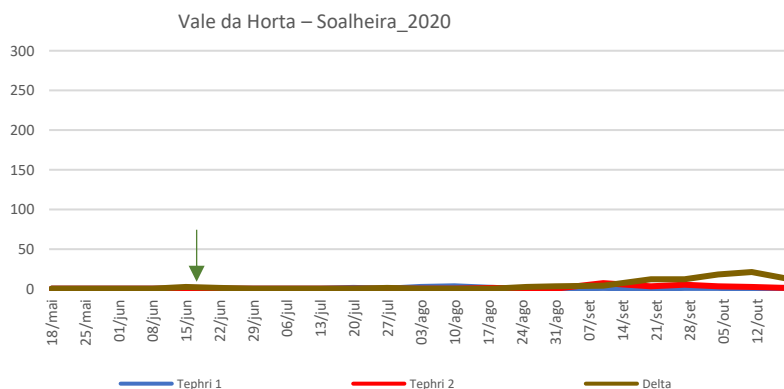


Figura 11 – Índices populacionais de *C. capitata* na parcela da Soalheira, em 2020

Em 2019, as capturas nas armadilhas de monitorização foram mais elevadas que em 2020, como se pode observar nas Figuras 10 e 11, tendo-se registado um máximo de 242 capturas em 24 de setembro com a armadilha Delta, sendo nesta armadilha onde se observam as primeiras capturas. Na armadilha Tephri 1 o máximo ocorreu a 8 de

392

outubro com 180 capturas. Com a armadilha Tephri 2 registaram-se dois picos de captura, nomeadamente, a 26 de agosto (59 capturas) e um segundo pico em 8 de outubro (63 capturas).

Em 2020, a 1ª captura ocorreu em 8 de junho, uma semana mais cedo do que em 2019, mas, a população permaneceu sempre baixa com o máximo de capturas em 12 de outubro, na armadilha Delta, com 25 capturas. Nesta data, a praga já não representa um risco pois as cultivares tardias na região da Beira Interior terminam o período de colheita habitualmente no final de setembro (Ferreira et al., 2017; Nunes et al., 2017).

***Asymmetrasca decedens* e *Empoasca solani* – Cigarrinhas verdes**

Na Primavera observou-se uma maior abundância de *Empoasca solani*, surgindo posteriormente *Asymmetrasca decedens* (Figura 12), acompanhando a subida das temperaturas, a partir de julho, sendo de longe, a espécie dominante da comunidade de *Auchenorrhyncha*. Esta diferença temporal ocorrida nos pomares de pessegueiros em estudo, pode refletir os diferentes requisitos ecológicos das duas espécies de cigarrinhas verdes e ocorrer para minimizar a competição entre ambas. As cigarrinhas verdes apresentaram uma maior abundância relativa no Louriçal do Campo, que poderá estar relacionada com a proximidade deste pomar a vegetação ripícola, que constituem áreas de refúgio para *A. decedens*.

Após a realização da poda em verde, *A. decedens* aumentou a sua abundância em 2018 e 2019. Aliado ao impacto desta técnica na fragilização das árvores jovens, a poda em verde não foi realizada em 2020.

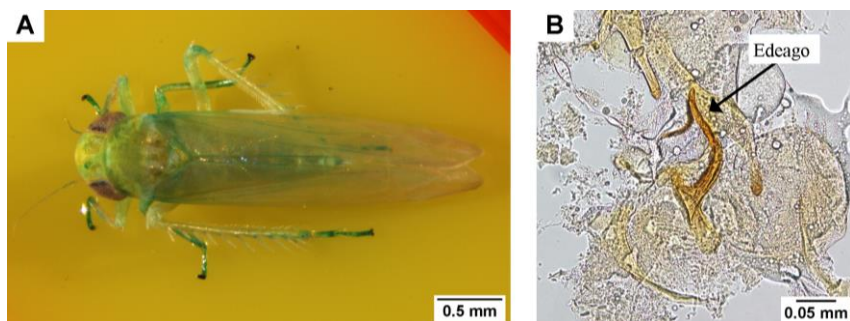


Figura 12 – Adulto (A) e genitália do macho (B) de *Asymmetrasca decedens*.

A resistência de *A. decedens* a vários inseticidas é conhecida, sendo um dos maiores desafios à sua gestão. Nos pomares estudados observou-se um decréscimo abrupto de capturas da espécie que coincidiu com a aplicação de acrinatrina, o que sugere a influência deste inseticida sistémico nas cigarrinhas verdes. Já a aplicação de lambda-cialotrina, usada contra a mosca-do-mediterrâneo não mostrou qualquer efeito na população de *A. decedens*.

É de referir a presença, nos pomares estudados, de espécies de *Auchenorrhyncha* que são potenciais vetores de agentes patogénicos de diferentes culturas, nomeadamente vinha, cenoura, batata e tomate (Guerreiro, 2020 e Nascimento, 2020).

Apesar de capturados em número reduzido, é também de salientar a ocorrência de *Philaenus spumarius*, *Neophilaenus campestris*, *Cicadella viridis* e *Cercopis intermedia* potenciais vetores de *Xylella fastidiosa*, bactéria fitopatogénica emergente na Europa, detetada no norte de Portugal em janeiro de 2019, que, entre outras plantas de interesse económico, causa a conhecida “Phony Peach Disease”, em pessegueiro (Redak et al., 2004).

Registou-se ainda e pela primeira vez em Portugal Continental, *Sophonia orientalis*, uma espécie exótica (Neto et al., 2021).

***Microtus lusitanicus* – Rato cego**

No primeiro ano do projeto (2018), foi realizada a prospeção em 21 pomares de pessegueiros para monitorização da atividade dos ratos, tanto na primavera como no outono, tendo sido utilizados os quatro pomares que apresentaram um maior número de buracos de ratos e consistência temporal da sua presença. Foram realizadas observações em 2018, 2019 e 2020.

Em 2018, como se pode observar na Figura 13, na avaliação de primavera verificou-se uma percentagem de iscos roídos/desaparecidos muito diferente entre os pomares avaliados, que variou entre 97% no pomar A e 7% no pomar D. No outono a percentagem de iscos roídos/desaparecidos foi mais regular entre pomares, que variou entre 55% no pomar C e 40% no pomar D. No pomar A observou-se uma maior atividade no período de primavera e nos pomares B, C e D ocorreu maior atividade no período de outono.

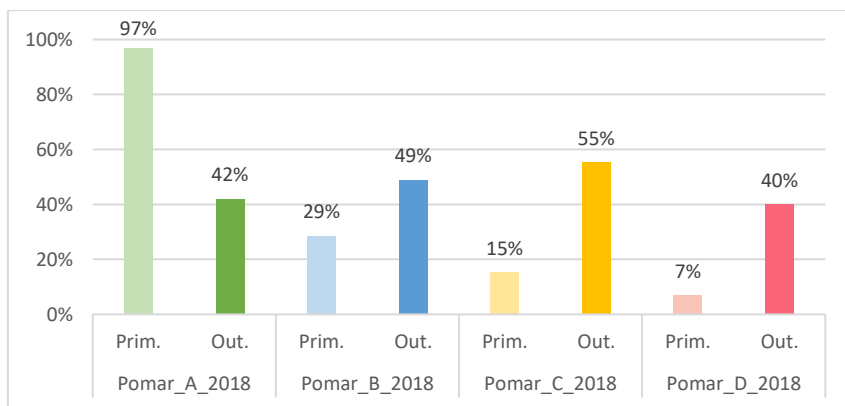


Figura 13 – Atividade de ratos, em percentagem de iscos roídos/desaparecidos, em 2018.

No ano de 2019, para as épocas de primavera e de outono foram realizadas 5 avaliações em cada pomar, mas apresentam-se só os resultados máximos.

No pomar A observou-se uma maior atividade no período de primavera, com 100 % de iscos roídos/desaparecidos, que no período de outono, com um máximo de 81% (Figura 14). Nos pomares B, C e D ocorreu o oposto e a quantidade de iscos roídos/desaparecidos no período de primavera foi inferior ao ocorrido no período de outono. Nos pomares B, C e D a quantidade máxima de iscos roídos/desaparecidos no período de primavera foi de 47%, 50% e 27%, respetivamente e no outono foi de 97%, 91% e 72%, respetivamente.

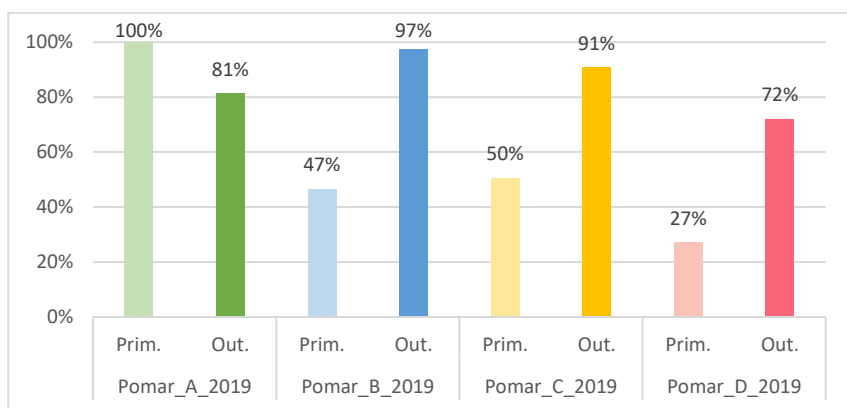


Figura 14 – Atividade de ratos, em percentagem de iscos roídos/desaparecidos, em 2019.

No ano de 2020 (Figura 15), no pomar A observou-se um máximo de 100 % de iscos roídos/desaparecidos na primavera, e no outono não se observou qualquer atividade. No pomar B observou-se 50% de iscos roídos na primavera e 38% no outono. No pomar C observou-se um máximo de 92% de iscos roídos/desaparecidos na primavera e 58% no outono, sendo este o pomar onde se observou maior atividade outonal. No pomar D observou-se um máximo de 96% de iscos roídos/desaparecidos na primavera e 54% no outono. No levantamento de outono foi realizada apenas uma avaliação em cada um dos pomares, à exceção do pomar A, em que não se colocaram iscos por não existir atividade (buracos recentes) de ratos.

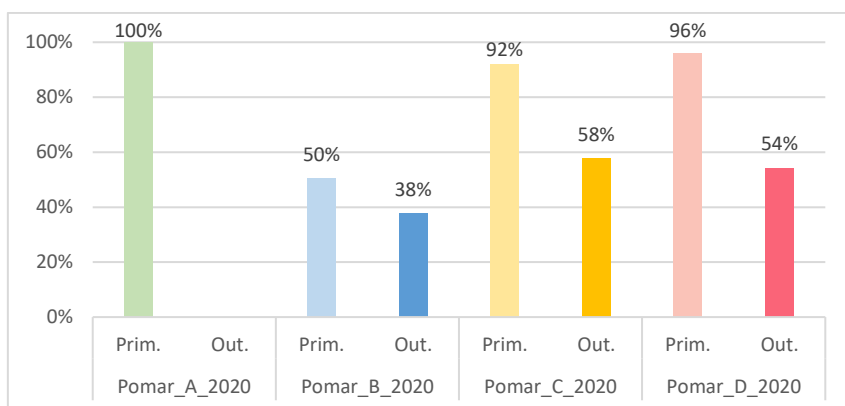


Figura 15 – Atividade de ratos, em percentagem de iscos roídos/desaparecidos, em 2020.

Da análise aos resultados verifica-se que os ratos têm uma presença constante e significativa nos pomares monitorizados, que se caracterizam por solos de textura mediana a pesada que preservam melhor a humidade. Nos outros pomares utilizados na prospeção inicial e com observação visual durante o mesmo período 2018 a 2020, a quantidade de buracos é muito mais baixa e o período em que se observa alguma atividade é mais curto.

***Drosophila suzukii* – Mosca-de-asa-manchada ou Drosófila-de-asa-manchada**

A armadilha “Garrafa Pet + vinagre de cidra” foi menos eficiente na captura que as armadilhas “Garrafa Pet + vinagre de cidra + fita vermelha” e estas duas menos eficientes do que a armadilha comercial “suzukii trap Bioibérica”. Assim, a partir de 2019, todas as armadilhas Pet passaram a incorporar fita vermelha. Por sua vez obtiveram-se, na generalidade, maiores capturas nas armadilhas comerciais “Suzukii trap Bioibérica” do que nas armadilhas Garrafa Pet + atrativo comercial “composto de vinagre Mendes Gonçalves SA”.

As capturas no outono-inverno foram muito superiores às de primavera-verão. Observaram-se populações de *D. suzukii* desde a primeira semana de capturas, em todos os anos.

Na generalidade, no início da primavera, temos um desfasamento temporal no quantitativo de capturas de *D. suzukii* a sul e a norte da serra da Gardunha, sendo as capturas maiores a sul que a norte inicialmente, devido às diferentes condições climáticas entre os dois lados da serra.

Nos pomares de medronheiro, apesar de terem sido observadas capturas muito elevadas nas armadilhas, não se observaram medronhos infestados com *D. suzukii*.

Referências Bibliográficas

- Coutinho, J.P., Amado, C., Barateiro, A., Quartau, J.A., Rebelo M.T. 2015. First record of the leafhopper *Asymmetrasca decedens* (Homoptera: Cixiellidae) in mainland Portugal. *Rev. Ciênc. Agrár.* 38 (2), 213-219. <https://revistas.rcaap.pt/rca/article/view/16917/13779>
- Ferreira, D., Veloso, A., Gouveia, C., Gavinhos, C. e Simões, M.P. 2017. Qualidade dos pêssegos recolhidos e analisados pela ESACB. In Simões, M.P. (coord). +Pêssego – Resultados de Apoio à Gestão, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional. Empresa Diário do Porto, Lda., Porto, pp 33-49. ISBN 9789728785062.
- Guerreiro, V. 2020. Monitorização e medidas de gestão de Auchenorrhyncha em pomares de prunóideas na Beira Interior: estudo de caso de *Asymmetrasca decedens*. Mestrado em Ecologia e Gestão Ambiental. FCUL. <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/45536>
- Nascimento, P. 2020. Auchenorrhyncha monitoring and proposal of management measures for potential pests on peach orchards in Beira Interior region. Mestrado em Biologia Humana e Ambiente. FCUL. <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/45399>

- Neto, A.C., Mateus, C., Andrade, E., Barateiro, A., Bigolin, M., Chaves, M., Guerreiro, V., Pereira, F., Soares, C., Tomé, D., Coutinho, J.P., Franco, J.C., Rebelo, M.T. 2021. First record of the invasive leafhopper *Sophonia orientalis* in mainland Portugal. *J. Pest Sci.* 94, 241–249. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01289-5>
- Nunes, A., Pintado, C.M., Beato, H., Paulo, L., Resende, M. e Antunes, P. 2017. Qualidade dos pêssegos recolhidos e analisados pela CATAA. *In* Simões, M.P. (coord). +Pêssego – Resultados de Apoio à Gestão, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional. Empresa Diário do Porto, Lda., Porto, pp: 51-66. ISBN 9789728785062.
- Redak, R.A., Purcell, A.H., Lopes, J., Blua, M.J., Mizel III, R.F., Andersen, P.C. 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annu. Rev. Entomol.* 49, 243-270. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123403>
- Simões, M.P., Ferreira, D., Barateiro, A., Ramos, C., Fragoso, P., Lopes, S. 2017. Período de floração dos pessegueiros na região da Beira Interior. *In*: Simões, M.P. (coord). +Pêssego – Resultados de Apoio à Gestão, Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional. Empresa Diário do Porto, Lda., Porto, pp 17-27. ISBN 9789728785062.

GO PrunusPÓS - Otimização de processos de armazenamento, conservação em frio, embalagem ativo e/ou inteligente, e rastreabilidade da qualidade alimentar no pós-colheita de produtos frutícolas

PRUNUSPÓS

Parceria

Cerfundão – Organização de Produtores (**Líder**);

CATAA – Associação Centro Apoio Tecnológico ao Agro-Alimentar;

Cerejorange;

COTHN-CC – Centro Operativo Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de competências

IPCB-ESA – Instituto Politécnico de Castelo Branco - Escola Superior Agrária;

SAQL – Sociedade Agrícola Quinta de Lameçais;

UBI – Universidade da Beira Interior.

Palavras-chave: pêsego; cereja; refrigeração; atmosfera controlada; embalagem.

Website: <https://goprunus.wixsite.com/prunoideas>

Investimento total: 462 588,25 €

Investimento elegível: 411 786,97 €

Logótipos dos Parceiros



Cerejorange
Sociedade
Agrícola, Lda



Objetivos do GO PrunusPÓS

Conhecer os efeitos qualitativos da aplicação de frio na conservação da cereja e pêsego;

1. Quantificar tempos e parâmetros de operação de referência nas diferentes etapas de conservação e armazenamento dos produtos frutícolas, recorrendo a avaliação experimental em câmaras de refrigeração com atmosfera controlada e embalagens com atmosfera modificada e simulação numérica.
2. Desenvolver uma ferramenta computacional provisional que permita otimizar o tempo de permanência em cada etapa do processo de conservação e armazenamento, assegurando a qualidade do produto.
3. Desenvolver embalagens ativas ou inteligentes apropriadas à extensão da vida útil dos pêsegos e cerejas, recorrendo a novas tecnologias e materiais.
4. Desenvolver um manual técnico de recomendações para as condições ambientais de referência nas diferentes etapas do processo de armazenamento e conservação em frio.

Equipa do GO PrunusPÓS

Entidades	Pessoas
CATAA	Ana Riscado; Ana Silveira
	Christophe Espírito Santo
	Cristina Miguel Pintado
	Helena Beato; Luísa Paulo
	Mafalda Resende
Cerejorange	Fernando Proença
Cerfundão	Filipe Costa
COTHN	Carmo Martins; Catarina Ribeiro
	Helder Coelho; Patrícia Anaia
IPCB-ESA	Abel Veloso
	Cristina Canavarro
	João Pedro Luz
	José Nunes
	Luís Pinto de Andrade
	Maria Conceição Amaro
	Maria Paula Simões
Soc. Agrícola Quinta de Lamaçais	Paulo Parente
UBI	Pedro Dinis Gaspar
	Pedro Dinho Silva
	Diogo Moraes; Sasi Kumar
Colaboração	Cristina Rodrigues; Dora Ferreira
	Yuran Belane; Inês Brandão
	Catarina Caseiro; João Reis
	Ângela Estevam; Beatriz Azinheira
	Mariana Fernandes;
	Tatiana Venâncio
	Mara Ribeiro; Ersa Payasli

PrunusPÓS - Otimização de processos de armazenamento, conservação em frio, embalagem ativo e/ou inteligente, e rastreabilidade da qualidade alimentar no pós-colheita de produtos frutícolas.

