



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

Influência do substrato na fitossanidade, na produção e na qualidade de morangos produzidos em sistema hidropónico fechado “New Growing Systems”

Ana Carolina Vieira D’Avó Varanda

Orientação:

Professor Doutor Rui Manuel de Almeida Machado

Professora Doutora Maria do Rosário Fernandes Félix

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2018



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

Influência do substrato na fitossanidade, na produção e na qualidade de morangos produzidos em sistema hidropónico fechado “New Growing Systems”

Ana Carolina Vieira D’Avó Varanda

Orientação:

Professor Doutor Rui Manuel de Almeida Machado

Professora Doutora Maria do Rosário Fernandes Félix

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2018



Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores, ao Professor Rui Machado e à Professora Maria do Rosário Félix, pela disponibilidade, atenção, dedicação e profissionalismo dado no decorrer deste trabalho.

Ao Sr. Júlio Silva e ao Eng. José Miguel Ramos pelo apoio dado durante o ensaio na estufa.

À Litoral Regas, Lda e à SIRO ® pelo material fornecido e pela informação fornecida.

Agradeço também a todos os meus colegas de curso pela ajuda dada, tanto na escolha do tema como no decorrer do ensaio, em especial à Maria Grácio, à Magda Azevedo e ao Milton Gussule.

Aos meus pais e ao meu irmão, pela ajuda e pelo apoio dado ao longo do meu percurso académico.

E por último agradeço aos meus amigos, Adriana Vaz, Catarina Caseiro, David Tavares, David Rodrigues, Mariana Caseiro, Ricardo Gonçalves e Ricardo Pinto pela amizade, paciência, apoio e ajuda na escrita desta dissertação.

Resumo

Este estudo teve como objectivo avaliar a influência de dois substratos na fitossanidade, na produção e na qualidade de morangos ‘San andreas’, produzidos em sistema hidropónico fechado “New Growing Systems”. O ensaio foi realizado na empresa Estufas do Vale, Lda, em Almeirim. Foi avaliada a fitossanidade, o pH e a condutividade eléctrica da solução drenada, a produção total e comercial e a qualidade dos frutos, através do peso médio por fruto, do calibre (diâmetro longitudinal e transversal) e do teor de sólidos solúveis totais. Os substratos não estavam isentos de agentes patogénicos, propagando-se rapidamente através da água por todo o sistema, afectando tanto a produção como a qualidade dos morangos. O tipo de substrato não afectou a produtividade nem a qualidade dos frutos. A produção total e comercial média foi de 292 e 185 g/planta, respectivamente. O °Brix variou durante o ciclo, tendo apresentado valores entre 4,83 e 10,25.

Palavras-chave: Morango, Substrato, Fitossanidade, Cultura sem solo.

Abstract

Influence of the substrate on phytosanitary, production and quality of strawberries grown in a closed hydroponic systems “New Growing Systems”

The purpose of this study is to evaluate the influence of two substrates on the phytosanitary, production and quality of ‘San andreas’ strawberries, cultivated in a closed hydroponic system – “New Growing Systems”. The test took place at the company “Estufas do Vale, Lda” in Almeirim. The phytosanitary, pH, electrical conductivity of the drained solution, total and commercial production, and fruit quality was tested by the average weight per fruit, by the caliber (longitudinal and transversal diameter) and by the content of total soluble solids. The substrates were not exempt of diseases, which quickly propagated through the water across the whole system, affecting not only the production but the quality of the strawberries as well. The type of substrate didn’t show any signs of affecting production nor fruit quality. The mean total and commercial production was of 292 g/plant and 185 g/plant, respectively. The degree Brix fluctuated during the cycle, presenting values between 4,83 and 10,25.

Keywords: Strawberry, Substrate, Phytosanitary, Soilless culture

Índice:

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract.....	iv
Índice de figuras	viii
Índice de quadros.....	x
Anexo	xi
Abreviaturas.....	xiii
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. A cultura do morangueiro	4
2.1.1. Enquadramento taxonómico, origem e história.....	4
2.1.2. Morfologia e Fisiologia	5
2.1.3. Cultivares de morango.....	9
2.1.4. Exigências Climáticas.....	10
2.1.5. Composição nutricional e a sua utilização	11
2.1.6. Doenças do Morangueiro.....	13
2.1.6.1. Antracnose.....	13
2.1.6.2. Oídio.....	15
2.1.6.3. Podridão Cinzenta	16
2.1.6.4. Necrose do rizoma.....	17
2.1.6.5. Verticiliose	18
2.1.6.6. Mancha angular da folha	19
2.1.6.7. Viroses e fitoplasmas	20
2.1.6.8. Pragas	20
2.2. Cultura sem solo	22