Maria Paula Simões^{1,4*}, Abel Veloso^{1,4}, Pedro D. Gaspar^{3,5}, Christophe Espírito Santo^{2,6}, Pedro D. Silva^{3,5} e Luís P. Andrade^{1,4}

¹ IPCB-ESA - Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Quinta da Senhora de Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

² CATAA – Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar, Zona Industrial de Castelo Branco, Rua A, 6000-459 Castelo Branco

³ UBI – Universidade da Beira Interior, Rua Marquês d’Ávila e Bolama, 6201-001 Covilhã, Portugal

⁴ CERNAS - Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Av. Pedro Álvares Cabral 12, 6000-084 Castelo Branco

⁵ C-MAST - Centre for Mechanical and Aerospace Science and Technologies, Covilhã

⁶ CFE - Centre for Functional Ecology, University of Coimbra, 3000-456 Coimbra, Portugal

*Email: mpaulasimoes@ipcb.pt

Resumo

Este projeto tem como objetivos i) avaliar os efeitos qualitativos da aplicação de frio na conservação de **cereja** e **pêssego** recorrendo à avaliação experimental em câmaras de refrigeração com atmosfera normal (em ambiente laboratorial e em Organização de Produtores) e com atmosfera controlada; ii) desenvolver embalagens inteligentes que conciliem a manutenção das características organoléticas com o controlo do grau de respiração e transpiração da fruta e com as características da transferência de calor decorrentes do processo de refrigeração.

Para tal foram estabelecidos ensaios de conservação em câmaras de refrigeração com cerejas da cultivar Satin e com pêssegos da cultivar Sweet Henry que compreenderam 2 modalidades em atmosfera normal (uma conservada na Organização de Produtores e a outra no Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar – CATAA) e 3 ou 4 modalidades em

atmosfera controlada. O período total de conservação foi de 49 dias para a cereja e de 63 dias para o pêssego. Foram monitorizadas a temperatura e humidade relativa e a qualidade dos frutos, nomeadamente, perda de peso, diferença de cor, teor de sólidos solúveis, firmeza e acidez titulável, bem como parâmetros sensoriais e a incidência de podridões.

Relativamente à cereja verificou-se que a maior temperatura de conservação da modalidade conservada na Organização de Produtores poderá estar relacionada com a maior perda de peso, a menor firmeza, o aspeto mais castanho e desidratado dos pedúnculos e com as menores classificações atribuídas às variáveis sensoriais aspeto, sabor e apreciação global. Adicionalmente, foram encontradas diferenças na cor entre os frutos conservados em atmosfera normal e os frutos conservados em atmosfera controlada.

Relativamente ao pêssego, verificou-se que as modalidades conservadas em atmosferas controladas tiveram menores perdas de peso e de acidez. Com este projeto pretende-se também desenvolver uma embalagem que possibilite a extensão da vida útil dos produtos. Para tal, foram definidas, juntamente com as organizações, associações de fruticultores e utilizadores finais, as especificações técnicas e funcionalidades requeridas durante o armazenamento e na distribuição com ou sem refrigeração. Foram propostas várias configurações de embalagens com perfuração de diferente dimensão, forma e espessura, com e sem materiais de mudança de fase (PCM – Phase Change Materials), e com distintas estruturas e espessuras de paredes, com o intuito de avaliar qual a solução técnica que permite providenciar a melhor distribuição térmica no interior da embalagem. Estes conceitos foram testados de forma experimental e por modelação numérica de Dinâmica de Fluidos.

Palavras-chave: pêssego; cereja; refrigeração; atmosfera controlada; embalagem.

Abstract

This project intended i) to evaluate the effect of refrigeration and controlled atmospheres in the conservation of **sweet cherry** and **peach**; ii) to develop smart packages that maintain the organoleptic characteristics while controlling the respiration of the fruit and the heat transference by the package. In order to fulfil these objectives, the study was implemented in refrigeration chambers with sweet cherries (cv. Satin) and peaches (cv. Sweet Henry) comprising 2 modalities under normal atmosphere conditions (one in a Farmers' Organization and the other in a Research Centre) and 3 to 4 modalities under controlled atmosphere conditions. The total conservation period was 49 days for sweet cherry and 63 days for peach. The monitored variables included temperature, relative humidity, weight loss, colour difference, soluble solids content, firmness, titrable acidity, sensory parameters and rotten incidence. Concerning the sweet cherry storage, a higher temperature of conservation was found in the Farmers' Organization which may be related with the higher weight loss, lower firmness, browner and more dehydrated stems and with the lower sensory classifications of aspect, flavour and global score. Beyond these effects, some differences between the colour of the fruits stored under normal atmosphere and the fruits stored under controlled atmosphere conditions were found. Concerning the peach storage, the modalities under controlled atmosphere conditions showed lower weight and acidity loss. The development of a package which extends the shelf life of fruits was also intended. To achieve that goal, the technical specifications and the required functionalities for storage and distribution with or without refrigeration were set together with Producers' Organizations and final consumers. Several package configurations were proposed with different sized holes, dimensions and thicknesses, either with or without phase change materials and with different structures and wall thicknesses. Those proposals helped to evaluate the technical solution that provides the best distribution of heat inside the package. These concepts were tested both experimentally and with fluid dynamic based numerical models.

Keywords: peach; sweet cherry; refrigeration; controlled atmosphere; package.

Introdução

A cereja (*Prunus avium* L.) e o pêssego (*Prunus persica* (L.) Batsch) são frutos de caroço (prunóideas) altamente apreciados pelas suas características organolépticas e nutricionais. Contudo, a sua elevada sensibilidade ao manuseamento e a sua perecibilidade tornam o transporte e conservação difíceis. A conservação sob refrigeração é o método mais difundido. A refrigeração conjugada com atmosfera controlada apresenta elevada potencialidade para o aumento do tempo de vida útil destes frutos.

Apesar de a cereja ser um fruto não climatérico, a sua deterioração após a colheita é rápida tendo, por isso, um período de comercialização curto. Na região da Beira Interior, a colheita vai de início de maio a finais de julho (Costa, 2006), um pouco menor do que o referido para o hemisfério norte, que se estende desde maio até agosto (Blando & Oomah, 2019). A deterioração inclui alterações na cor da epiderme, a desidratação e o acastanhamento dos pedúnculos, a diminuição da firmeza da polpa e o aparecimento de bolores (Wang et al., 2016).

O pêssego é um fruto climatérico, em que o período de maturação se caracteriza pelo aumento da taxa de respiração celular e de produção de etileno que, por sua vez, são responsáveis pela rápida perda de firmeza após a colheita (Abbasi et al., 2019).

A conservação em atmosfera controlada pode ajudar a atrasar o processo de maturação e consequente senescência dos frutos. Esta técnica, combinada com a refrigeração, consiste na alteração das concentrações de oxigénio (O₂) e dióxido de carbono (CO₂), nomeadamente a indução de baixas concentrações de O₂ e elevadas de CO₂, levando à redução da taxa respiratória e do desenvolvimento de

fungos, responsáveis pelo aparecimento de podridões (Thompson, 2010; Yang et al., 2019).

O sucesso depende da escolha de condições de conservação corretas, nomeadamente em termos de temperatura, humidade relativa e concentrações de O_2 e de CO_2 . Se tal não suceder, poderão surgir ou acentuarem-se problemas de conservação como o aparecimento de cheiros e sabores desagradáveis que estão geralmente associados a concentrações de O_2 demasiado baixas e/ou a concentrações de CO_2 demasiado elevadas.



Figura 1 – Pitting.

No caso particular da cereja, poderão ainda acentuarem-se ou desenvolverem-se depressões na sua superfície designadas, habitualmente, por pitting (Figura 1).

No pêssgo, a conservação em valores inadequados de temperatura poderá levar ao aparecimento de danos por frio (Chilling Injury) (Figura 2), que se caracterizam por polpa dos frutos com coloração acastanhada e de uma textura seca que, por vezes, é designada por lanosidade.



Figura 2 – Dano por frio (Chilling Injury).

O intervalo 2,2 °C a 7,6 °C é especialmente suscetível ao aparecimento de dano por frio no pêssgo (Crisosto et al., 1999; Wang & Vestrheim, 2002; Crisosto & Ader, 2016; Abbasi et al., 2019).

Os valores de temperatura, humidade relativa e concentrações de O₂ e de CO₂ recomendados para conservação de cereja e pêssago estão indicados no Quadro 1.

Quadro 1 – Condições de conservação recomendadas.

	Temperatura	Humidade relativa	O ₂	CO ₂ .
Cereja ⁽¹⁾	-1 °C e 0 °C	90% e 95%	3% e 10%	10% e 15%
Pêssago ⁽²⁾	-1 °C e 0 °C	90% e 95%	1% e 6%	3% e 15%

⁽¹⁾ Mitcham et al., 1996. ⁽²⁾ Cantillano et al., 2010; Crisosto et al., 1996.

Para o estudo das embalagens e rastreabilidade foram desenvolvidos estudos de análise do estado da arte com o intuito de desenvolver uma tecnologia de monitorização (temperatura e/ou humidade e/ou gases em embalagens). Para tal, foram avaliadas condições presentes na literatura científica relativas a a) quebras na cadeia de frio, b) temperatura de transporte, c) indicadores tempo-temperatura, d) tecnologia de comunicação por identificação por rádio-frequência RFID, e e) tecnologia de comunicação por Bluetooth (Moraes et al., 2019a).

Materiais e métodos

Os ensaios de conservação decorreram anualmente entre 2018 e 2020 e está previsto um novo ensaio em 2021.

Ensaio de conservação de cereja

Para o estudo de conservação da cereja utilizou-se a cv. Satin que é uma cultivar com maturação em meados de junho. Para minimizar a variabilidade dos parâmetros de qualidade relacionados com o local de produção, as cerejas vieram do mesmo produtor e foram colhidas no mesmo estado de maturação.

As modalidades de conservação avaliadas, o local de conservação, a composição da atmosfera e os períodos de amostragem estão sistematizadas

no Quadro 2. A temperatura e a humidade relativa das câmaras foram monitorizadas através de sensores colocados junto às cerejas.

Quadro 2 – Modalidades testadas, locais de conservação, composição da atmosfera e períodos de amostragem no ensaio de conservação de cereja Satin.

Ciclo	Modalidade	Composição da atmosfera (%O ₂ -%CO ₂)	Local de conservação	Tempos de amostragem (dias)
2018	1-OP	21%-0%	Cerfundão	3, 7, 14, 21, 28
	2-AN		Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar	3, 7, 14, 21, 28, 35
	3-310	7, 21, 35, 42, 49		
	4-315			
	5-1010			
	6-1015			
2019 e 2020	1-OP	21%-0%	Cerfundão	7, 14, 21, 28
	2-AN		Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar	
	3-310	14, 21, 28, 35, 42, 49		
	4-315			
	5-1010			
	6-1015			

As amostras de 50 cerejas destinadas às análises foram colocadas num cesto posicionado no centro de um tabuleiro de 5 kg cheio de cerejas de forma a simular as condições comerciais de conservação (Figura 3).



Figura 3 – Cesto com 50 cerejas, colocado no centro de um tabuleiro de 5 kg.

As variáveis físico-químicas avaliadas foram as seguintes: diferença de peso, parâmetros de cor CIE-Lab, firmeza, teor de sólidos solúveis e acidez titulável. Para que fosse possível avaliar a diferença de peso e a diferença nos parâmetros de cor entre o dia de colheita e entrada em conservação e o dia de saída, 20 das 50 cerejas foram numeradas, sendo o peso e a cor avaliado individualmente. Assim, no dia de instalação do ensaio, foi necessário fazer 96 amostras homogêneas de 50 cerejas e avaliar individualmente um total de 1920 cerejas [(2 mod. x 4 tempos + 4 mod. x 6 tempos) x 3 repetições x 20 cerejas]. Em 2020 incorporou-se mais uma repetição para cada modalidade, em que os frutos sofreram um manuseamento mínimo, para avaliação de pitting e podridões.

O aspeto dos pedúnculos foi avaliado em 2020 por observação direta através de uma escala de 5 pontos, em que 1 corresponde a um pedúnculo completamente desidratado e castanho e 5 a um pedúnculo com um aspeto verde e fresco (Figura 4).



Figura 4 – Escala de 5 pontos utilizada para a avaliação do aspeto dos pedúnculos.

A análise sensorial, realizada em 2019 e em 2020, incluiu as variáveis aspeto, firmeza, suculência, sabor e apreciação global, avaliadas por 10 provadores através de uma escala de 9 pontos (1 – não gosto, 5 – indiferente, 9 – gosto muito).

Ensaio de conservação de pêssego

Para o estudo de conservação do pêssego utilizou-se a cv. Sweet Henry que é uma cultivar com maturação em meados de agosto. Os pêssegos utilizados no ensaio vieram do mesmo produtor e encontravam-se no

mesmo estado de maturação. As modalidades de conservação avaliadas, o local de conservação, a composição da atmosfera e os períodos de amostragem para o ensaio do pêssigo estão sistematizadas no Quadro 3.

Quadro 3 – Modalidades testadas, locais de conservação, composição da atmosfera e períodos de amostragem no ensaio de conservação de pêssigo.

Ciclo	Mod.	Composição da atmosfera (%O ₂ -%CO ₂)	Local de conservação ²	Tempos de amostragem (dias) ¹
2018	1-OP	21%-0%	SAQL	7, 14, 21, 28, 35
	2-AN		CATAA	7, 14, 21, 28, 35, 42
	3-45	14, 21, 28, 35, 42, 63		
	4-23			
	5-25			
	6-210	2%-10%		
2019	1-OP	21%-0%	SAQL	7, 14, 21, 28, 35
	2-AN		CATAA	14, 21, 28, 35*
	3-23	14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63		
	4-25			
	5-28			
	6-210	2%-10%		
2020	1-OP	21%-0%	SAQL	7, 14, 21, 28, 35
	2-AN		CATAA	14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63
	3-25	2%-10%		
	4-210			
	5-215	2%-15%		

¹ * A amostragem destas modalidades terminou aos 35 dias devido a uma avaria no sistema de refrigeração.

² Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar: CATAA; Quinta de Lamaçais: SAQL

Para o pêssigo observou-se um ajuste nas concentrações de O₂ e CO₂ de 2018 a 2020, pois não foi possível garantir a pequena diferença de concentração de O₂ entre modalidades. Assim, em 2020, as AC foram 2%-5%, 2%-10% e 2%-15%.

As amostras foram constituídas por 24 frutos de calibre A, correspondendo uma amostra a um tabuleiro de pêssegos, com 3 repetições por modalidade e tempo (Figura 5). Para que fosse possível avaliar a diferença de peso e a diferença nos parâmetros de cor entre o dia de colheita e entrada em conservação e o dia de saída, todos os frutos foram marcados e avaliados individualmente para peso e cor.

Assim, no dia de instalação do ensaio, foi necessário fazer amostras homogêneas de 24 pêssegos e avaliar individualmente um total de 2520 pêssegos em 2019, 3096 em 2019 e 2088 em 2020 [(OP x 5 tempos + AN x 5 ou 6 tempos + AC x 6 ou 8 tempos) x 3 repetições x 24 pêssegos] (Figura 6).



Figura 5 – Amostra de pêssegos correspondente a um tabuleiro de 24 frutos.



Figura 6 – Estabelecimento do ensaio de conservação de pêssego.

Os parâmetros físico-químicos avaliados foram os seguintes: diferença de peso, parâmetros de cor CIE-Lab, firmeza, teor de sólidos solúveis e acidez titulável.

Embalagens e rastreabilidade

Para o estudo de soluções de embalagens que permitam maior eficiência na conservação e para a análise de percursos produtivos e de transporte utilizaram-se dataloggers colocados em diferentes posições em paletes. A análise preliminar mostrou que basta a existência de um

dispositivo de rastreabilidade por palete, sendo esse o procedimento utilizado.

Principais resultados

A-Ensaio de conservação de cereja

As condições de conservação em termos de temperatura e humidade relativa (Quadro 4) diferiram entre a modalidade OP e as restantes em termos de temperatura. A temperatura média na modalidade OP foi de 4,8°C (2019) e 6,7°C (em 2020), enquanto nas restantes modalidades esteve no intervalo de 0,6°C a 2,0°C. Os valores de humidade relativa mantiveram-se dentro ou ligeiramente acima dos parâmetros aconselhados na bibliografia (90% a 95%, Quadro 3) (Mitcham et al., 1996).

Quadro 4 – Valores médios, mínimos e máximos de temperatura (T) e humidade relativa (HR) para cada grupo de modalidades em cada um dos ciclos de ensaios de conservação de cereja.

Ciclo		Modalidade(s)	Média $\pm$ desvio padrão	Mínimo	Máximo
2019	T (°C)	OP	4,8 $\pm$ 2,7	1,1	12,9
		AN,51010,61015	1,8 $\pm$ 0,6	1,6	10,8
		3310,4315	2,0 $\pm$ 0,7	1,7	10,5
	HR (%)	OP	91,1 $\pm$ 2,9	81,2	98,0
		AN,51010,61015	97,0 $\pm$ 1,5	83,9	99,0
		3310,4315	97,1 $\pm$ 1,2	84,4	99,9
2020	T (°C)	OP	6,7 $\pm$ 1,0	4,5	12,0
		AN,3310,4315	0,9 $\pm$ 0,42	0,2	6,8
		51010,61015	1,6 $\pm$ 0,7	0,6	10,7
	HR (%)	OP	94,2 $\pm$ 3,3	81,4	100,0
		AN,3310,4315	98,7 $\pm$ 3,2	60,2	100,0
		51010,61015	98,8 $\pm$ 3,3	58,8	100,0

Na Figura 7 apresenta-se a perda de peso dos frutos para cada modalidade ao longo do período de conservação, em 2019 e 2020, observando-se que a modalidade OP apresenta uma perda de peso constante chegando a -10% em 2019 e -11% em 2020 no final de 28 dias. As modalidades de AC apresentam uma média de perda de peso de -2%, que se mantém semelhante ao longo dos 49 dias de conservação. Observou-se um aumento de peso das cerejas quando ocorreram fenómenos de condensação dentro das câmaras de refrigeração (AN em 2020).