2.2.1.	Cultura em substrato	24
2.2.2.	Cultura do morango em substrato.....	27
2.2.3.	New Growing System.....	29
3.	Materiais e métodos	32
3.1.	Localização do ensaio	32
3.2.	Caracterização do sistema.....	32
3.2.1.	Estufas	32
3.2.2.	Sistema de rega e solução nutritiva	32
3.2.3.	Substratos utilizados	34
3.2.4.	Material vegetal	35
3.3.	Condução do ensaio	35
3.4.	Parâmetros avaliados	36
3.4.1.	Pesquisa da presença de agentes patogénicos nos substratos e nas águas	36
3.4.1.1.	Recolha de amostras.....	36
3.4.1.2.	Preparação das amostras.....	36
3.4.1.3.	Identificação molecular dos patogénios presentes	37
3.4.2.	pH e Condutividade eléctrica (CE).....	39
3.4.3.	Produção e qualidade do fruto	39
3.5.	Objectivos.....	40
4.	Discussão de resultados.....	42
4.1.	Presença de microorganismos nos substratos, nas águas e nas plantas	42
4.2.	pH.....	52
4.4.	Produtividade e qualidade dos frutos	57
5.	Conclusões	65
6.	Referências	68
7.	Anexos.....	79

Índice de figuras

Figura 1 - Morfologia da planta do morangueiro. (a) – raiz, (b) – coroa, (c) – estolhos, (d) – inflorescências, (e) – aquênios; Adaptado de: Palha, 2005	6
Figura 2 - Critérios de classificação de cultivares de morangueiro; Adaptado de: Almeida, 2014.	9
Figura 3 – Necrose no pecíolo, causada por antracnose; Fonte: Bolda et al, 2016.	14
Figura 4 – Necrose avermelhada na coroa, causada pela antracnose; Fonte: Bolda et al., 2016.	14
Figura 5 – Manchas castanhas com uma ligeira depressão, causada pela antracnose; Fonte: Bolda et al., 2016.	14
Figura 6 – Enrolamento da bordadura das folhas, expondo o micélio presente na página inferior, causado pelo oídio; Fonte: Syngenta, 2017b.	15
Figura 7 – Micélio presente em frutos verdes, causado pelo oídio; Fonte: Syngenta, 2017b.	15
Figura 8 – Frutos cobertos com enfeltrado cinzento, causado pela podridão cinzenta; Fonte: Syngenta, 2017c.	16
Figura 9 – Necroses acastanhadas presentes em frutos maduros, causadas pela necrose do rizoma; Fonte: Rivard, 2007.	18
Figura 10 – Presença de folhas mais velhas mortas, causado pela presença de vertililose; Fonte: Bolda & Koike, 2013.	19
Figura 11 – Lesões com aspecto húmido observáveis na página inferior da folha (a), e lesões escuras num estado avançado com exsudado amarelo-claro (b); Fonte: PaDIL, sem data.	20
Figura 12 - Folha de morangueiro coberta de ácaros e as suas teias; Fonte: Syngenta, 2017a.	21
Figura 13 - Afídeo da espécie <i>Macrosiphum euphorbiae</i> ; Fonte: Rigotti, sem data.	21
Figura 14 - Mosca branca na página inferior da folha de morangueiro; Fonte: Alves, 2016.	21
Figura 15 - Esquema representativo das diferentes classificações dos substratos; Fonte: Barcelos, 2015.	26
Figura 16 - Corte da multi-banda; Fonte: New Growing System S.L., 2014c	29
Figura 17 - Esquema do sistema oscilante; Fonte: Santos, 2016	29
Figura 18 - Esquema do sistema de rega em NGS; Fonte: Santos, 2016.	30

Figura 19 - Máquina de controlo de pH e CE da solução de entrada.....	33
Figura 20 - Sistema de drenagem no final de cada tabuleiro.....	33
Figura 21 – Placas de Petri com diferentes fungos (a; b; c; d) e bactérias (e; f) com características visuais diferentes.....	42
Figura 22 – Produtos obtidos por amplificação em PCR com os ‘primer’ ITS1 e ITS4, que amplificou uma porção do gene ITS. Os tamanhos das bandas correspondem aos 600 pb esperados estão indicados à direita. M- Marcador 100bp ‘DNA Ladder’ (Thermo Fisher). A – Controlo positivo; 1 a 10 – amostras de DNA isoladas neste trabalho; B – Controlo negativo de PCR.....	43
Figura 23 – Produtos obtidos por amplificação em PCR com os ‘primer’ Y1 e Y3, que amplificou uma porção do gene rRNA 16S bacteriano. Os tamanhos das bandas correspondem aos 1300 pb esperados estão indicados à direita. M- Marcador 100bp ‘DNA Ladder’ (Thermo Fisher). A – Controlo positivo; 1 a 10 – amostras de DNA isoladas neste trabalho; B – Controlo negativo de PCR.....	44
Figura 24 - Presença de micélio branco de <i>Botrytis cinerea</i> nas inflorescências (a) e nos morangos (b).....	50
Figura 25 - Flor queimada (a) e posteriormente frutos deformados (b).	50
Figura 26 – pH da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (1º período)	52
Figura 27 - pH da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (2º período)	53
Figura 28 - CE da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (1º período)	55
Figura 29 - CE da solução fornecida e da água drenada por cada substrato às 9:00h, às 14:00h e às 16:00h (2º período).....	56
Figura 30 - Influência do substrato na produção total e comercial acumulada ao longo do ensaio	59