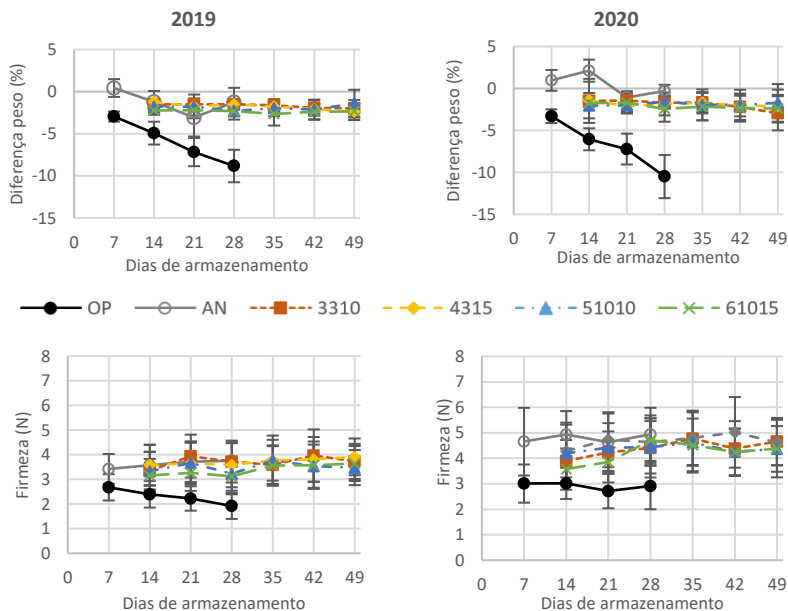


Figura 7 – Evolução da diferença de peso e da firmeza ao longo do período de amostragem do ensaio de conservação de cereja para cada modalidade.

Relativamente à firmeza dos frutos, parâmetro determinante na qualidade e manuseamento, observou-se uma perda de firmeza mais acentuada em 2019 na modalidade OP, com 2 N no final de 28 dias de conservação (Figura 12). As restantes modalidades permitiram manter a firmeza dos frutos ao longo do período de conservação sem que se tenham registado diferenças acentuadas entre modalidades quer entre AC quer na comparação entre AC e AN.

Relativamente aos pedúnculos (Figura 8), os frutos da modalidade OP apresentam um aspeto mais desidratado, mas não se observaram diferenças nas modalidades de AC.

A análise sensorial indica que as modalidades de AC e AN permitiram manter a qualidade dos frutos, enquanto os frutos da modalidade OP,

aos 28 dias de conservação, tiveram menores pontuações nas variáveis sensoriais “aspecto”, “sabor” e “classificação global” (Figura 9).

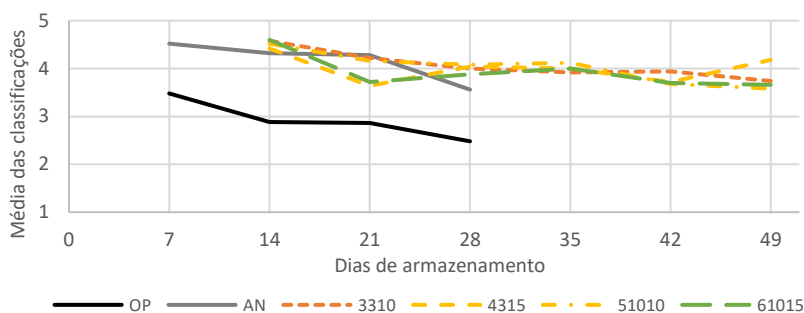


Figura 8 – Evolução da classificação dos pedúnculos ao longo do período de amostragem para cada modalidade

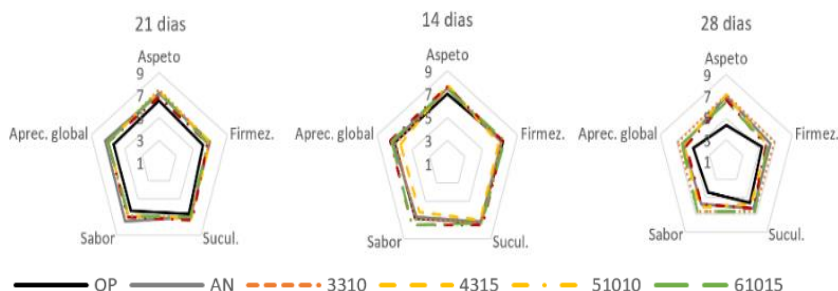


Figura 9 – Resultados da análise sensorial realizada em 2020 aos 14, 21 e 28 dias.

O efeito da composição da atmosfera não foi tão marcado quanto o da temperatura. No entanto, foram observadas diferenças na cor dos frutos entre as modalidades conservadas em atmosfera normal e as modalidades conservadas em atmosfera controlada.

Por outro lado, não foi encontrada nenhuma relação clara entre a incidência de podridões e as modalidades testadas no ensaio. Contudo,

essa incidência foi muito baixa, sendo sempre igual ou inferior a 3% (2 cerejas) por modalidade e por dia de análise.

B-Ensaio de conservação de pêssego

As condições de conservação em termos de temperatura e humidade relativa (Quadro 5) diferiram ligeiramente entre a modalidade OP e as restantes em termos de temperatura, com uma temperatura média de 0,3°C e 0,4°C na OP. Nas restantes modalidades esteve entre 1,8°C e 1,9°C em 2019 e 1,3°C em 2020 nas. O valor médio de temperatura da modalidade OP (Quadro 5) esteve abaixo dos valores médios das restantes modalidades e próximo do intervalo aconselhado para a conservação do pêssego, ou seja, -1 °C a 0 °C (Crisosto et al., 1996). Pelo contrário, a temperatura média das restantes modalidades esteve acima desse intervalo e dentro do intervalo considerado como de maior suscetibilidade à ocorrência de danos por frio (2,2 °C a 7,6 °C). Mesmo assim, a incidência desse tipo de danos, nomeadamente de acastanhamento interno e lanosidade, foi sempre inferior a 17% (Quadro 5).

Em 2019, os primeiros casos de podridão surgiram na modalidade 528 aos 49 dias e, em 2020, na modalidade 325 aos 42 dias (Quadro 6). A modalidade de atmosfera controlada com menor concentração de CO₂ (325) foi aquela que, em 2020, apresentou uma maior incidência acumulada de podridões (Quadro 7). Em 2019 a maior incidência ocorreu na modalidade com 10% de CO₂ (6210).

Quadro 5 – Valores médios, mínimos e máximos de temperatura (T) e humidade relativa (HR) para cada grupo de modalidades em cada um dos ciclos de ensaios de conservação de pêsego.

Ciclo		Modalidade(s)	Média $\pm$ desvio padrão	Mínimo	Máximo
2019	T (°C)	OP	0,3 $\pm$ 0,7	-0,5	22,3
		AN,323,425	1,9 $\pm$ 0,7	0,8	13,4
		528,6210	1,8 $\pm$ 0,8	-0,1	13,5
	HR (%)	OP	98,6 $\pm$ 2,6	46,2	100,0
		AN,323,425	97,9 $\pm$ 4,1	74,8	99,9
		528,6210	94,4 $\pm$ 6,4	66,2	99,9
2020	T (°C)	OP	0,4 $\pm$ 0,4	-0,2	2,8
		AN,325,4210,5215	1,3 $\pm$ 1,6	-0,8	22,3
	HR (%)	OP	99,4 $\pm$ 1,0	94,2	100,0
		AN,325,4210,5215	96,0 $\pm$ 1,8	92,0	100,0

Quadro 6 – Incidência de danos por frio (acastanhamento interno e lanosidade) e de podridões no ensaio de conservação de pêsego em 2019.

Causa	Mod.	35 d	42 d	49 d	56 d	63 d
Acast. Int.	425					
Lanosidade		2,3%				
Podridão						
Acast. Int.	528					
Lanosidade			6,8%	4,6%	2,3%	
Podridão				2,3%		15,9%
Acast. Int.	6210					
Lanosidade						
Podridão				11,4%		20,4%

N=44 frutos por dia de amostragem e modalidade. A ausência de valores indica uma incidência de 0%.

Quadro 7 – Incidência de danos por frio (acastanhamento interno e lanosidade) e de podridões no ensaio de conservação de pêssago em 2020.

Causa	Mod.	35d+2	42d+2	49d+2	56d+2	63d+2
Acast. Int.	325		4,2%		12,5%	4,2%
Lanosidade				8,3%		12,5%
Podridão			4,2%			20,8%
Acast. Int.	4210	4,2%	4,2%			
Lanosidade				8,3%		4,2%
Podridão					4,2%	4,2%
Acast. Int.	5215				4,2%	8,3%
Lanosidade					4,2%	
Podridão					4,2%	4,2%

N=24 frutos por dia de amostragem e modalidade. A ausência de valores indica uma incidência de 0%. Avaliação realizada após 2 dias à temperatura ambiente.

Contudo, é necessário ter em conta que as modalidades com menor teor de CO₂ foram, em 2019, as afetadas pela avaria que ocorreu numa das câmaras e que fez com que o tempo de conservação dessas modalidades fosse apenas de 35 dias. É ainda de referir que a inibição do desenvolvimento de fungos e, portanto, de podridões, é um dos efeitos de concentrações elevadas de CO₂ referidos na literatura (Thompson, 2010).

Genericamente, não foram encontradas diferenças significativas entre modalidades para as variáveis sensoriais. Pelo contrário registaram-se diferenças significativas entre modalidades nas variáveis físico-químicas de diferença de peso e acidez titulável que poderão ser explicadas pelas diferenças na composição da atmosfera. Mais concretamente, foram observadas maiores perdas de peso e uma maior diminuição da acidez nas modalidades em AN em comparação com as modalidades em AC (Figura 10).

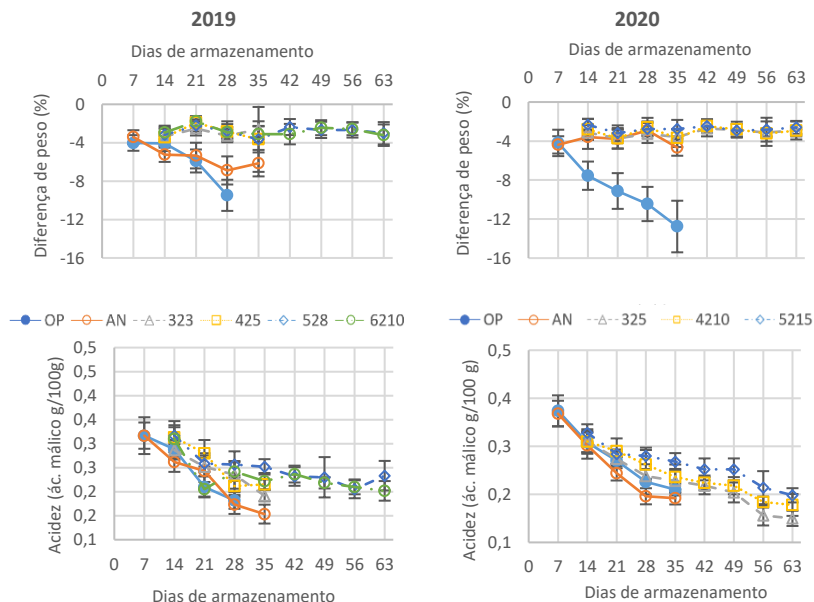


Figura 10 – Evolução das variáveis “diferença de peso” e “firmeza” ao longo do período de amostragem do ensaio de conservação de cereja para cada modalidade.

Adicionalmente, verificou-se que a modalidade com maior concentração de CO_2 em 2020 (15%, modalidade 5215) manteve valores mais elevados de acidez. Esse resultado ilustra um dos efeitos do uso de atmosferas controladas e que está relacionado com a diminuição da taxa respiratória, tendo em conta que os ácidos orgânicos são utilizados como substrato e, por isso, consumidos durante a respiração dos frutos (Thompson, 2010).

C-Embalagens e rastreabilidade

Foi desenvolvido um sistema de monitorização em tempo real com capacidade de comunicação via GSM (Morais et al., 2019b). A localização é obtida por triangulação usando o módulo GSM. Após essas operações, e com base no valor da intensidade do sinal, o sistema envia

os dados via GSM para um servidor remoto ou armazena o valor da temperatura do ar e os envia no próximo ciclo. Nesta condição, apenas a temperatura é enviada, pois é o parâmetro que mais afeta a qualidade dos produtos perecíveis. Os resultados de monitorização expostos na Figura 11 foram validados em viagens realizadas entre Covilhã e Albufeira.

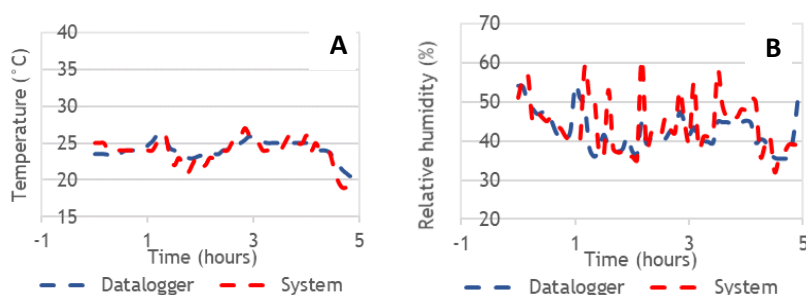


Figura 11 - Resultados comparativos das medições do sistema de rastreabilidade e datalogger de referência. **A**- Temperatura; **B**-Humidade Relativa.

Este dispositivo sofreu consecutivas evoluções até atingir a solução do sistema de rastreabilidade iTRACE. Este sistema é composto pelo dispositivo de monitorização apresentado na Figura 12 e por uma página disponível em www.prunuspos.pt, que permite afetar os dispositivos de monitorização a trajetos e rastrear em tempo real as condições de conservação (Figura 13).

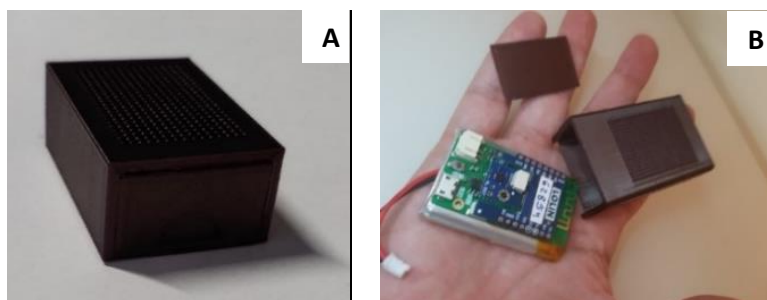


Figura 12 – Sistema de rastreabilidade otimizado. **A**-dispositivo; **B**-componentes.

A plataforma iTrace permite monitorizar todo o processo de transporte e entrega de cargas conservadas em frio, desde a saída do Produtor até ao destino e entrega no Cliente.

Na Figura 13 são expostas as janelas do software do sistema de rastreabilidade: (1) Detalhes do transporte e todas as entregas; (2) Localização GPS das transmissões dos sensores (3) Leituras dos sensores em formato gráfico. Também é possível, na qualidade de administrador, efetuar alterações e ajustes no transporte, eliminar por completo o transporte e aceder ao documento de Transporte iDRIVE (4).

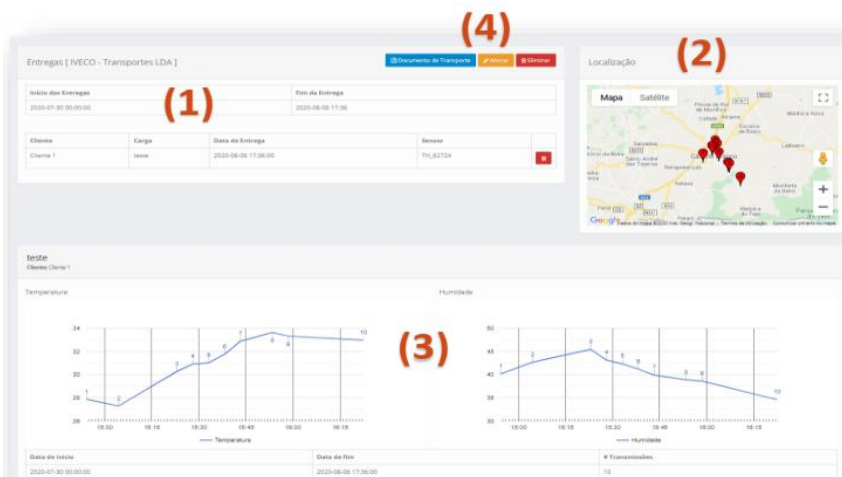


Figura 13 – Sistema de rastreabilidade otimizado.

Adicionalmente, foram conduzidos estudos dirigidos ao desenvolvimento de embalagens (estrutura física, materiais, isolamento térmico). Inicialmente, foi avaliado experimentalmente o comportamento térmico de embalagens secundárias utilizadas com e sem materiais de mudança de fase por baixo dos alvéolos. Foram analisados alvéolos de cartão, com e sem furação, e de película de alumínio, também com e sem furação (Figura 14). Estes estudos experimentais serviram para analisar o arrefecimento dos produtos (simuladores de fruta desenvolvidos com agar conforme Figura 6f)

aquando da colocação em câmara de refrigeração, assim como o aquecimento dos produtos aquando da retirada da câmara de refrigeração e colocação da embalagem à temperatura ambiente.



a) embalagem com alvéolo de cartão sem PCM.



b) embalagem com alvéolo de cartão com PCM.



c) embalagem com alvéolo de alumínio (com e sem perfuração) sem PCM.



d) embalagem com alvéolo de alumínio (com e sem perfuração) com PCM.



e) Localização das caixas no interior da câmara climática.



f) Simulador de fruto em agar com termopar colocado a uma profundidade de 7 cm

Figura 14 – Ensaios experimentais de análise do comportamento térmico de embalagem com diferentes tipos de alvéolos.