Índice de quadros

Quadro 1 - Fases do desenvolvimento e estados fenológicos da planta do morangueiro; Adaptado: Almeida, 2014.....	8
Quadro 2 - Temperaturas cardinais para a cultura do morangueiro; Fonte: Almeida, 2014.....	11
Quadro 3 - Composição nutricional em 100 g de morangos; Adaptado: Giampieri et al., 2012.....	12
Quadro 4 - Vantagens e desvantagens da CSS. Fonte: Gruda & Maher, 2006; Reis, 2003; Soria & Olivert, 2002.....	23
Quadro 5 - Quantidades de adubos, em kg, dissolvidos em 100 L de água	34
Quadro 6 - Lista de espécies que afectam o morangueiro e espécies que podem ser utilizadas como controlo biológico	47
Quadro 7 - Influência do substrato na produção total	57
Quadro 8 - Influência do substrato na produção comercial.....	58
Quadro 9 - Influência do substrato no peso do fruto	60
Quadro 10 - Influência do substrato no diâmetro longitudinal.....	61
Quadro 11 - Influência do substrato no diâmetro transversal.....	62
Quadro 12 - Influência do substrato no teor de sólidos solúveis totais (°Brix).....	63

Anexo

Anexo 1 - Controlo do pH e da CE. Tanque 1 – Nitrato de Cálcio; Tanque 2 – Nitrato de Potássio e microser; Tanque 3 – Fosfato monopotássico e quelato de ferro 6%; Tanque 4 – Sulfato de potássio e sulfato de magnésio; Ácido – Ácido nítrico.....	79
Anexo 2 - Concentração dos nutrientes nos fertilizantes (% p/p)	80
Anexo 3 - Espécies encontradas na água do furo e do tanque, nos dois substratos e nas diferentes águas drenadas	81
Anexo 4 - Observação de tripes junto aos aquénios do fruto.	83
Anexo 5 - Observação de mosca branca (<i>Trialeurodes vaporarorum</i>) na página inferior da folha	84
Anexo 6 - Observação do aranhão (<i>Tetranychus</i> spp) nas inflorescências da planta....	85
Anexo 7 - Observação de frutos atacados por roedores	86
Anexo 8 - Vista superior com os tabuleiros nivelados	87
Anexo 9 - Vista inferior com os tabuleiros nivelados	88

Abreviaturas

°C	Grau centigrado
µg	Micrograma
C/N	Carbono/azoto
CE	Condutividade eléctrica
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
CSS	Cultura sem solo
CTC	Capacidade de troca catiónica
DAP	Dias após a plantação
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxinucleótidos trifosfatados
g	Gramas
<i>g</i>	Aceleração da gravidade
h	Horas
ITS	‘Internal transcribed spacer’
Kcal	Quilocalorias
L	Litros
m	Metro
mg	Miligrama
min	Minutos
mm	Milímetros
mS	Milisiemens
NGS	‘New growing system’

°Brix	Teor de sólidos solúveis totais
pb	Pares de bases
PCR	‘Polimerase chain reaction’
rRNA	Ácido ribonucleico ribossomal
s	Segundos
sp	Espécie
TBE	Tampão Tris/ácido bórico/EDTA
V	Volts

Introdução

1. Introdução

A produção de morango em sistemas de cultura sem solo (CSS) em Portugal, à semelhança do que acontece mundialmente, tem vindo a aumentar. Este aumento está relacionado com o facto destes sistemas permitirem ultrapassar os problemas do solo como a salinidade e doenças (ex.: fusariose e verticilose) (Paraskevopoulou-Paroussi *et al.*, 1995). Em sistemas tradicionais eram utilizados fumigantes como o brometo de metilo, pois eram eficazes na desinfecção do solo. Contudo, a utilização desses compostos é cada vez mais limitada ou proibida, pois tem um grande impacto negativo a nível ambiental. Têm sido feitos vários estudos com outros compostos, mas não se têm mostrado eficazes no controlo de doenças do solo (Giménez *et al.*, 2008; Yuen, 1991). A CSS permite ainda uma maior poupança de água, sobretudo em sistemas fechados, um aumento de produção e uma diminuição da utilização de produtos fitofarmacêuticos (Tretz & Omaye, 2015).

Em Portugal um dos sistemas de CSS que tem vindo a ganhar dimensão é o New Growing System (NGS). É um sistema baseado numa estrutura de tabuleiros em plástico, preenchidos com substrato. O sistema de rega é um sistema fechado, onde há recirculação de água com a solução nutritiva, o que permite economizar água, fertilizantes e produtos fitofarmacêuticos, proporcionando ainda um maior controlo da cultura (New Growing System S.L., 2014a). Contudo, a reutilização da solução, no sistema fechado está associada ao risco de propagação de doenças (Gruda & Maher, 2006).

Um dos substratos mais utilizados neste sistema é a fibra de coco, no entanto, nos últimos anos têm sido realizados estudos sobre a utilização de outros substratos orgânicos e inorgânicos (Urrestarazu, 2013).

Este trabalho teve como objectivo analisar a influência da utilização de dois substratos diferentes num sistema NGS na produção e na qualidade de morangos da variedade ‘San Andreas’. Além disso, como se trata de um sistema hidropónico fechado, onde a água é reciclada, pretende-se avaliar a presença de microorganismos dentro do sistema e qual a sua dispersão nos substratos, nas plantas e na água. Para o efeito foi realizado um ensaio num sistema NGS, instalado numa estufa em Almeirim, no distrito de Santarém.

Revisão Bibliográfica

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A cultura do morangueiro

2.1.1. Enquadramento taxonómico, origem e história

O morangueiro pertence à família das *Rosaceae*, sendo posteriormente dividida em 4 subfamílias, a *Maloideae*, a *Amygdaloideae*, a *Spiraeoideae* e por último a *Rosoidae*. Esta última está dividida em 3 géneros, *Rosa*, *Rubus* e *Fragaria*, onde se encontra a espécie *Fragaria x ananassa*, o morango (Almeida, 2014).

O Morango é conhecido desde o século I, referenciado por poetas romanos como Virgílio e Ovídio, mas como planta ornamental. O morango silvestre serviu de alimento a diversos povos de todo o mundo, mas não em grandes quantidades devido ao seu tamanho e sabor pouco doce (Grubinger, 2012). Durante muito tempo, os europeus consumiam *Fragaria vesca*, espécie europeia. Esta espécie tinha frutos bastante aromatizados, mas muito pequenos. Posteriormente foram introduzidas na europa espécies americanas, como a *Fragaria virginiana* e a *Fragaria chiloensis* com frutos de maiores dimensões. Com estas espécies foram feitos diversos cruzamentos, até originar uma nova espécie, *Fragaria x ananassa*, sendo actualmente a mais cultivada (Almeida, 2012; Grubinger, 2012).

2.1.2. Morfologia e Fisiologia

Quanto à morfologia, o morangueiro é uma planta perene de consistência herbácea e de propagação vegetativa (Almeida, 2014). O seu sistema radicular (Figura 1, legenda a) é fasciculado composto por raízes primárias, que suportam a planta, e raízes secundárias, que são responsáveis pela absorção de água e nutrientes, e armazenamento de substâncias de reserva, sob a forma de amido, durante o período invernal (Darrow, 1966; Palha, 2005).

O morangueiro possui dois tipos de caules, a coroa (Figura 1, legenda b), que forma o eixo da planta, de entrenós curtos onde se inserem as folhas, e os estolhos (Figura 1, legenda c) que são caules especializados, de dois entrenós longos, surgindo, a partir destes, novas plantas (Almeida, 2014). A planta apresenta várias coroas onde crescem as folhas, as inflorescências, os estolhos, as coroas ramificadas e as raízes adventícias (Palha, 2005).

As folhas são trifoliadas, de tons verdes, consoante as variedades. Os pecíolos das folhas possuem, na sua base, duas estipulas de protecção, onde se encontram os gomos, sendo que esses gomos podem evoluir em estolhos ou coroas. A inflorescência da planta do morangueiro é terminal (Figura 1, legenda d), esta é constituída por uma flor primária, que é a mais velha e apresenta uma posição dominante no desenvolvimento da inflorescência, duas flores secundárias, quatro flores terciárias e oito flores quaternárias (Palha, 2005).

As flores são pentâmeras e hermafroditas, possuem cinco sépalas e cinco pétalas de cor branca e forma variável, desde elíptica a arredondada ou oval. Os estames encontram-se dispostos à volta e sobre os ovários. As flores primárias são as primeiras a frutificarem, produzindo frutos maiores, todas as outras flores, como possuem menor número de pistilos, produzem frutos menores (Palha, 2005). Apesar das flores serem hermafroditas, a introdução de insectos polinizadores em estufas é uma medida que favorece a polinização, diminuindo assim o número de frutos deformados e aumentando o seu calibre (Albano *et al*, 2005). Em ambiente protegido é recomendado a utilização de colmeias com *Bombus terrestris* (Almeida, 2014).

O morango é um pseudofruto, possui um receptáculo carnudo, onde se encontram os verdadeiros frutos, denominados aquênios (Figura 1, legenda e). No entanto considera-se o conjunto do receptáculo e dos aquênios de fruto, classificando-se como um fruto múltiplo de aquênios (Almeida, 2014).