Pretende-se avaliar o efeito do material de mudança de fase (PCM – phase change material) disposto por baixo dos alvéolos com diferentes materiais e características. A análise de resultados indica que o processo de arrefecimento é mais lento, todavia, aquando da saída da câmara de refrigeração, o processo de aquecimento dos produtos é também mais lento, providenciando uma temperatura mais baixa de conservação o que se traduz na extensão da vida de prateleira do produto (Madhan et al, 2020).

Foram desenvolvidos um conjunto de estudos paramétricos em Dinâmica de Fluidos Computacional que visam fornecer os dados de entrada a um modelo previsional dos tempos de conservação e sua relação com a qualidade dos frutos. Por aplicação da técnica de volumes finitos, o domínio foi discretizado em volumes de controlo para serem resolvidas as equações de conservação de massa, de quantidade de movimento e de energia em cada volume de controlo. As condições de fronteira foram especificadas com valores determinados nos ensaios experimentais. Foram desenvolvidos diversos modelos computacionais onde foi alterada a configuração, alinhamento e dimensão dos orifícios presentes na embalagem. Na Figura 15 são apresentados alguns exemplos dos resultados numéricos do escoamento de ar e transferência de calor no interior das configurações de embalagens que providenciaram maior uniformidade e valor mais baixo da temperatura.

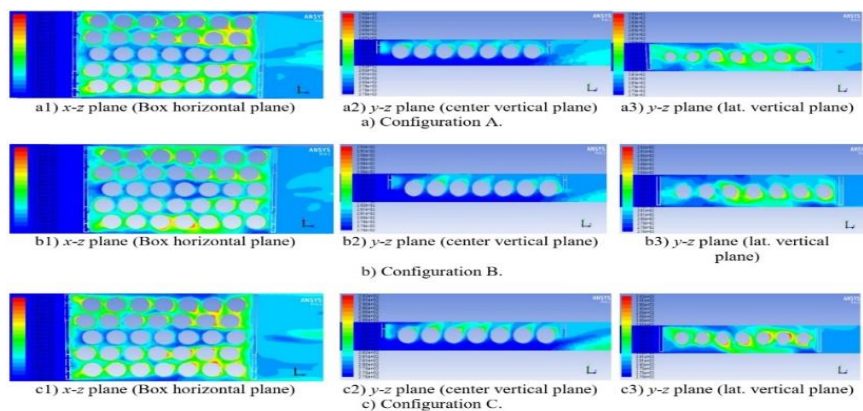


Figura 15 - Três exemplos das previsões numéricas do perfil de temperatura num plano horizontal, plano vertical central e plano central lateral.

Referências Bibliográficas

Abbasi, N.A., Ali, I., Hafiz, I.A., Alenazi, M.M., Shafiq, M., 2019. Effects of putrescine application on peach fruit during storage. *Sustain.* 11, 1–17. <https://doi.org/10.3390/su11072013>

Blando, F., Oomah, B.D., 2019. Sweet and sour cherries: Origin, distribution,

-
- nutritional composition and health benefits. *Trends Food Sci. Technol.* 86, 517–529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.052>
- Costa, F.M.M. da, 2006. Avaliação das características agronómicas da cerejeira ‘De Saco’ na região da Cova da Beira. Master thesis, University of Lisbon.
- Crisosto, C.H., Ader, A.A., 2016. Peach, in: Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. United States Department of Agriculture, pp. 466–470.
- Crisosto, C.H., Mitcham, E.J., Kader, A.A., 1996. Peach and Nectarine Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. *Perishables Handl.* #86.
- Crisosto, C.H., Mitchell, F.G., Ju, Z., 1999. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. *HortScience* 34, 1116–1118. <https://doi.org/10.21273/hortsci.34.6.1116>
- Madhan, S.K., Gaspar, P.D., Silva, P.D., Andrade, L.P., Espírito Santo, C., 2020. Future trends of innovative green packaging of the food products to deplastification. 6th IIR International Conference on Sustainability and the Cold Chain (ICCC 2020). Nantes, França, 26 a 28 de agosto.
- Morais, D., Gaspar, P.D., Silva, P.D., Nunes, J., Andrade, L.P., Simões, M.P. & Pires, L.C., (2019a). Current status and future trends of monitoring technologies for food products traceability. The 25th IIR International Congress of Refrigeration (ICR 2019), Montréal, Canadá, 24 a 30 de agosto. <http://hdl.handle.net/10400.6/7526>
- Morais, D., Gaspar, P.D., Silva, P.D. (2019b). Desenvolvimento de um dispositivo de monitorização de produtos frutícolas na cadeia de frio. International Congress on Engineering – Engineering for Evolution (ICEUBI2019), Covilhã, Portugal, 27 a 29 de novembro.
- Mitcham, E.J., Crisosto, C.H., Kader, A.A., 1996. Cherry Recommendations for Maintaining Postharvest Quality [WWW Document]. *Perishables Handl.* #86. URL http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/ (accessed 2.3.20).

- Thompson, A.K., 2010. Controlled atmosphere storage of fruits & vegetables, 2nd ed.
- Wang, L., Vestrheim, S., 2002. Controlled atmosphere storage of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.* 52, 136–142. <https://doi.org/10.1080/090647103100004825>
- Wang, L., Zhang, H., Jin, P., Guo, X., Li, Y., Fan, C., Wang, J., Zheng, Y., 2016. Enhancement of storage quality and antioxidant capacity of harvested sweet cherry fruit by immersion with β -aminobutyric acid. *Postharvest Biol. Technol.* 118, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.023>
- Yang, Q., Zhang, X., Wang, F., Zhao, Q., 2019. Effect of pressurized argon combined with controlled atmosphere on the postharvest quality and browning of sweet cherries. *Postharvest Biol. Technol.* 147, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.007>



GO SafeApple - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero



Parceria

INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP (Líder);

FCUL - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;

ISA - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa;

COTHN-CC - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências;

APMA - Associação dos Produtores de Maçã de Alcobaça;

Cooperfrutas – Coop. Prod. Frutas e Prod. Horticolas de Alcobaça, CRL;

Campotec IN – Cons. e Transformação de Hortofrutícolas, SA;

Frubaça - Cooperativa de Hortofruticultores CRL;

Granfer - Produtores de Frutas, CRL;

Soati - Sociedade de Agricultura de Grupo, LDA; Frutalcoa - Sociedade
de Agricultura de Grupo, LDA.

Palavras-chave: *Malus domestica*; fatores pré-colheita; conservação
longo prazo; atributos de qualidade; redução de resíduos.

Website: <https://safeapple.webnode.pt/>

Investimento total: 464 069,19 €

Logótipos dos Parceiros



Objetivos do GO SafeApple

O objetivo principal consiste na conservação a longo prazo dos atributos de qualidade da Maçã de Alcobaça, visando a obtenção de frutos com resíduos zero ao nível da aplicação de produtos na pós-colheita.

Os objetivos específicos são:

1. Avaliar a influência de diversas técnicas culturais e tratamentos de pré-colheita, na resistência do fruto às alterações fisiológicas e patologias, durante o período de conservação;
2. Aplicar metodologias para a conservação de longa duração (6-8 meses);
3. Aplicar tratamentos de pós-colheita, alternativos aos químicos, tais como: soluções de cálcio, revestimentos bioativos e tratamentos térmicos moderados;
4. Aumentar o tempo de vida de prateleira.

Equipa do GO SafeApple

Entidades	Pessoas
APMA	Susana Costa
Campotec	Carina Trindade, Délio Raimundo,
Cooperfrutas	Valério Pita
COTHN-CC	Carmo Martins; Catarina Ribeiro; Helder Coelho; Patrícia Anaia
FCUL	A. Cristina Figueiredo, Cláudia Tavares, José Barroso, Luis Pedro,
Frubaça	Nuno Franco, Anabela Maurício
Frutalcoa	Anabela Maurício
INIAV	Miguel Leão, João Neto, Cristina Ramos, Claudia Sánchez, Mário Santos, Carmo Serrano, Rui M. Sousa, Filipa Queirós, Paula Vasilenko
ISA	Luísa Brito, Margarida Moldão, Vítor Alves
Soati	Nuno Franco



SafeApple - Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero

Claudia Sánchez^{1,2*}, João Neto¹, Mário Santos², Paula Vasilenko², Cristina Ramos², Cláudia S. Tavares³, José G. Barroso³, Luis G. Pedro³, A. Cristina Figueiredo³

¹ INIAV, IP - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade, Estrada de Leiria, 2460-059 Alcobaça, Portugal.

² INIAV, IP – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Polo Oeiras, Av. da República, Quinta do Marquês 2784-505 Oeiras, Portugal

³ CESAM Lisboa - Centro de Estudos do Ambiente e do Mar Lisboa, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, DBV, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

*Email: claudia.sanchez@iniav.pt

Resumo

O armazenamento de maçãs a longo prazo tem sido amplamente estudado e existem diversas recomendações técnicas para garantir uma adequada conservação, contudo, os efeitos das técnicas culturais de pré-colheita na conservação têm sido pouco estudados. Assim, um dos objetivos do projeto consiste em avaliar a influência dos fatores culturais, nomeadamente a fertilização azotada e a irrigação em excesso, na qualidade dos frutos à colheita e durante o período de conservação.

Os ensaios foram realizados em dois pomares de produtores de maçã ‘Gala’ e em três condições de conservação: Atmosfera Controlada + 1-Metilciclopropeno (AC+1-MCP), Atmosfera Controlada Dinâmica (ACD) e ACD+1-MCP. Os frutos foram analisados nos tempos 0, 5 e 8 meses de conservação pós-colheita e avaliados parâmetros de qualidade físico-química tais como: peso, calibre, cor, dureza, sólidos solúveis totais e acidez total, assim como também parâmetros organoléticos. Para a avaliação do aroma dos frutos, os voláteis foram isolados por microextração em fase sólida (SPME) e analisados por cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.

À colheita, os resultados indicam que o excesso de azoto provocou uma ligeira diminuição do tamanho e do peso dos frutos. Após 5 meses de conservação, os frutos submetidos a um excesso de azoto apresentaram uma dureza superior ao controlo, quando conservados em ACD, com e sem 1-MCP. Nos outros parâmetros qualitativos não houve diferenças significativas entre os tratamentos e os controlos, independentemente da metodologia de conservação. Após 8 meses, os frutos conservados em AC+1-MCP exibiram menor dureza que os mantidos em ACD. Já o teor de sólidos solúveis totais (TSS) foi ligeiramente superior nos frutos com excesso de azoto.

O perfil volátil das maçãs analisadas em T0 foi caracterizado pela dominância de trans, trans- α -farneseno e acetato de hexilo. Independentemente da modalidade de campo, e do método de conservação utilizado, o armazenamento por 8 meses levou a um decréscimo na emissão de voláteis.

De modo geral, os resultados preliminares indicam que a conservação em ACD foi mais eficaz para manter a coloração vermelha dos frutos e a dureza mais elevada.

Palavras-chave: técnicas culturais; fertilização azotada; irrigação; conservação; qualidade.

Abstract

Long-term storage of apples has been widely studied and there are several technical recommendations, but the effects of pre-harvest factors on conservation have been little studied. Thus, one of the objectives of the project is to evaluate the influence of management practices, namely excesses of nitrogen fertilization and irrigation, on the quality of fruits at harvest and during the conservation period.

The assays were carried out in two orchards of 'Gala' apple and under three conservation conditions: Controlled Atmosphere + 1-Methylcyclopropene (CA+1-MCP), Dynamic Controlled Atmosphere (DCA) and DCA+1-MCP. The fruits were analyzed at 0, 5 and 8 months



of postharvest conservation and parameters of physical and chemical quality such as weight, diameter, color, firmness, total soluble solids and total acidity were evaluated, as well as organoleptic parameters. For aroma evaluation, the volatiles were collected by solid phase microextraction (SPME) and analyzed by gas chromatography and by gas chromatography-mass spectrometry.

At harvest, the results show that excess nitrogen caused a slight decrease in the size and weight of the fruits. After 5 months of conservation, the fruits subjected to an excess of nitrogen presented firmness higher than the control, when stored in DCA, with and without 1-MCP. In the other qualitative parameters there were no significant differences between treatments and controls, regardless of conservation methodology. After 8 months, the fruits stored under CA+1-MCP conditions showed lower firmness than those kept in DCA. Total soluble solids content was slightly higher in fruits with excess nitrogen.

The apples volatile profile was characterized by trans,trans- α -farnesene and hexyl acetate dominance. Regardless of the agricultural practice, and of the conservation method used, storage for 8 months led to a decrease in volatiles emanation.

In general, preliminary results indicate that conservation in DCA was more effective for maintaining red fruit color and higher firmness.

Keywords: Pre-harvest factors; nitrogen fertilization; irrigation; conservation; fruit quality.

Introdução

Em Portugal, a maçã é uma cultura permanente que ocupa uma posição de destaque na produção, seguida pela laranja e pela pera. A produção média estimada é de 265.000 toneladas/ano, isto é, 0,4% da produção mundial. Em 2018, estima-se que Portugal exportou aproximadamente 54 mil toneladas de maçãs (INE, 2018).

Atualmente existem no país 4 Indicações Geográficas Protegidas para a maçã, das quais a “Maçã de Alcobaça” representa 25% do total da produção nacional.

À semelhança da generalidade das culturas, o desenvolvimento da maceira pode ser afetado por fatores genéticos, ambientais e agronómicos, o que irá influenciar diretamente a qualidade dos frutos. A nível agronómico, a irrigação e a nutrição dos pomares de macieiras são fatores que, quando não aplicados corretamente, podem alterar a qualidade dos frutos ao nível da coloração, da composição química da polpa, do sabor, da forma e o calibre, da textura, da conservação, entre outros (Musacchi & Serra, 2018).

No caso particular da fertilização azotada, aplicações tardias ou excessivas de azoto poderão ser prejudiciais, provocando atraso na maturação dos frutos, favorecendo a queda, o aparecimento de bitter-pit e diminuindo o poder de conservação dos frutos. Afeta também negativamente a qualidade dos mesmos, alterando características como a coloração, o teor de açúcares e a firmeza da polpa (Sharma, 2016).

A rega é outro fator essencial para a cultura da macieira. O stresse hídrico na planta pode ter efeito nocivo na aparência externa e na suculência dos tecidos maduros, e pode também reduzir tanto o peso fresco como o volume dos frutos (Chitarra & Chitarra, 2005). Do mesmo modo, o excesso de humidade, como consequência da rega em excesso, aumenta a incidência de patologias durante a conservação. No entanto, existe pouca informação relativa ao efeito da rega em excesso na qualidade dos frutos na pós-colheita.

Assim, o objetivo deste estudo consiste em avaliar a influência dos fatores culturais de pré-colheita, nomeadamente a fertilização azotada e a irrigação em excesso, na qualidade da maçã de Alcobaça, cultivar ‘Gala’, à colheita e durante o período de conservação.



Material e métodos

Os ensaios foram realizados em dois pomares comerciais, P1 e P2, de maçãs (*Malus domestica* Borkh) cultivar 'Gala' situados no concelho de Alcobaça. As modalidades estudadas foram as seguintes: controlo com rega e azoto normal (RNAN), rega normal e azoto em excesso (RNAE), rega em excesso e azoto normal (REAN), correspondendo a rega e o azoto normal às quantidades indicadas nas Normas de Produção Integrada (PRODI), o excesso de azoto a 40 unidades extras de azoto aplicadas no último mês antes da colheita (total 120 unidades N/ha) e o excesso de rega a um excesso da capacidade de campo, também aplicado no último mês antes da colheita. Foram utilizadas 70 árvores por modalidade e os tratamentos implementados por meio de um sistema de fertirrigação. Os frutos foram aleatoriamente colhidos no estado de maturação comercial e submetidos a três diferentes condições de conservação: A: Atmosfera controlada + 1-metilciclopropeno (AC+1-MCP), B: Atmosfera controlada dinâmica (ACD) e C: Atmosfera controlada dinâmica + 1-MCP (ACD+1-MCP). À colheita (T0) e após 5 e 8 meses de conservação (T5 e T8, respetivamente) foram selecionados 20 frutos de cada modalidade e avaliados parâmetros indicadores de qualidade. Assim, a cor, caracterizada pela luminosidade (L^*) e as coordenadas cromáticas a^* e b^* (Sistema CIELAB), foi avaliada com um colorímetro. Através das coordenadas do modelo CIELAB determinou-se a tonalidade da cor ($^\circ\text{Hue}$). Determinou-se o peso de cada maçã e mediram-se o calibre e altura dos frutos. A dureza da polpa foi determinada usando um penetrómetro Penefel de bancada. O conteúdo em sólidos solúveis totais (SST) foi determinado com um refratómetro analógico manual. A acidez titulável (AT) foi determinada com recurso à volumetria ácido-base, por titulação do sumo com NaOH 0,1N. O índice de qualidade (IQ) gustativa das maçãs, determinou-se através da fórmula $\text{IQ} = \text{SST} + 10 \text{ AT}$, em que SST representa o conteúdo em açúcares totais, expresso em g/L e AT a acidez titulável do sumo das maçãs, em g de ácido málico/L. Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância, e as

médias comparadas pelo Teste Tukey a 5% e 1% de probabilidade, através do software AgroEstat.

Os frutos foram também avaliados sensorialmente por um painel de 8 provadores semi-treinados, à colheita e ao fim de 5 e 8 meses de conservação (Figura 1).



Figura 1 - Análise organolética das maçãs.

Para a avaliação da composição volátil dos frutos, a extração da componente volátil foi realizada por microextração em fase sólida (SPME), à temperatura ambiente, como detalhado em Gonçalves et al. (2020). Os voláteis extraídos por SPME foram analisados por Cromatografia Gasosa (GC) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS), como detalhado em Tavares et al. (2020) (Figura 2).

Foi ainda avaliado o índice de emissão das diferentes amostras, isto é, uma determinação comparativa dos voláteis emitidos pelas maçãs. A composição percentual dos voláteis isolados foi utilizada na determinação da relação entre as diferentes amostras, pela análise

de cluster, usando o programa NTSYS, como detalhado em Gonçalves et al. (2020).

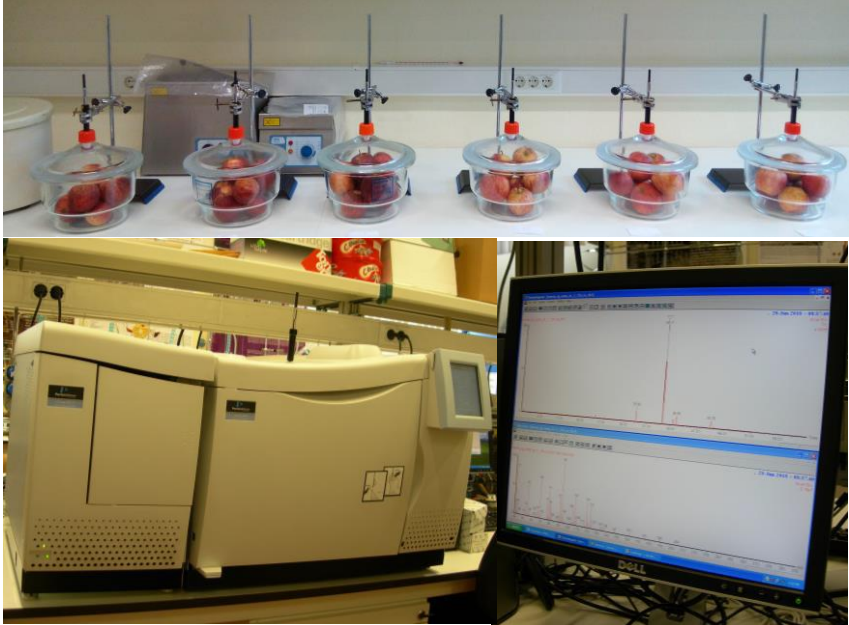


Figura 2 - A. Ensaio de recolha da componente volátil por SPME, de amostras coletivas de maçãs Royal Gala, em T0. **B.** Detalhe das análises de CG-MS, após a recolha dos voláteis, expondo a fibra de SPME no injetor de um cromatógrafo Clarus 600T, ligado a um Perkin-Elmer Turbomass. **C.** Cromatograma de GC-MS, representativo dos voláteis de maçã Royal Gala.

Resultados

À colheita, não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros colorimétricos L^* (luminosidade) e $^{\circ}\text{Hue}$ (tonalidade), como consequências dos excessos de azoto e rega aplicados (Quadro 1). Embora os frutos do pomar P2 tenham apresentado uma coloração ligeiramente mais avermelhada, em geral observou-se bastante heterogeneidade na pigmentação dos frutos em ambos pomares, independentemente da modalidade (Quadro 1).

Relativamente aos parâmetros biométricos, o pomar P1 apresentou frutos com maior peso e tamanho que os do pomar P2, contudo só houve diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os frutos tratados e o controlo nos frutos do pomar P2 (Quadro 1). Neste caso, o excesso de azoto aplicado afetou negativamente o peso e o calibre das maçãs 'Gala'. Estes resultados, embora preliminares, contrariam a ideia generalizada que aplicações de azoto em excesso, durante as semanas que precedem a colheita, provocam um aumento do peso e calibre dos frutos, aumentando assim o rendimento por pomar.

Quadro 1 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros colorimétricos L^* (luminosidade) e $^{\circ}$ Hue (tonalidade), e dos parâmetros biométricos peso e diâmetro dos frutos à colheita.

Modalidade	L^*	$^{\circ}$ Hue	Peso (g)	Diâmetro (mm)
RNAN-P1	48,6 $\pm$ 8,3a	35,0 $\pm$ 18,3a	192,6 $\pm$ 43,4a	75,6 $\pm$ 6,8a
REAN- P1	45,9 $\pm$ 7,7a	35,9 $\pm$ 10,3a	187,2 $\pm$ 40,9a	74,1 $\pm$ 6,6a
RNAN-P2	42,7 $\pm$ 7,5a	32,1 $\pm$ 7,4a	164,9 $\pm$ 27,8b	73,2 $\pm$ 4,5b
RNAE-P2	43,5 $\pm$ 7,1a	33,9 $\pm$ 7,7a	146,4 $\pm$ 21,6a	70,4 $\pm$ 3,9a

Legenda: **RNAN** - Rega Normal-Azoto Normal; **REAN** - Rega Excesso-Azoto Normal; **RNAN** - Rega Excesso-Azoto Normal; **P1** - pomar 1; **P2** - pomar 2.

Nota: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades do mesmo pomar.

No Quadro 2 apresentam-se os valores correspondentes aos parâmetros qualitativos dos frutos, dureza, SST, pH e AT, à colheita. A dureza foi o único parâmetro significativamente afetado pelos tratamentos, verificando-se um pequeno aumento da firmeza nos frutos submetidos ao excesso de azoto.

Após o cálculo do índice de qualidade gustativa dos frutos, que relaciona o conteúdo total de açúcares e a acidez, verificou-se que em geral os



frutos do P1 apresentaram valores mais elevados de IQ que os frutos do P2 (Figura 3), devido a valores superiores quer de SST como de AT (Quadro 2). Observou-se também um decréscimo relativamente aos controlos como consequência da aplicação de azoto ou rega em excesso, sendo mais pronunciado no caso da utilização de N em excesso (Figura 3).

Quadro 2 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão, $n=20$) dos parâmetros qualitativos dureza (Kg/cm^2), teor de sólidos solúveis totais ($^{\circ}\text{Brix}$), pH e acidez titulável (g ác. málico/L) dos frutos à colheita.

Modalidade	Dureza	SST	pH	AT
RNAN-P1	70,2 $\pm$ 7,1a	12,8 $\pm$ 0,5a	3,6 $\pm$ 0,1a	4,5 $\pm$ 0,2a
REAN- P1	72,5 $\pm$ 8,5a	12,7 $\pm$ 0,4a	3,6 $\pm$ 0,1a	4,3 $\pm$ 0,4a
RNAN-P2	71,7 $\pm$ 3,9b	11,4 $\pm$ 0,6a	3,6 $\pm$ 0,0a	3,6 $\pm$ 0,2a
RNAE-P2	74,9 $\pm$ 5,7a	11,2 $\pm$ 0,7a	3,6 $\pm$ 0,0a	3,5 $\pm$ 0,1a

Legenda: RNAN - Rega Normal-Azoto Normal; REAN - Rega Excesso-Azoto Normal; RNAN - Rega Excesso-Azoto Normal; P1 - pomar 1; P2 - pomar 2.

Nota: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades do mesmo pomar.

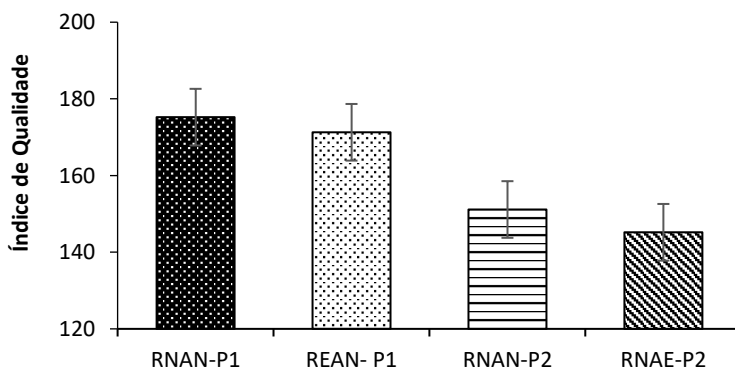


Figura 3 - Índice de qualidade gustativa dos frutos à colheita (T0). As barras representam as médias $\pm$ desvio padrão.

Após 5 meses de conservação em condições de AC+1-MCP (A), ACD (B) e ACD+1-MCP (C), observou-se em todas as modalidades estudadas uma diminuição geral da dureza dos frutos quando comparada com a determinada no momento da colheita (Quadros 2 e 3). Esta diminuição foi mais acentuada em condições de AC (entre 11 e 33%) do que em ACD (entre 0 e 13%). Ainda em comparação à colheita, observou-se em geral um ligeiro aumento dos SST em todas as condições de conservação, enquanto a acidez se manteve praticamente constante, com exceção das modalidades conservadas em AC. Estes frutos apresentaram um aumento significativo nos valores de acidez, quer nos frutos tratados quer nos controlos (Quadros 2 e 3).

Quadro 3 - Valores médios ($\pm$ desvio padrão, n=20) dos parâmetros qualitativos dureza, teor de sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix), pH e acidez titulável (g ác. málico/L) dos frutos, após 5 meses de conservação em AC+1-MCP (A), ACD (B) e ACD+1-MCP (C).

Modalidade	Dureza	SSC	pH	AT
A-RNAN-P1	52,6 $\pm$ 14,1a	13,3 $\pm$ 0,7a	3,7 $\pm$ 0,0a	5,2 $\pm$ 0,5a
A-REAN- P1	47,8 $\pm$ 15,2a	13,4 $\pm$ 0,7a	3,7 $\pm$ 0,1a	5,9 $\pm$ 0,5a
A-RNAN-P2	64,1 $\pm$ 6,4a	11,8 $\pm$ 0,7a	3,6 $\pm$ 0,0a	4,4 $\pm$ 0,0a
A-RNAE-P2	62,6 $\pm$ 9,1a	12,2 $\pm$ 0,9a	3,6 $\pm$ 0,a	4,8 $\pm$ 0,5a
B-RNAN-P1	63,1 $\pm$ 10,8a	12,7 $\pm$ 0,7a	3,6 $\pm$ 0,0a	4,4 $\pm$ 0,2a
B-REAN- P1	63,3 $\pm$ 0,7a	13,1 $\pm$ 0,7a	3,7 $\pm$ 0,0a	4,5 $\pm$ 0,2a
B-RNAN-P2	65,5 $\pm$ 7,7b	12,2 $\pm$ 1,2a	3,7 $\pm$ 0,1a	4,0 $\pm$ 0,3a
B-RNAE-P2	75,5 $\pm$ 6,8 a	12,5 $\pm$ 1,0a	3,5 $\pm$ 0,1a	3,6 $\pm$ 0,5a
C-RNAN-P1	65,8 $\pm$ 4,8a	13,2 $\pm$ 0,7a	3,7 $\pm$ 0,1a	3,9 $\pm$ 0,1b
C-REAN- P1	67,8 $\pm$ 8,8a	13,3 $\pm$ 0,7a	3,7 $\pm$ 0,0a	4,6 $\pm$ 0,2a
C-RNAN-P2	67,9 $\pm$ 9,7b	12,5 $\pm$ 0,9a	3,6 $\pm$ 0,0a	3,7 $\pm$ 0,2a
C-RNAE-P2	74,9 $\pm$ 5,1a	12,1 $\pm$ 0,8a	3,7 $\pm$ 0,1a	3,6 $\pm$ 0,2a

Legenda: RNAN - Rega Normal-Azoto Normal; REAN - Rega Excesso-Azoto Normal; RNAN - Rega Excesso-Azoto Normal; P1 - pomar 1; P2 - pomar 2.. A, B e C-modalidades de conservação. **Nota:** Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre modalidades do mesmo pomar.



Relativamente aos tratamentos, no ensaio com excesso de N, após 5 meses em ACD (B e C) verificou-se a mesma tendência observada à colheita, as maçãs submetidas ao excesso de N apresentaram valores significativamente mais elevados de dureza que os controlos (10-15% superiores), sendo esta diferença mais marcada quando conservadas em ausência de 1-MCP (B) (Quadro 3). Por outro lado, os frutos conservados em AC+1-MCP apresentaram em geral valores de dureza mais baixos que os conservados em ACD, e não houve diferenças significativas derivadas do tratamento com N (Quadro 3). Independentemente das condições de conservação, não se verificaram diferenças significativas nos valores de SST, pH e AT entre os frutos tratados com N e os seus respectivos controlos (Quadro 3). As maçãs submetidas ao excesso de água também não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos parâmetros e condições avaliadas, com exceção das conservadas em ACD+1-MCP (C) que apresentaram um valor de AT ligeiramente maior que o controlo (Quadro 3).

Após 8 meses de conservação, a tendência relativamente à perda de firmeza foi semelhante à observada aos 5 meses. Em geral, em condições de AC+1-MCP, a dureza das maçãs foi significativamente inferior à de aquelas conservadas em ADC, com ou sem 1-MCP (Figura 4). Em AC houve uma perda de firmeza entre 17 e 37% em relação à colheita, enquanto em ACD (B e C) a perda de dureza variou apenas entre 3 e 17%. Embora sem diferenças estatisticamente significativas, observou-se um efeito negativo na dureza após o período de conservação derivado do excesso de rega. Quanto aos tratamentos com excesso de N, os frutos tratados apresentaram durezas ligeiramente superiores aos controlos (Figura 4), contudo as diferenças foram menos acentuadas que após 5 meses de conservação.

Em geral, o teor de SST não variou significativamente em comparação ao 5º mês pós-colheita, independentemente das condições de conservação. Contudo, observaram-se diferenças significativas entre os controlos e os frutos submetidos ao excesso de azoto, sendo neste caso o conteúdo de SST superior nos frutos tratados (4-7%).

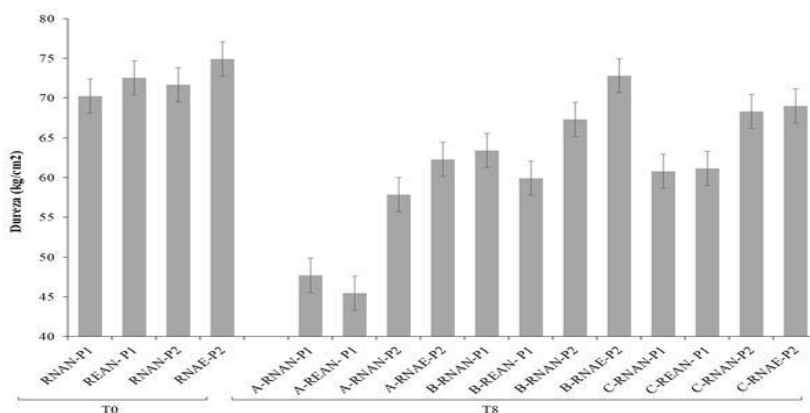


Figura 4 - Dureza dos frutos à colheita (T0) e após 8 meses de conservação (T8) em AC+1-MCP (A), ACD (B) e ACD+1-MCP (C). As barras representam as médias $\pm$ desvio padrão.

Relativamente à AT, não houve diferenças nos valores entre os diferentes sistemas de conservação. Em geral quase todos desceram alcançando valores entre 3,2 e 3,8 g ác. málico/L. Não houve diferenças significativas entre os frutos submetidos ao excesso de N ou rega e os respetivos controlos, com exceção dos frutos submetidos ao excesso de rega e conservados em ACD+1-MCP que apresentaram um valor de AT superior ao controlo (4,1 e 3,4 g ác. málico/L, respectivamente).

O perfil volátil das maçãs analisadas à colheita (T0) foi caracterizado pela dominância de 8 compostos, dos quais se destacaram o trans,trans- α -farneseno (36-55 %) e acetato de hexilo (9-23 %) (Ferro Rodrigues, 2019; Tavares, 2020).

A análise comparativa da componente volátil em T0 e T8, mostra as amostras agrupadas consoante o momento temporal, ou seja, as amostras analisadas após 8 meses de conservação (T8) constituem o cluster A e as amostras analisadas após colheita (T0) constituem o cluster B (Figura 5). Esta separação foi determinada, não só por variação na proporção dos compostos, mas, também, pela presença, apenas nos

voláteis das maçãs armazenadas, de quantidades apreciáveis de 2-etil-1-hexanol.

De um total de 26 amostras coletivas, 20 constituíram o cluster A, que se caracterizou pela dominância de trans,trans- α -farneseno (56-94 %), 2-etil-1-hexanol (1-36 %) e éster 2-etil hexilo (vestigial-14 %). Os voláteis isolados dos frutos agrupados no cluster B, constituído pelas restantes 6 amostras coletivas, caracterizaram-se igualmente por dominância de trans,trans- α -farneseno (36-55 %) e acetato de hexilo (9-23 %).

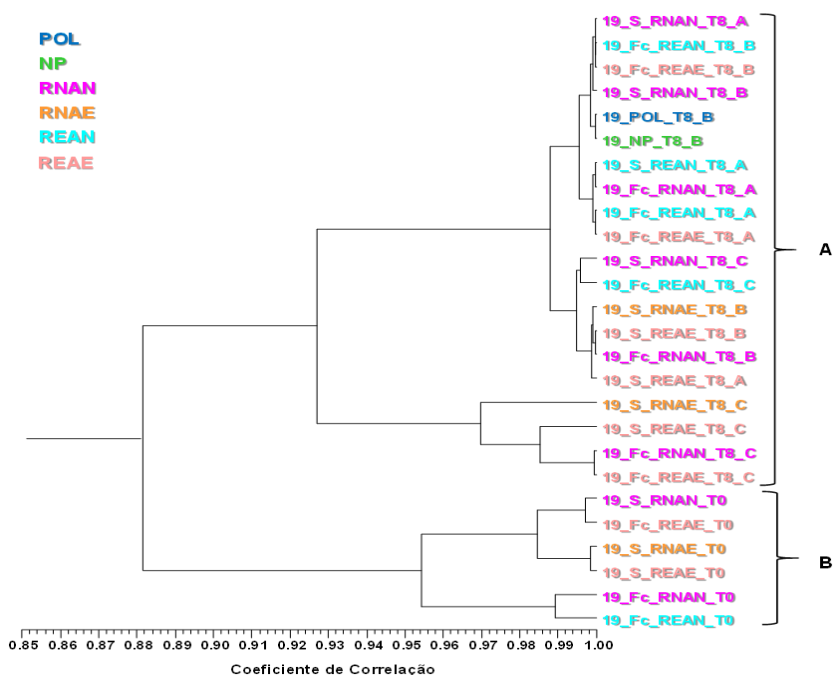


Figura 5 - Dendrograma obtido por análise aglomerativa em grupos da composição percentual dos voláteis, extraídos por SPME em T0 e T8, utilizando o agrupamento segundo a associação média (UPGMA) na definição dos clusters. P1: Fc; P2: S; **RNAN** - Rega Normal-Azoto Normal; **REAN** - Rega Excesso-Azoto Normal; **RNAN** - Rega Excesso-Azoto Normal; **A**: AC+1-MCP; **B**: ACD, **C**: ACD+1-MCP.