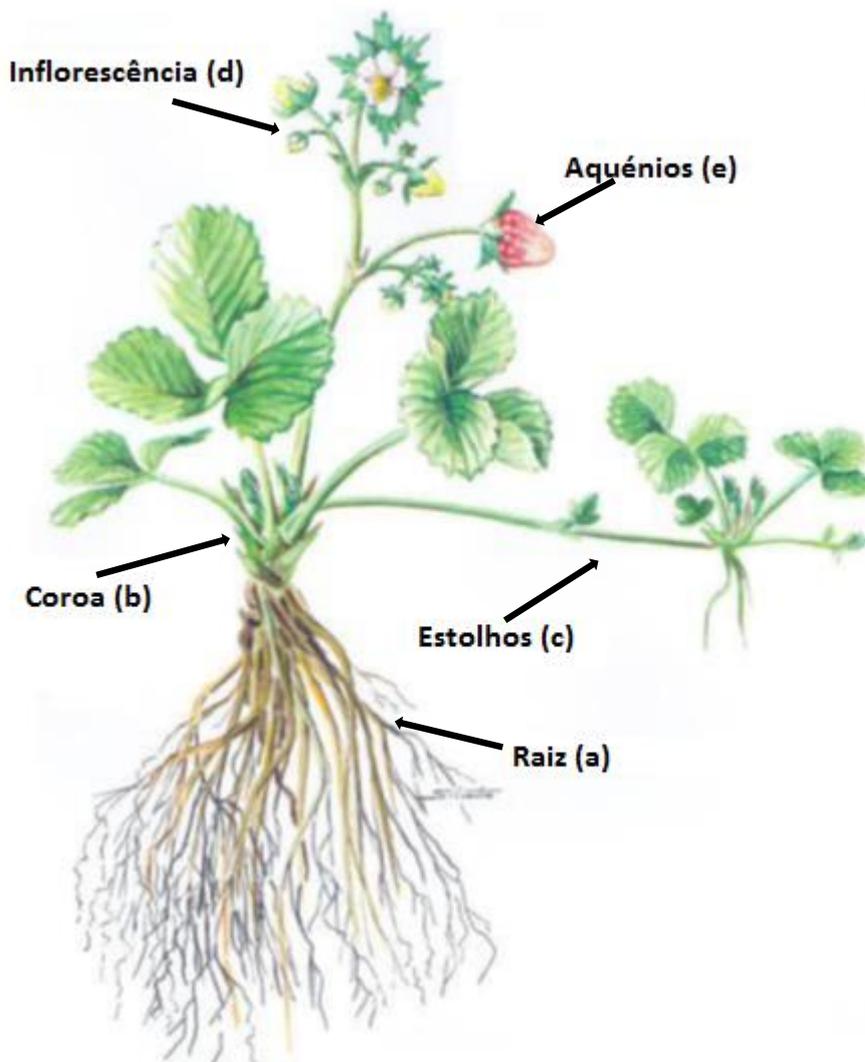


Figura 1 - Morfologia da planta do morangueiro. (a) – raiz, (b) – coroa, (c) – estolhos, (d) – inflorescências, (e) – aquênios; Adaptado de: Palha, 2005

Segundo Almeida (2014) a fisiologia do morangueiro pode ser dividida em 4 fases, o repouso vegetativo, a actividade vegetativa, a floração e a frutificação. Sendo que as fases do crescimento e desenvolvimento da planta são influenciadas pela acção do fotoperíodo, da temperatura e da nutrição azotada (Palha, 2005).

O repouso vegetativo ou dormência da planta ocorre quando os dias são curtos e com a temperatura baixa (Risser & Navatel, 1997). Nesta fase a iniciação floral e ramificação das coroas e a produção de folhas abrandam progressivamente, até à dormência total da planta. A dormência do morangueiro é quebrada quando as condições ambientais se tornam favoráveis, mas se não acumular as horas de frio necessárias a planta apresentará um fraco vigor vegetativo e uma menor produção de frutos (Palha, 2005).

Quebrada a fase de repouso, inicia-se a actividade vegetativa, onde se desenvolvem as coroas, os estolhos e as folhas. As folhas desenvolvem-se com dias longos e temperaturas entre os 18 e os 28°C e a formação de estolhos ocorre quando as temperaturas são mais elevadas. Seguidamente inicia-se a fase reprodutiva da planta, onde ocorre a iniciação floral, no entanto, esta só tem início com condições de fotoperíodo e temperatura muito específicas. Após a floração dá-se início à frutificação (Palha, 2005). O Quadro 1 resume as fases de desenvolvimento e os estados fenológicos do morangueiro.

Quadro 1 - Fases do desenvolvimento e estados fenológicos da planta do morangueiro; Adaptado: Almeida, 2014.

Designação	Fase de desenvolvimento
Repouso vegetativo	Repouso vegetativo
Emergência da primeira folha	Desenvolvimento das folhas
Expansão da primeira folha e das folhas seguintes	
Início do desenvolvimento dos estolhos	Desenvolvimento dos estolhos e das plantas-filhas
Aparecimento da primeira planta-filha	
Início do desenvolvimento das raízes na primeira planta-filha	
Primeira planta-filha desenvolvida e pronta para transplantar	
Várias plantas-filhas enraizadas	
Botões verdes	Desenvolvimento das flores
Botões brancos	
Abertura das primeiras flores primárias. 50% das plantas apresentam pelo menos uma flor aberta	
Plena floração. Flores secundárias e terciárias abertas e queda das primeiras pétalas	
Fim da floração. 50% das plantas já não têm flores.	
Início do crescimento do receptáculo.	
Crescimento do receptáculo acima do cálice	
Os aquênios são visíveis sobre o receptáculo verde.	Desenvolvimento dos frutos
Diâmetro de 1 a 2 cm	
Fruto branco. Diâmetro > 2 a 3 cm. Início do amadurecimento.	
Fruto rosa	
Fruto vermelho ½	
Fruto vermelho ¾	Desenvolvimento dos frutos
Fruto vermelho 4/4	
Fruto vermelho-escuro	

Formação das coroas laterais	Senescência e início do repouso
Senescência das folhas	vegetativo

2.1.3. Cultivares de morango

Na figura 2 são apresentados os diferentes critérios usados para a classificação das cultivares de morangos.