O impacto do período, e modo de conservação, foi também visível na comparação do índice de emissão em T0 e T8, (Figura 6). As maçãs da modalidade de produção RNAN (Rega normal e Azoto normal) mostraram maior conservação na emissão dos voláteis pelo método de conservação A (Figura 6). As maçãs mantidas na modalidade RNAE (Rega normal e Azoto em excesso), apresentaram uma maior redução de emissão dos componentes principais de T0 para T8. De uma forma geral, o método de conservação A, mostrou ser o que teve menor impacto entre os três métodos testados para o armazenamento das maçãs (Figura 6).

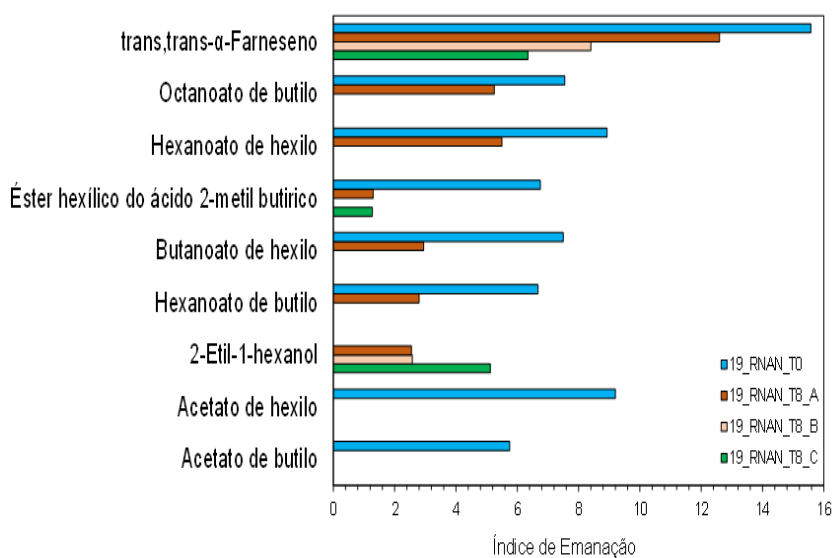


Figura 6. Variação do índice de emissão de compostos majoritários para a modalidade de produção RNAN em T0 e T8, de acordo com as condições de conservação (A, B ou C). **A:** AC+1-MCP; **B:** ACD, **C:** ACD+1-MCP.

A avaliação organoléptica mostrou que após 5 meses de conservação, a amostra RNAN conservada em ACD+1-MCP foi a mais firme e a amostra

com rega em excesso (REAN) e conservada em AC+1-MCP foi a menos firme.

Ao fim de 8 meses de conservação, e em relação aos valores da colheita, os resultados evidenciam uma enorme dispersão em todos os atributos de todas as modalidades (Figura 7). De salientar que as amostras com azoto em excesso (RNAE) conservadas em ACD+1-MCP foram consideradas as mais firmes, com melhor aspeto exterior e interior, melhor crocância e sabor, ou seja, a que sofreu menos depreciação.

A modalidade com rega em excesso (REAN) e conservação AC+1-MCP foi a que apresentou uma qualidade inferior da polpa, com manchas e tons escurecidos da epiderme.

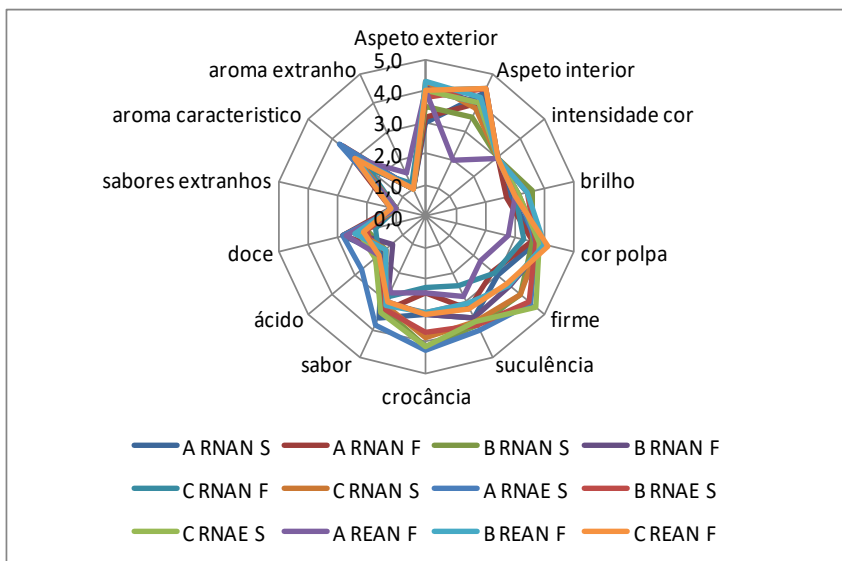


Figura 7. Perfil sensorial das maçãs aos 8 meses de conservação.

Quanto a fisiopatias, nas modalidades com excesso de rega e de azoto, os frutos apresentaram maior incidência de bitter pit comparativamente aos respectivos controlos, independentemente da metodologia de conservação utilizada. A percentagem de incidência nos

controles variou entre 0 e 10%, enquanto nos frutos submetidos aos tratamentos variou entre 10 e 15%.

Referências Bibliográficas

- Chitarra, M.I.F. & Chitarra, A.B. 2005. Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e Manuseio. Editora UFLA, Lavras.
- Ferro Rodrigues, C., 2019. Relatório de bolsa de investigação no âmbito do Projeto SafeApple -Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero (PDR2020-101-031742). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL).
- Gonçalves, E., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Henriques, J., Sousa, E., Bonifácio, L., 2020. Effect of *Monochamus galloprovincialis* feeding on *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, oleoresin and insect volatiles. *Phytochemistry* 169, 112159.
- INE 2018. www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_main
- Musacchi, S. & Serra, S. 2018. Apple fruit quality: Overview on pre harvest factors. *Scientia Horticulturae* 234:409-430.
- Sharma, L. K. 2016. Effect of nutrients sprays on growth, yield and fruit quality of apple under cold desert condition of Himachal Pradesh. *Journal of Applied and Natural Science* 8:297-300.
- Tavares, C.S., 2020. Relatório de atividades da prestação de serviços no âmbito do Projeto SafeApple – Conservação da Qualidade da Maçã de Alcobaça: objetivo resíduos zero (PDR2020-101-031742). Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL)
- Tavares, C.S., Martins, A., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Duarte, L.C., Gameiro, J.A., Roseiro, L.B., Figueiredo, A.C., 2020. Bioproducts from Forest Biomass: essential oils and hydrolates from wastes of *Cupressus lusitanica* Mill. and *Cistus ladanifer* L. *Industrial Crops and Products* 144, 112034.

GO Valorização da produção da Cereja de Resende e posicionamento da sub-fileira nos mercados



Parceria

UTAD – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (**Líder**);
CERMOUROS – Cerejas de São Martinho de Mouros, Lda;
CMR - Município de Resende;
DOLMEN – Desenvolvimento Local e Regional, CRL;
MULTIPLOFRUTOS – Produção e Comercialização de Frutos, Lda;
PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE FRUTOS LDA;
Produtor - Armindo Pinto Barbosa;
Produtor - Fernando Vieira Pinto.

Palavras-chave: cereja de Resende; inovação dos sistemas de produção; valorização.

Website: <https://gocerejaresende.pt/projectos>

Investimento total: 391 502,34 €

Logótipos dos parceiros



Objectivos do GO Cereja de Resende

O Grupo Operacional para a valorização da produção da Cereja de Resende e para o posicionamento da subfileira nos mercados, tem os seguintes objetivos específicos:

- i) Caracterizar o funcionamento da subfileira da Cereja na região de Resende, desde a produção ao consumo, bem como identificar as combinações porta-enxerto x cultivar com um maior impacto na qualidade e quantidade da produção de cereja na região;
- ii) Estudar o comportamento fisiológico e produtivo das cultivares de cerejeira mais representativas da produção de cereja em Resende;
- iii) Conhecer a influência da aplicação de diferentes dotações e períodos de rega na capacidade produtiva e na qualidade da cereja, em pomares cobertos com rede e não cobertos;
- iv) Avaliar a aplicação de nutrientes (fósforo, potássio, zinco, cálcio, boro e magnésio) na capacidade produtiva e na qualidade da cereja em pomares instalados a diferentes cotas;
- v) Avaliar a eficácia de estruturas de suporte em rede como meio de proteção dos pomares à chuva (um dos aspetos que mais influencia o rachamento dos frutos) e à incidência de afídeos, mosca-da-cereja (*Rhagoletis cerasi*), mosca-de-asa-manchada (*Drosophila suzukii*), e monília (*Monilia spp.*) bem como a eficácia das técnicas de captura em massa dos agentes nocivos e de produtos fitofarmacêuticos;
- vi) Estudar o efeito da aplicação pré-colheita de bioestimulantes (à base de algas marinhas) e reguladores de crescimento (ácido giberélico, GA3) na quantidade e qualidade da cereja produzida; vi) Disseminação e demonstração do conhecimento gerado no âmbito deste GO junto dos diferentes agentes da subfileira da Cereja de Resende.

Equipa do GO Cereja de Resende

Entidades	Pessoas
UTAD	Ana Maria Nazaré Pereira
	Ana Paula Silva
	Alice Vilela
	Aureliano Malheiro
	Berta Gonçalves
	Carlos Ribeiro
	Eunice Bacelar
	Fernando Raimundo
	João Coutinho
	João Ricardo Sousa
	Isabel Cortez
	Sandra Pereira
CMR	Manuel Garcez Trindade
	Sérgio Pinto
DOLMEN	Elsa Pinheiro
	Luis Rocha
CERMOUROS	Francisco Guedes
	José de Almeida
MULTIPLOFRUTOS -	Francisco Guedes
	José de Almeida
Armindo Pinto Barbosa	Armindo Pinto Barbosa
Fernando Vieira Pinto	Fernando Vieira Pinto

Valorização da produção da Cereja de Resende e posicionamento da sub-fileira nos mercados

Berta Gonçalves^{1,2}, Sandra Pereira^{1,2}, João Ricardo Sousa^{1,3}, Fernando Raimundo^{1,3}, Armindo Barbosa¹, Carlos Ribeiro¹, Alice Vilela^{1,3}, Ana Paula Silva^{1,2}

¹ UTAD – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

² CITAB – Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas

³ CQ-VR – Centro de Química, Rua Padre Manuel Cardoso n.1232, 4660-220 Resende, Portugal

Resumo

Este projeto tem como principais objetivos i) caracterizar o funcionamento da subfileira da cereja na região de Resende; ii) identificar as combinações porta-enxerto e cultivar com um maior impacto na qualidade e quantidade da produção de cereja na região; iii) adotar métodos e tecnologias inovadoras por parte dos produtores, por forma a rentabilizar mais a subfileira da cereja.

A aplicação foliar de macronutrientes em pré-colheita apresenta-se como uma estratégia que permite corrigir as carências de nutrientes das cerejeiras de uma forma rápida e eficiente, permitindo, consequentemente, um aumento da quantidade e da qualidade da cereja. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação foliar de magnésio (KITPLANT Mg) e potássio (KALENGOR K) na produção e qualidade da cereja. O ensaio experimental foi instalado em 2019 num pomar de cerejeiras da cultivar Burlat, localizado na freguesia de Caldas de Aregos, Resende. Foram realizados cinco tratamentos: KITPLANT Mg (125 e 250 g/hL), KALENGOR K (75 e 150 mL/hL) e um tratamento (controlo positivo), contendo as concentrações mais elevadas de ambos os produtos, num total de 15 árvores por tratamento. À colheita, foi avaliada a produção média por árvore e ainda o calibre dos frutos, cor e textura, conteúdo em sólidos

solúveis totais (SST), pH, acidez titulável, índice de maturação, ceras cuticulares solúveis e índice de rachamento. A análise sensorial das cerejas dos diferentes tratamentos foi realizada por um painel de provadores treinados, tendo em conta 15 atributos de qualidade do fruto, nomeadamente, aparência, maciez da epiderme, intensidade da cor, uniformidade da cor, cor do pedúnculo, intensidade do odor, gosto doce, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, gosto estranho, sabor a cereja, sabor estranho, firmeza e suculência.

A produção de cereja por árvore foi significativamente maior nas árvores com aplicação da dose mais baixa de Mg (125 g/hL) e nas árvores com aplicação combinada dos 2 compostos em comparação com as cerejeiras tratadas com a dose mais baixa de K (75 mL/hL). A aplicação de K (150 mL/hL) permitiu aumentar o calibre do fruto, a intensidade da cor, a força de rutura da epiderme, a firmeza da polpa, o conteúdo em SST, o pH e antecipar a maturação. No entanto, estes resultados associados a um menor conteúdo em ceras cuticulares fazem com que as cerejas com aplicação da dose mais elevada de K apresentem um índice de rachamento superior às cerejas tratadas com Mg, podendo, em anos com chuva próxima da colheita, levar a perdas significativas de produção, com diminuição da rentabilidade dos produtores.

Palavras-chave: *Prunus avium* L.; cv. Burlat; magnésio; potássio; perfil sensorial; qualidade do fruto.

Abstract

This project has as main objectives i) characterize the functioning of the cherry sub-row in Resende region; ii) identify the scion x rootstock combinations with the greatest impact on yield and quality of cherry production in the region; iii) adopt innovative strategies by the producers, in order to make the cherry sub-row more profitable.

The pre-harvest foliar application of macronutrients presents itself as a strategy that allows the correction of nutrient deficiencies in cherry

trees in a fast and efficient way, thus allowing an increase in the quantity and quality of the cherry. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of foliar application of magnesium (KITPLANT Mg) and potassium (KALENGOR K) on cherry yield and quality. The experimental trial was installed in 2019 in a cherry orchard of the cultivar Burlat, located in Caldas de Aregos, Resende. Five treatments were carried out: KITPLANT Mg (125 and 250 g/hL), KALENGOR K (75 and 150 mL/hL) and a mix treatment (positive control), containing the highest concentrations of both products, in a total of 15 trees per treatment. At harvest, the average production per tree was evaluated, as well as the fruit size, colour, texture, the content of total soluble solids (TSS), pH, titratable acidity, maturation index, soluble cuticular waxes and cracking index. The sensory analysis of the cherries from the different treatments was carried out by a panel of trained tasters, taking into account 15 quality attributes of the fruit (appearance, softness of the epidermis, colour intensity, colour uniformity, stem colour, odor intensity, sweet taste, sour taste, bitter taste, astringency, off-taste, cherry flavor, off-taste, firmness and juiciness).

Cherry production per tree was significantly higher for trees with the lowest dose of Mg (125 g/hL) and for trees with combined application of the 2 compounds compared to cherry trees treated with the lowest dose of K (75 mL /hL). The application of K (150 mL/hL) increased the fruit size, the intensity of the colour, the breaking strength of the epidermis, the firmness of the pulp, the TSS content, pH and its maturation. However, these results, associated with a lower content of cuticular waxes, increased the fruit cracking index, which may, in years with rain close to harvest, lead to significant production losses, with reduced profitability for producers.

Keywords: *Prunus avium* L.; cv. Burlat, magnesium;, potassium; sensorial profile; fruit quality.

Introdução

A cereja é um dos frutos não climatéricos mais populares e com uma grande importância comercial. Este fruto é muito apreciado devido ao seu sabor agradável, cor e doçura (Ballistreri et al., 2013). Além disso, as cerejas são também extremamente valorizadas devido ao seu alto teor de compostos bioativos, como fenólicos, vitamina C (Schmitz-Eiberger & Blanke, 2012) e minerais, como potássio, fósforo, cálcio e magnésio (Yigit et al., 2009). Além disso, este pequeno fruto apresenta alto teor de água, baixo teor de gordura, principalmente gordura saturada, sem colesterol e baixo índice glicémico (Brand-Miller & Foster-Powell, 1999).

De acordo com a FAOSTAT, em 2019, foram produzidas 2 595 812 t de cereja no mundo, numa área cultivada de 443 771 ha (FAOSTAT, 2021). Naquele ano, os principais produtores mundiais foram a Turquia, Estados Unidos da América, Chile, Uzbequistão e Irão (FAOSTAT, 2021). Portugal produziu, no mesmo ano, 19 130 t numa área total cultivada de 6 060 ha (FAOSTAT, 2021). A produção nacional de cereja distribuiu-se por 3 regiões principais: Entre-Douro-e-Minho, Trás-os-Montes e Beira Interior. Na região de Resende (distrito de Viseu, Entre-Douro-e-Minho) a colheita inicia-se em meados de abril e prolonga-se até meados de julho. Devido às suas excelentes condições edafoclimáticas, a produção de cereja nesta região é responsável por 90% da produção da região de Entre-Douro-e-Minho e por cerca de 30% da produção total do Norte de Portugal, contribuindo de forma decisiva para a valorização da região. No entanto, a produtividade nacional de cereja é significativamente inferior à produtividade média de outros países, devido à existência de um elevado número de explorações de pequena dimensão, com tecnologias de produção muito tradicionais, árvores de grande porte, colheita cara e fertilização e regas desajustadas em relação às necessidades das plantas, como consequência do baixo nível de especialização da gestão das explorações.

Várias estratégias têm sido desenvolvidas no sentido de aumentar a produção e/ou a qualidade da cereja, nomeadamente com a aplicação

foliar de nutrientes minerais. Neste sentido, a aplicação foliar em pré-colheita de macronutrientes, como o magnésio (Mg) e o potássio (K), é uma abordagem promissora que tem sido implementada para melhorar os atributos de qualidade deste fruto.

O magnésio (Mg) é um dos nutrientes essenciais para o crescimento das plantas, e é essencial para a função de muitas enzimas, incluindo adenosina trifosfatases (ATPases), RNA polimerases, fosfatases, proteínas quinases, glutatona sintase e carboxilases (Shaul, 2002). Em plantas superiores, o Mg é essencial para os cloroplastos, sendo o átomo central na molécula da clorofila e um elemento de ponte para a agregação das subunidades do ribossoma, necessárias para a síntese proteica (Beale, 1999). Por ser pouco absorvido pelos colóides do solo, o Mg é altamente suscetível à lixiviação, sendo este o fator mais importante na redução da disponibilidade de Mg para as raízes (Hermans et al., 2004).

O potássio (K) é o nutriente mineral catiónico requerido em maiores quantidades pelas plantas. É também um dos fatores mais importantes que influenciam o metabolismo, o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade da cultura, desempenhando papéis indispensáveis numa ampla gama de funções: fotossíntese, ativação de enzimas, síntese de proteínas e potencial osmótico (Marschner, 1995). A deficiência de K resulta numa diminuição da taxa fotossintética líquida (Zhao et al., 2001), diminuindo consequentemente o rendimento da colheita.

Material e Métodos

Descrição do ensaio experimental

Este estudo decorreu num pomar à cota média de 150 m, localizado no concelho de Resende, com cerca de 3,72 ha (Figura 1).

Para cada tratamento, foram selecionadas 15 árvores da cultivar Burlat enxertadas em Colt, com 8 anos de idade. O compasso de plantação é de 3 m na linha e 5 m na entrelinha. Todas as árvores do ensaio possuíam rega gota-a-gota e eram igualmente fertilizadas pelo

produtor, com exceção dos compostos em estudo: Mg (125 e 250 g/hL) e K (75 e 150 mL/hL). Foram ainda monitorizadas 15 árvores onde foi feita a aplicação combinada da dose mais elevada dos 2 compostos.

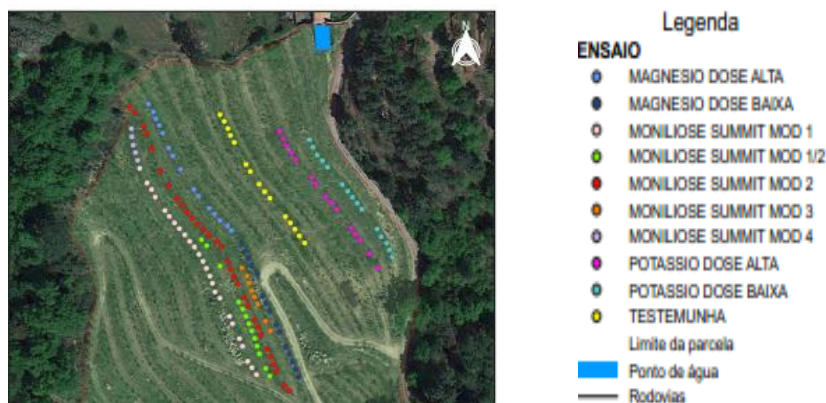


Figura 1 – Esquema do pomar onde se realizou o ensaio experimental, com georreferenciação das árvores selecionadas para cada tratamento.

Produção por árvore

Na altura da colheita, foi contabilizada a produção individual (cerejas sãs e refugo) de cada árvore dos diversos tratamentos do ensaio (Figura 2). Por forma a calcular o TCSA (“trunk crop section area”), foi também medido a circunferência do tronco 10 cm acima da zona de enxertia. A produtividade foi obtida



Figura 2 – Colheita da cereja e avaliação da produção por árvore.

por divisão da produção de cada árvore pela área do seu tronco (kg/cm^2).

Parâmetros biométricos

Foram utilizados 30 frutos sãos por tratamento para determinação do peso (g/fruto), usando uma balança eletrónica EW2200-2NM, Kern, Alemanha), e determinação das dimensões, ou seja, da altura, diâmetro maior e diâmetro menor de cada fruto (mm), recorrendo a um paquímetro digital (Mitutoyo, Reino Unido) (Figura 3).



Figura 3 – Determinação do peso e do calibre da cereja da cv. Burlat.

Parâmetros colorimétricos

A cor dos frutos (Figura 4) foi analisada em 2 lados opostos dos mesmos 30 frutos utilizados para determinação do peso e das dimensões, utilizando um colorímetro (CR-300 Minolta, Japão), e obtendo-se assim os valores de L^* , a^* e b^* . O croma de cada cereja (C^*) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula: $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ (Gonçalves et al., 2007; Giménez et al., 2016).

A coordenada L^* indica o brilho e varia entre 0 (completamente opaco ou preto) e 100 (completamente transparente ou branco).

Um valor positivo de a^* é indicativo de cor vermelha e um valor negativo indica que o fruto está verde. Por outro lado, um valor positivo de b^* é indicativo de cor amarelada e um valor negativo indica cor azul (Voss, 1992; Hutchings, 1994).

A tonalidade foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: $\text{hue}^\circ = \arctg(b^*/a^*)$ e expressa a nuance da cor (Voss, 1992). Os seus valores são definidos como: 0° corresponde a vermelho-púrpura, 90° corresponde a amarelo, 180° corresponde a verde azulado e 270° corresponde a azul (McGuire, 1992).



Figura 4 – Determinação dos parâmetros colorimétricos da cereja da cv. Burlat.

Parâmetros de textura

A força de rutura da epiderme (N) e a firmeza da polpa (N.mm^{-1}) foram determinadas (Figura 5), nos mesmos 30 frutos, com recurso a um texturómetro (Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido), empregando uma célula de carga de 50 N e uma sonda cilíndrica com 2 mm

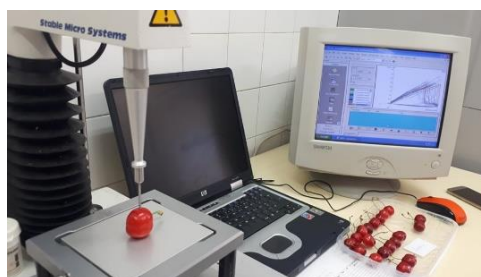


Figura 5 – Avaliação dos parâmetros de textura da cereja da cv. Burlat.

de diâmetro. A força máxima de compressão de 5 mm foi medida a uma velocidade de 1 mm.s^{-1} (Correia et al., 2019).

Sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e índice de maturação

Os mesmos 30 frutos utilizados previamente foram depois divididos em 3 grupos de 10 cerejas cada. O sumo desses frutos foi extraído com um extrator elétrico (ZN350C70, Tefal Elea, China), durante aproximadamente 1 minuto.

O conteúdo em sólidos solúveis totais (SST, em °Brix) foi determinado usando um refratómetro digital (PR-101, Atago, Japão). O pH do sumo foi avaliado com um medidor de pH (Jenway 3310) e a acidez titulável (AT, g ácido málico/100 g de peso fresco) foi determinada numa mistura de 10 mL



Figura 6 – Quantificação do conteúdo em SST, pH e acidez titulável da cereja da cv. Burlat.

de sumo com 10 mL de água destilada. Foi adicionado hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol/L à mistura, até obtenção de pH 8,2, usando um titulador automático (Schott Easy Titroline) (Figura 6). O índice de maturação (IM) foi calculado através da razão entre SST e AT (Correia et al., 2019).

Conteúdo em ceras cuticulares solúveis

O conteúdo em ceras cuticulares (Figura 7) foi avaliado em duas cerejas sãs e sem defeitos, de cada árvore, através da imersão destas numa mistura de clorofórmio:metanol (3:1) durante 2 minutos. Os frutos foram de seguida descartados sendo que a mistura foi transferida para um copo previamente identificado e pesado, que ficou depois a secar

ao ar até total evaporação da solução. A diferença entre o peso final e o peso inicial do copo, bem como o peso dos frutos foram utilizados nos cálculos para determinação do conteúdo em ceras ($\mu\text{g/g}$).

Índice de rachamento

Para avaliação do índice de rachamento, 150 cerejas são por tratamento foram distribuídas por 3 tinas onde previamente se colocaram 2 litros de água destilada em cada (Figura 8). O aparecimento de fendas (laterais, apicais e pedunculares) nas cerejas foi observado e contabilizado às 2 h (a), 4 h (b) e 6 h (c) após a imersão, e o cálculo do índice de rachamento foi efetuado de acordo com a seguinte fórmula:

$$IR = \frac{(5a+3b+c)}{250} * 100$$



Figura 7 – Determinação do conteúdo de ceras cuticulares da cereja da cv. Burlat.



Figura 8 – Avaliação do índice de rachamento da cereja da cv. Burlat.

Análise sensorial

A qualidade sensorial das cerejas foi avaliada por um painel de 12 provadores, com treino prévio (ISO 8586-1:1993; ISO 5496:2006; ISO 8587:2006) (Figura 9).

Quinze atributos de qualidade da cereja, nomeadamente, aparência, maciez da epiderme, intensidade da cor, uniformidade da cor, cor do

pedúnculo, intensidade do odor, gosto doce, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, gosto estranho, sabor a cereja, sabor estranho, firmeza e suculência, foram analisados em 2 cerejas de cada tratamento, por cada provador (Chauvin et al., 2009). A intensidade de cada atributo foi pontuada numa escala de cinco pontos, variando de 1 (intensidade mais baixa) a 5 (intensidade mais alta) (ISO, 2007; Vilela et al., 2016).

Todas as análises sensoriais decorreram numa sala com ambiente controlado e material necessário para cada tarefa (ISO 8589:2007). A metodologia de análise utilizada passou por uma Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) que permitiu o desenvolvimento do perfil sensorial da cereja por tratamento (ISO 13299:2003), com descritores apropriados para todos os parâmetros sensoriais avaliados (aparência, cor, aroma, sabor, flavor e textura) e escalas quantitativas adequadas (ISO 4121:2003).



Figura 9 – Prova sensorial de cereja realizada pelo painel de provadores da ECVA/UTAD

Principais Resultados

Produção por árvore

Os valores da produção média por árvore de cada tratamento encontram-se na Figura 10.

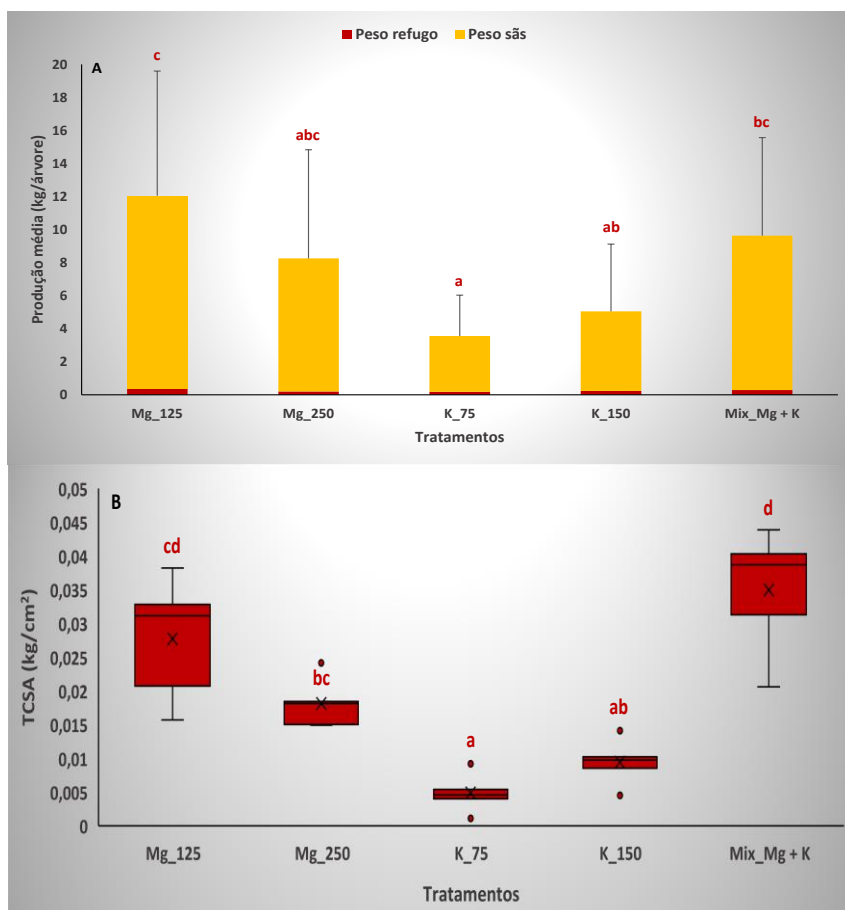


Figura 10 – A- Produção média (kg/árvore) e **B -** TCSA (kg/cm²) de cerejeiras da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

A produção média foi significativamente maior nas árvores com aplicação da dose mais baixa de Mg (125 g/hL) e nas árvores com aplicação combinada dos 2 compostos em comparação com as cerejeiras tratadas com a dose mais baixa de K (75 mL/hL). Os valores

de TCSA seguiram o mesmo perfil da produção média por árvore, sendo que a dose mais elevada de Mg (250 g/hL) apresentou também, neste parâmetro, um aumento significativo em comparação com as cerejeiras tratadas com a dose mais baixa de K (75 mL/hL).

Parâmetros biométricos

Os resultados obtidos para o peso e dimensões das 30 cerejas analisadas por tratamento estão presentes no Quadro 1.

As árvores com aplicação da dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram as cerejas com o maior calibre.

Quadro 1 – Biometria (peso, diâmetro maior, diâmetro menor e altura) de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

	Peso (g)	D. maior (mm)	D. menor (mm)	Altura (mm)
Mg_125	7,54 $\pm$ 0,53 b	25,67 $\pm$ 0,91 c	20,90 $\pm$ 0,62 ab	23,30 $\pm$ 0,80 c
Mg_250	6,99 $\pm$ 0,43 a	24,88 $\pm$ 0,69 ab	20,57 $\pm$ 0,93 a	22,09 $\pm$ 0,68 ab
K_75	7,63 $\pm$ 0,79 bc	25,63 $\pm$ 1,14 bc	20,99 $\pm$ 0,79 ab	21,97 $\pm$ 1,06 a
K_150	8,12 $\pm$ 1,04 c	25,76 $\pm$ 1,42 c	21,48 $\pm$ 1,17 b	22,68 $\pm$ 1,15 bc
Mix_Mg+K	7,35 $\pm$ 0,73 ab	24,71 $\pm$ 1,10 a	20,86 $\pm$ 0,91 ab	22,49 $\pm$ 1,06 ab

Parâmetros colorimétricos

Os parâmetros colorimétricos dos frutos provenientes de árvores tratadas com diferentes doses de Mg e K encontram-se no Quadro 2. Para além de apresentarem frutos maiores, as árvores com aplicação da dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram simultaneamente os valores mais baixos para todos os parâmetros colorimétricos analisados, indicando por isso cerejas mais escuras e vermelhas, e

consequentemente mais maduras. Pelo contrário, as cerejas provenientes das árvores com aplicação combinada dos 2 compostos apresentaram, de um modo geral, os valores mais elevados, indicando por isso frutos menos maduros.

Quadro 2 – Parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , croma e tonalidade) de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

	L^*	a^*	b^*	Croma (C^*)	Tonalidade (h°)
Mg_125	32,51 $\pm$ 2,35b	24,10 $\pm$ 4,88bc	9,51 $\pm$ 3,45c	25,95 $\pm$ 5,80bc	20,96 $\pm$ 2,92c
Mg_250	32,23 $\pm$ 1,81ab	23,34 $\pm$ 4,32bc	8,71 $\pm$ 2,64bc	24,94 $\pm$ 4,95bc	20,04 $\pm$ 2,45bc
K_75	31,49 $\pm$ 2,32ab	21,84 $\pm$ 5,07ab	7,86 $\pm$ 3,20ab	23,25 $\pm$ 5,84ab	19,17 $\pm$ 3,15ab
K_150	31,26 $\pm$ 1,58a	19,84 $\pm$ 4,26a	6,55 $\pm$ 2,39a	20,92 $\pm$ 4,76a	17,76 $\pm$ 2,92a
Mix_Mg+K	31,54 $\pm$ 2,64ab	25,22 $\pm$ 5,12c	10,23 $\pm$ 3,63c	27,25 $\pm$ 6,10c	21,44 $\pm$ 3,06c

Parâmetros de textura

Os dados relativos à força de rutura da epiderme e à firmeza da polpa dos frutos dos diferentes tratamentos são apresentados na Figura 11. Os dois parâmetros analisados apresentam um perfil similar entre si. Todas as cerejas com aplicação isolada de Mg ou de K, independentemente da dose, apresentaram uma força de rutura da epiderme significativamente superior às cerejas com aplicação combinada dos 2 compostos. Em relação à firmeza da polpa, apesar do efeito similar, apenas as cerejas com aplicação da dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram um aumento significativo deste parâmetro em relação à aplicação combinada dos compostos.

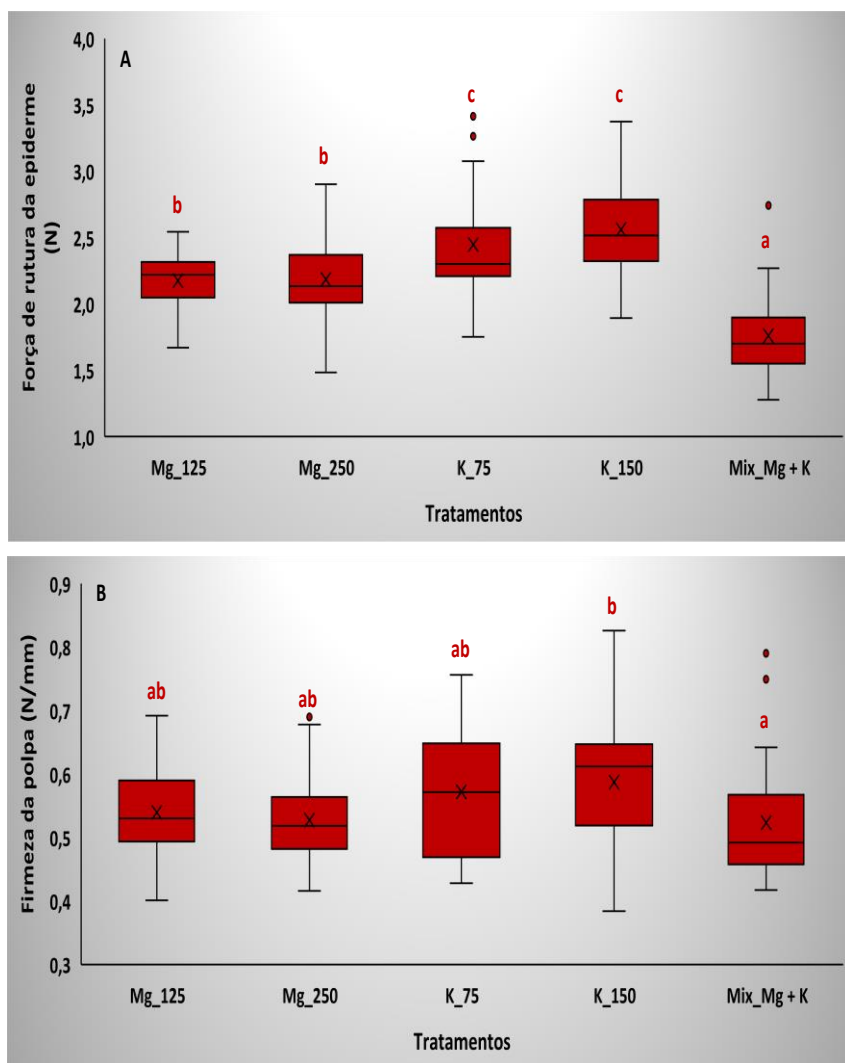


Figura 11 – A- Força de rutura da epiderme e B- firmeza da polpa, de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e índice de maturação

Os valores médios do conteúdo em sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e índice de maturação das cerejas por tratamento estão presentes no Quadro 3. Os frutos das árvores previamente tratadas com a dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram os valores mais elevados de SST e pH. Apesar de não existirem diferenças significativas no índice de maturação entre tratamentos, as cerejas tratadas com a dose mais elevada de K apresentaram também o valor de IM mais elevado, corroborando os valores mais baixos observados nos parâmetros colorimétricos, e reforçando o estado de maturação mais avançado dessas cerejas.