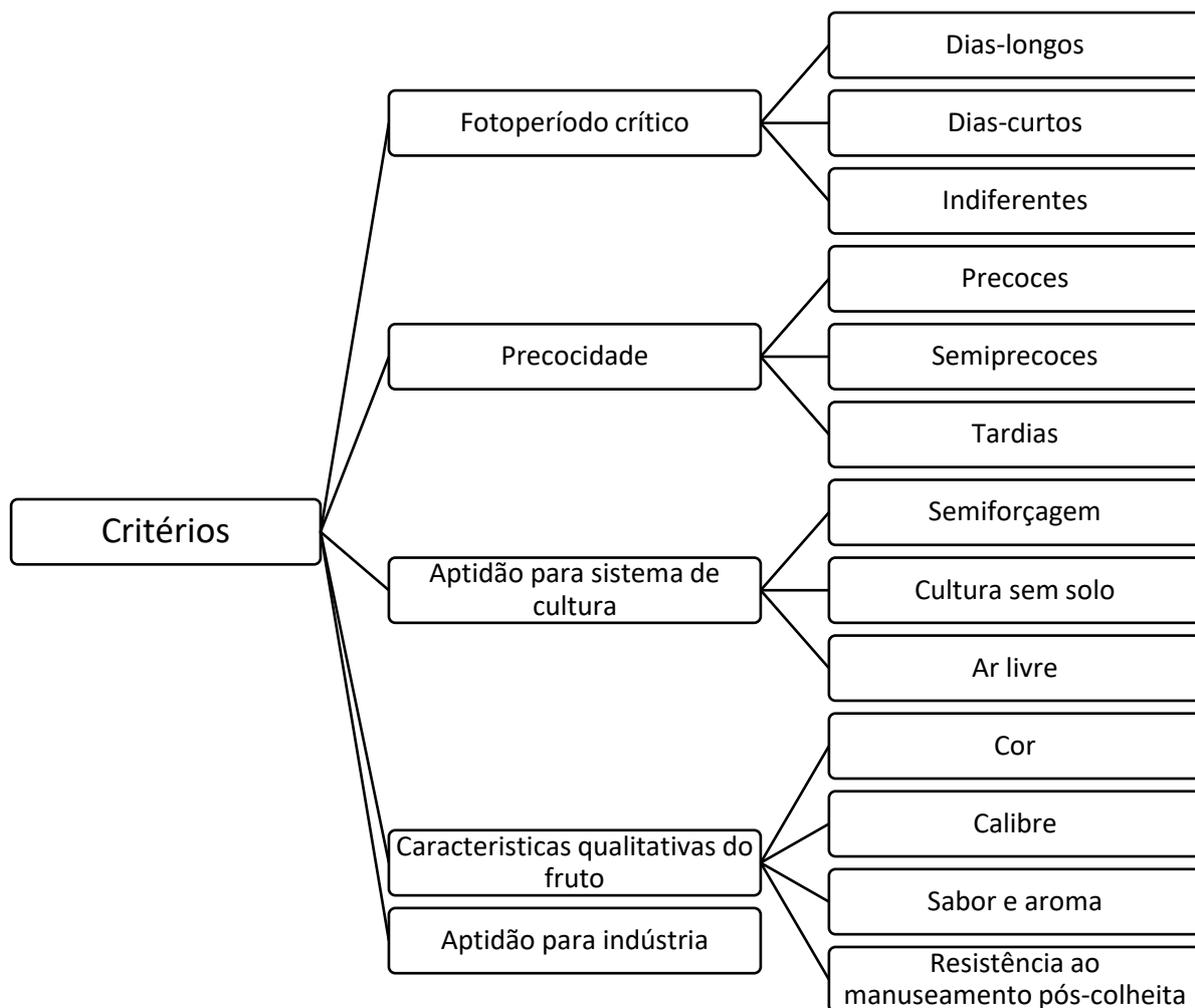


Figura 2 - Critérios de classificação de cultivares de morangueiro; Adaptado de: Almeida, 2014.

Um dos mais importantes é o fotoperíodo crítico, sendo as cultivares divididas em dias-curtos, dias-longos ou indiferentes (dias-neutros), apresentando-se estas últimas totalmente indiferentes às horas de luz (Branzanti, 1989; Hancock, 1999).

Nas cultivares de dias-curtos, a sua iniciação floral quando o fotoperíodo é inferior a 14 h ou quando a temperatura é inferior a 15°C (Hancock, 1999). Estas cultivares, por vezes, só produzem uma vez por ano, denominando-as de cultivares não remontantes. No

entanto, nos casos de fotoperíodos longos, se a temperatura for inferior a 15°C, estas cultivares comportam-se como variedades remontantes, produzindo mais que uma vez por ano (ex: Camarosa, Festival e Candonga) (Palha, 2005).

Nas cultivares de dias-longos, a iniciação floral ocorre com um fotoperíodo superior a 14 h e com temperaturas altas. Estas cultivares são remontantes, ou seja podem frutificar varias vezes por ano (Hancock, 1999). No entanto, estas cultivares, caíram em desuso (Palha, 2005).

Nas cultivares indiferentes, também denominadas de cultivares remontantes, a iniciação floral pode ocorrer em qualquer altura do ano, sendo inibida com temperaturas superiores a 30°C, e em condições ambientais favoráveis, temperaturas entre os 16 e os 21°C, podem frutificar 3 meses após a plantação (ex: Diamante, Albion e San Andreas) (Hancock, 1999; Otto *et al.*, 2009)

2.1.4. Exigências Climáticas

O morangueiro é uma planta adaptada a diversos climas, preferindo no entanto climas frescos (Almeida, 2014) (Quadro 2). Quanto à vernalização, dependendo das cultivares, o morangueiro precisa de 250 a 2000 horas de frio abaixo de 7°C para quebrar a dormência. Durante a fase vegetativa, a planta é resistente às geadas, suportando até -15°C, mas as flores são bastante sensíveis, sendo destruídas a temperaturas inferiores a 0°C (Almeida, 2014; Palha, 2005). A polinização e o vingamento dos frutos são inibidos com temperaturas inferiores a 12°C. Sendo a temperatura ótima de crescimento de 23°C (Almeida, 2014). Quanto à humidade relativa, durante a floração pretende-se que seja entre os 70 e os 80%, mas durante a polinização aconselha-se um ar mais seco, de aproximadamente 60% de humidade relativa (Almeida, 2014). Seguidamente é apresentada uma tabela com as temperaturas cardiais da cultura do morangueiro (Quadro 2).

Quadro 2 - Temperaturas cardinais para a cultura do morangueiro; Fonte: Almeida, 2014.

Parâmetro	Temperatura °C
Vegetação	
Mínima	5
Óptima	18 – 28
Máxima	35
Temperatura óptima para maturação	18 – 27 durante o dia e 10 – 13 à noite
Vernalização	< 7
Sistema radicular	
Mínima	10
Óptima	17 – 30
Máxima	32 – 35

2.1.5. Composição nutricional e a sua utilização

O morango é um fruto com uma aparência atraente, com um odor e sabor agradável o que justifica o seu elevado consumo, sendo uma das frutas de verão mais populares (Sousa & Curado, 2005).

O sabor característico está associado ao equilíbrio existente entre os açúcares, os ácidos e os voláteis do aroma. Os açúcares e os ácidos são responsáveis pela doçura e a acidez do fruto, enquanto os voláteis do aroma são responsáveis pelo sabor frutado característico de um morango fresco. O aroma desta fruta depende de diversos factores como a variedade, o estado de maturação do morango e os cuidados em pós-colheita (Forney *et al.*, 2000).

Diversos estudos epidemiológicos demonstraram que uma dieta rica em frutas e vegetais previne doenças crónicas como a obesidade, infecções, doenças cardiovasculares e neurológicas e cancro. O morango tem um papel importante nessa dieta, devido à sua composição, pois tem um elevado teor de compostos activos como a vitamina C e constituintes fenólicos, com alta capacidade antioxidante (Giampieri *et al.*, 2012). Para além disso o morango é um fruto com elevado teor em fibra, ácidos orgânicos, óleos

essenciais e potássio (Almeida, 2014; OMAIAA, 2011). No Quadro 3 apresenta-se o teor dos principais componentes por 100 g de morangos.

Quanto à sua utilização, os morangos são económica e comercialmente importantes, pois podem ser consumidos em fresco ou em formas processadas, como sumos, compotas ou gelatinas (Giampieri *et al.*, 2012).

Quadro 3 - Composição nutricional em 100 g de morangos; Adaptado: Giampieri *et al.*, 2012.

Componente	Teor em 100 g de morangos
Energia (kcal)	32,00
Água (g)	90,95
Proteína (g)	0,67
Açúcares totais (g)	4,89
Hidratos de Carbono (g)	7,68
Fibra (g)	2,00
Lípidos (g)	0,30
Cálcio (mg)	16,00
Ferro (mg)	0,41
Magnésio (mg)	13,00
Potássio (mg)	153,00
Fosforo (mg)	24,00
Manganês (mg)	0,37
Selénio (µg)	0,40
Zinco (mg)	0,14
Sódio (mg)	1,00
Cobre (mg)	0,05
Vitamina A (µg)	1,00
Vitamina C (mg)	58,80
Vitamina B6 (mg)	0,05

2.1.6. Doenças do Morangueiro

O morangueiro é afectado por doenças bióticas e abióticas ao longo do seu ciclo vegetativo, no entanto, são as primeiras, constituídas por agentes como fungos, bactérias ou vírus, as que mais preocupam os produtores. Os fungos são o maior grupo de microorganismos que provocam doenças nas plantas, podendo atacar todas as partes da planta do morangueiro (Lopes *et al.*, 2005). Em Portugal e em culturas protegidas as principais doenças são a antracnose, o oídio, a podridão cinzenta, a necrose do rizoma, a verticiliose e a mancha angular da folha (Almeida, 2014; Campo, 2007; Lopes & Simões, 2006).

A disseminação das doenças é maioritariamente realizada de forma passiva, por agentes como o ar e os insectos e com menor frequência por outros animais, pelo ser humano e pela água. Apesar de a água ter um papel menos importante que o vento na disseminação dos agentes patogénicos, as infecções são mais eficientes (Agrios, 2013). Em CSS instaladas em sistemas fechados é muito mais fácil a disseminação dos agentes patogénios e a sua reintrodução (Gruda & Maher, 2006).

2.1.6.1. Antracnose

A antracnose do morangueiro é causada por 3 espécies de fungos do género *Colletotrichum*, *Colletotrichum acutatum*, *C. gloesporioides*, e *C. fragariae* (Lows *et al.*, 2014).

Estes fungos pertencem ao reino *Fungi* e ao filo *Ascomycota*, os fungos deste filo podem produzir conídios (esporos assexuados) e/ou ascósporos (esporos sexuados). O *Colletotrichum* é uma fase imperfeita ou anamórfica do fungo, sendo *Glomerella* a fase perfeita ou teleomórfica, pertencente à ordem *Phyllachorales* que são ascomicetas filamentosos, em que a estrutura de frutificação são as peritécas (Agrios, 2013).