Quadro 3 – Conteúdo em sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e índice de maturação de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

	STT (°Brix)	pH	Acidez titulável (% ac. málico)	Índice maturação (SST/AT)
Mg_125	16,07 $\pm$ 0,31 b	3,64 $\pm$ 0,03 a	5,31 $\pm$ 0,58 a	3,04 $\pm$ 0,27 a
Mg_250	15,33 $\pm$ 0,51 ab	3,67 $\pm$ 0,03 ab	4,89 $\pm$ 0,33 a	3,14 $\pm$ 0,25 a
K_75	17,60 $\pm$ 0,46 c	3,74 $\pm$ 0,04 b	6,18 $\pm$ 0,39 a	2,86 $\pm$ 0,23 a
K_150	17,33 $\pm$ 0,25 c	3,84 $\pm$ 0,01 c	5,10 $\pm$ 0,23 a	3,40 $\pm$ 0,10 a
Mix_Mg+K	14,70 $\pm$ 0,30 a	3,70 $\pm$ 0,02 ab	5,07 $\pm$ 1,15 a	3,01 $\pm$ 0,74 a

Conteúdo em ceras cuticulares solúveis

O conteúdo em ceras cuticulares dos frutos provenientes de árvores com aplicação de diferentes doses de Mg e K estão presentes na Figura 12. As cerejas com aplicação de ambas as doses de Mg e da dose mais baixa de K apresentaram conteúdo em ceras significativamente superior aos frutos com aplicação combinada dos 2 compostos. Por

outro lado, as cerejas com aplicação da dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram também um conteúdo em ceras cuticulares significativamente mais baixo do que os frutos das árvores tratadas com a dose mais elevada de Mg (250 g/hL) e com a dose mais baixa de K (75 mL/hL).

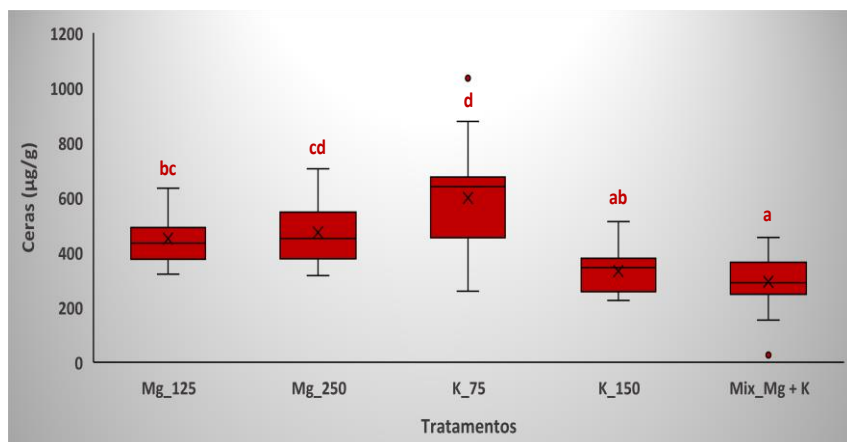


Figura 12 – Conteúdo em ceras cuticulares (µg/g) de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Índice de rachamento

Os valores médios do índice de rachamento das cerejas provenientes de árvores após aplicação de diferentes doses de Mg e K encontram-se na Figura 13.

As cerejas com aplicação da dose mais elevada de K (150 mL/hL) apresentaram um maior índice de rachamento, o que pode estar relacionado com o maior calibre destes frutos, firmeza e conteúdo em SST, bem como com o menor conteúdo de ceras cuticulares.

Por outro lado, a aplicação de Mg, quer de forma isolada quer em combinação com o K, parece ter um efeito benéfico na redução desta desordem fisiológica, em comparação com a aplicação isolada de K.

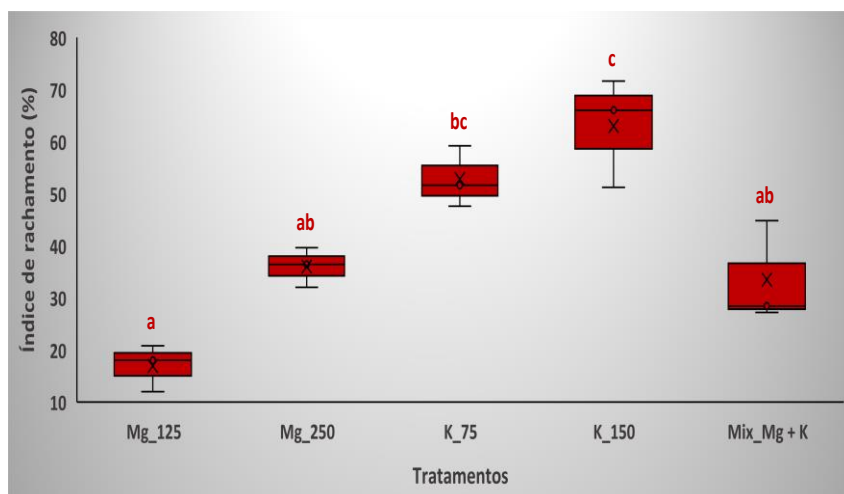


Figura 13 – Índice de rachamento (%) de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais indicam diferenças não significativas ($P > 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Análise sensorial

Os resultados obtidos através da prova sensorial de cerejas efetuada pelo painel de provadores estão presentes na Figura 14.

Foram observadas diferenças significativas na intensidade da cor e no gosto doce. Os provadores atribuíram uma maior pontuação para a intensidade da cor às cerejas com aplicação da dose mais elevada de K, o que vai de encontro aos resultados das análises colorimétricas efetuadas no laboratório. Por outro lado, as cerejas mais doces para o painel de provadores foram as cerejas com aplicação da dose mais baixa de Mg.

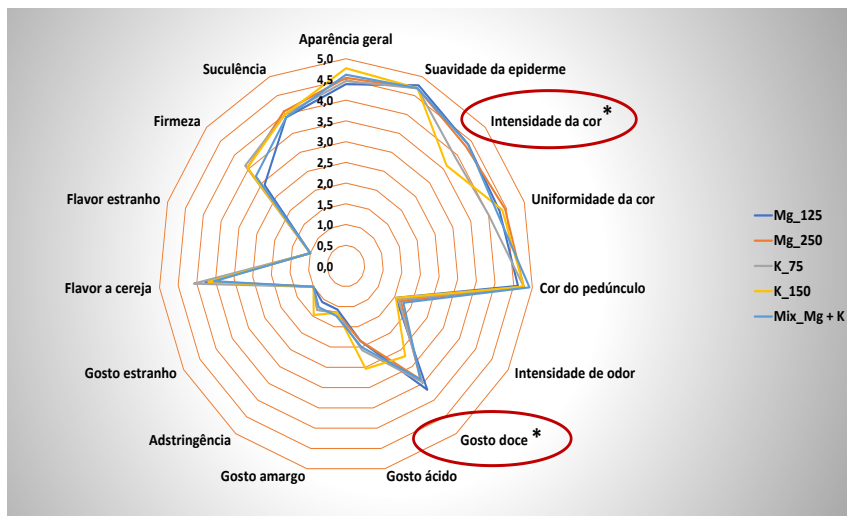


Figura 14 – Análise sensorial de cerejas da cv. Burlat com aplicação de diferentes doses de magnésio e potássio. Dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Para cada parâmetro analisado, o * indica diferenças significativas ($P < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

Agradecimentos

Projeto Grupo Operacional para a valorização da produção da Cereja de Resende e posicionamento da subfileira nos mercados (iniciativa n.º 362), financiado pelo Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural (FEADER) e pelo Estado Português no âmbito da Ação 1.1 «Grupos Operacionais», integrada na Medida 1. «Inovação» do PDR 2020 – Programa de Desenvolvimento Rural do Continente.

Os autores agradecem ainda o financiamento da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (CITAB/INOV4AGRO - UIDB/04033/2020) e CQ/VR - UIDB/00616/2020).

Os autores agradecem também à Vânia Silva, à Marlene Santos, à Helena Ferreira, à Beatriz Pinto e à Juliana Nunes pelo apoio no trabalho de campo e de laboratório.

Referências bibliográficas

- Ballistreri, G., Continella, A., Gentile, A., Amenta, M., Fabroni, S. e Rapisarda, P. 2013. Fruit quality and bioactive compounds relevant to human health of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars grown in Italy. *Food Chem.* 140, 630-638. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.024.
- Beale, S.I. 1999. Enzymes of chlorophyll biosynthesis. *Photosyn. Res.* 60, 43-73.
- Brand-Miller, J., Foster-Powell, K. 1999. Diets with a low glycemic index: from theory to practice. *Nutr. Today.* 34, 64-72.
- Chauvin, M.A., Whiting, M. e Ross, C.F. 2009. The influence of harvest time on sensory properties and consumer acceptance of sweet cherries. *Horttechnology.* 19, 748-754. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.19.4.748>.
- Correia, S., Queirós, F., Ribeiro, C., Vilela, A., Aires, A., Barros, A.I., Schouten, R. e Silva, A.P. 2019. Gonçalves, B. Effects of calcium and growth regulators on sweet cherry (*Prunus avium* L.) quality and sensory attributes at harvest. *Sci. Hortic.* 248, 231-240. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.024>.
- FAOSTAT (2021). Agricultural Production. Crops Primary – Cherries. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed on 9th september 2021).
- Giménez, M.J., Serrano, M., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D. e Guillén, F. 2016. Preharvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 97, 1220-1228. DOI: 10.1002/jsfa.7853.
- Gonçalves, B., Silva, A.P., Moutinho-Pereira, J., Bacelar, E., Rosa, E. e Meyer, A.S. 2007. Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of color and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 103(3), 976-984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.039>.
- Hermans, C., Johnson, G.N., Strasser, R.J., Verbruggen, N., 2004. Physiological characterization of magnesium deficiency in sugar

- beet: acclimation to low magnesium differentially affects photosystems I and II. *Planta*. 220, 344-355. DOI:10.1007/s00425-004-1340-4.
- Hutchings, J.B. 1994. Food Color and Appearance. Blackie Academic & Professional: London 1-29.
- ISO 4121. 2003. Sensory Analysis - Guidelines for the Use of Quantitative Response Scales. 2nd ed. Switzerland: International Organization for Standardization. 9.
- ISO 8589. 2007. Sensory Analysis - General Guidance for the Design of Test Rooms. 2nd ed. Switzerland: International Organization for Standardization. 16.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. London, UK: Academic Press.
- McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*. 27(12), 1254-1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>.
- Schmitz-Eiberger, M.A. e Blanke, M.M. 2012. Bioactive components in forced sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.), antioxidative capacity and allergenic potential as dependent on cultivation under cover. *LWT Food Sci. Technol.* 46(2), 388-392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.015>.
- Shaul O. 2002. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *Biometals*. 15, 309-323. <https://doi.org/10.1023/A:1016091118585>,
- Vilela, A., Gonçalves, B., Ribeiro, C., Fonseca, A.T., Correia, S., Fernandes, H., Ferreira, S., Bacelar, E. e Silva, A.P. 2016. Study of textural, chemical, color and sensory properties of organic blueberries harvested in two distinct years: a chemometric approach. *J. Texture Stud.* 47, 199-207. DOI:10.1111/jtxs.12173.
- Voss. 1992. Relating colorimeter measurement of plant color to the royal horticultural society color chart. *HortScience*. 27(12), 1256-1260. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1256>.

- Yığıt, D., Baydas, E. e Gülerüz, M. 2009. Elemental analysis of various cherry fruits by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry. *Asian J. Chem.* 21, 2935-2942.
- Zhao, D.L., Oosterhus, D.M. e Bednarz, C.W. 2001. Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultrastructure of cotton plants. *Photosynthetica.* 39, 103-109. <https://doi.org/10.1023/A:1012404204910>.

GO Competitive SouthBerries - Pequenos frutos competitivos e sustentáveis: técnicas culturais inovadoras para o alargamento da época de produção



Parceria

INIAV, I.P - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (**Líder**);
COTHN-CC - Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional –
Centro de Competências;

BEIRABAGA - Sociedade de Produção e Comercialização Pequenos
Frutos, Lda;

Campina Produção Agrícola, Lda;

First Fruit Produção e Comercialização, Unipessoal Lda;

MIRTISUL - Producao de Mirtilos, Lda.

Palavras-chave: morango; framboesa; amora; mirtilos; tecnologias;
região sul; valorização; competitividade.

Website: <https://projects.inia.pt/competitivesouthberries/>

Investimento total: 308 624 €

Logótipos dos Parceiros



Objectivos do GO Competitive SouthBerries

Considerando cada uma das culturas de pequenos frutos deste GO, os principais objectivos são:

- a) **Cultura da framboesa:** otimização da técnica de produção com lançamentos pré tratados (indução floral e dormência) para obtenção de frutos de fevereiro a março. Avaliação da possibilidade de produzir no norte de Portugal plantas long-cane para utilização no sul;
- b) **Cultura do morango:** desenvolvimento da tecnologia de produção com plantas tray, em cultura protegida sem solo, para produção de frutos entre novembro e março. Avaliar a possibilidade de obter uma segunda produção com a utilização de luz LED e/ou por manutenção das plantas em câmara frigorífica;
- c) **Cultura do mirtilo:** desenvolvimento da produção de mirtilos em solo e substrato e com manipulação do ciclo produtivo tendo como objetivo a produção de frutos entre março – maio (antecipada) e setembro outubro (tardia) comparando duas regiões de produção;
- d) **Cultura da amora:** otimização da técnica de produção com lançamentos prétratados (indução floral e dormência) com modelação das horas de frio e unidades de calor para a produção de frutos entre março e maio;
- e) **Espécies endémicas:** introduzir em cultura os génotipos de interesse com base na qualidade do fruto e da produção tendo em vista os mercados de exportação;
- f) Desconhecendo-se o impacto destas tecnologias na ocorrência das pragas e doenças, é necessário o acompanhamento das mesmas para uma eficaz e atempada atuação.

Equipa do GO Competitive SouthBerries

Entidades	Pessoas
COTHN-CC	Ana Paula Nunes
	Hélder Coelho
INIAV, IP	Célia Mateus
	Isabel Evaristo
	Esmeraldina Sousa
	Eugénio Diogo
	Fernanda Vargues
	Filomena Nóbrega
	Francisca Loureiro
	Francisco Barreto
	Maria da Graça Palha
	Maria Teresa Valdivieso
	Pedro Brás de Oliveira
Mirtisul, Lda	Jorge Quaresma
First Fruit	Gijs Hoogendoorn
Hubel Agrícola	Tiago Andrade
Beira Baga	Bernardo Horgan

Competitive SouthBerries - Pequenos frutos competitivos e sustentáveis: técnicas culturais inovadoras para o alargamento da época de produção

Resumo

A produção e a procura mundial dos pequenos frutos têm crescido nos últimos anos, com aumento significativo na Europa, o principal mercado das exportações nacionais. Portugal, pela sua dimensão, não pode ser um importante competidor em volumes de produção, mas pode ocupar uma razoável faixa de mercado com produções de qualidade. Por outro lado, existem espécies endémicas ainda não exploradas comercialmente (camarinhas e amoras silvestres), cujo fruto pode constituir uma nova oportunidade em nichos de mercado.

Algumas regiões possuem boas condições edafo-climáticas para a produção de época e outras para a produção fora-de-época de pequenos frutos. A região do litoral Alentejano é o local privilegiado para a produção precoce de primavera e tardia de outono, e o Algarve a região por excelência para a produção de inverno, com vantagens em relação a alguns países da orla mediterrânea.

Tendo em conta o levantamento das necessidades da produção ao nível das várias culturas que integram os pequenos frutos no respeitante: à melhoria e sustentabilidade dos sistemas produtivos, à adaptação da produção às oportunidades dos mercados internos e de exportação e à vantagem competitiva da região sul do país pelas excelentes condições climáticas, considera-se uma oportunidade inovar/desenvolver tecnologias de produção sustentáveis e competitivas com vista ao alargamento da época de produção e consequentemente aproveitar as oportunidades de mercado, particularmente de exportação pela valorização que atribui aos pequenos frutos fora de época.

Considerando cada uma das culturas de pequenos frutos deste GO, os principais objectivos são a) na **cultura da framboesa** a otimização da técnica de produção com lançamentos pré tratados (indução floral e

dormência) para obtenção de frutos de fevereiro a março; b) **na cultura do morango** o desenvolvimento da tecnologia de produção com plantas tray, em cultura protegida sem solo, para produção de frutos entre novembro e março; c) **na cultura do mirtilo** a produção em solo e em substrato com objetivo de obter de frutos entre março – maio (antecipada) e setembro outubro (tardia), d) **na cultura da amora**: otimização da técnica de produção com lançamentos prétratados (indução floral e dormência) com modelação das horas de frio e unidades de calor para a produção de frutos entre março e maio; e) **em espécies endêmicas** introduzir em cultura os genótipos de interesse; f) **o acompanhamento tecnologias** na ocorrência das pragas e doenças.

Palavras-chave: morango; framboesa; amora; mirtilos; tecnologias; região sul; valorização; competitividade.