A fase causadora da doença, a fase imperfeita, produz conídios que são facilmente dispersados pelo vento e pela água (Agrios, 2013). Este sobrevive durante o inverno nos tecidos da planta, sendo o exemplo mais comum, nos frutos mumificados. O inóculo primário surge no início da primavera, com o aumento das temperaturas, sendo os 27°C e uma humidade relativa elevada condições óptimas para a disseminação deste patogénio.

Os conídios formam-se com temperaturas entre os 5 e os 35°C, sendo que quanto menor a temperatura mais lento é o processo de infecção (Madeiras, 2016).

Estas três espécies de fungos causam sintomas nas diferentes partes da planta, tais como, nos frutos, nos pecíolos, nas folhas, nos estolhos e na coroa. Os pecíolos apresentam lesões escuras (Figura 3) o que provoca a murchidão das folhas levando posteriormente à sua morte. Nas folhas aparecem manchas de tons escuros em todo o limbo e manchas irregulares nas suas bordaduras. A coroa do morangueiro ao ser afectada provoca a murchidão de toda a planta, o seu tecido fica necrosado apresentando manchas avermelhadas (Figura 4). Os frutos podem ser infectados em qualquer estado de maturação, mas os sintomas são mais severos em frutos já maduros, apresentando nos morangos manchas redondas, firmes e com uma pequena depressão (Figura 5), a sua cor evolui do castanho claro para o castanho escuro, e o fungo vai colonizando os tecidos do fruto conduzindo à sua mumificação (Ellis & Erincik, 2008; Turechek & Heidenreich, 2012).



Figura 3 – Necrose no pecíolo, causada por antracnose; Fonte: Bolda *et al.*, 2016.



Figura 4 – Necrose avermelhada na coroa, causada pela antracnose; Fonte: Bolda *et al.*, 2016.



Figura 5 – Manchas castanhas com uma ligeira depressão, causada pela antracnose; Fonte: Bolda *et al.*, 2016.

2.1.6.2. Oídio

O agente causal do oídio do morangueiro é *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae* (Lopes *et al.*, 2005). Este fungo também pertence ao filo *Ascomycota*, e à ordem *Erysiphales* que são ascomicetas filamentosos, em que a estrutura de frutificação, as cleistotecas, encontram-se na superfície da planta infectada (Agrios, 2013)

Com condições ambientais favoráveis, os conídios são facilmente dispersados pelo vento, pousando perto da fonte de inóculo, sendo que a chuva tem, neste caso, um efeito negativo na dispersão dos esporos. As temperaturas ideais para a germinação dos conídios variam entre os 15 e os 25°C e a humidade relativa deve ser superior 80%. (Paulus, 1990).

Os sintomas podem ser observados nos vários órgãos da planta. Nas folhas inicialmente aparecem manchas brancas de micélio na página inferior, essas manchas vão crescendo até cobrirem toda a página inferior, e as bordaduras da folha enrolam de modo a que o micélio se torne visível (Figura 6). O micélio também pode aparecer nas flores, deformando-as ou provocando a sua morte, e nos frutos, sendo que se a infecção se der em frutos verdes, estes ficam endurecidos e não amadurecem normalmente (Figura 7) (Lopes & Simões, 2006)



Figura 6 – Enrolamento da bordadura das folhas, expondo o micélio presente na página inferior, causado pelo oídio; Fonte: Syngenta, 2017b.



Figura 7 – Micélio presente em frutos verdes, causado pelo oídio; Fonte: Syngenta, 2017b.

2.1.6.3. Podridão Cinzenta

O agente causal da podridão cinzenta é o fungo *Botrytis cinerea* (Lopes & Simões, 2006). Este fungo causa a podridão cinzenta a uma grande diversidade de frutos e de vegetais, sendo também a doença mais comum em culturas protegidas (Agrios, 2013). Este fungo pertence também ao filo *Ascomycota*, na sua fase anamórfica, a fase teleomófica, *Botryotinia*, pertence à ordem das *Helotiales* que são ascomicetas filamentosos, que frutificam numa estrutura chamada himénio (Agrios, 2013).

O factor climatérico mais importante para o desenvolvimento desta doença é a humidade elevada, acima dos 90%, sabendo-se que chuvas frequentes aumentam muito a sua incidência. Estes factores, associados a temperaturas entre os 15 e os 20°C tornam as condições ambientais ideais para a proliferação desta doença (Paulus, 1990).

No morangueiro o fungo pode afectar toda a planta mas os sintomas são mais visíveis na maturação dos frutos (Lopes & Simões, 2006). Inicialmente aparece um micélio branco ou castanho-claro nas inflorescências passando posteriormente para os frutos (Agrios, 2013). Os primeiros sintomas a aparecer nos frutos são pequenas manchas castanhas-claras e moles, que vão evoluindo até cobrir todo o fruto, e quando as condições são favoráveis, toda a epiderme fica coberta por um enfeltrado cinzento (Figura 8), constituído por hifas vegetativas e conidióforos com conídios que facilmente se espalham pelas plantas circundantes (Lopes *et al.*, 2005).



Figura 8 – Frutos cobertos com enfeltrado cinzento, causado pela podridão cinzenta; Fonte: Syngenta, 2017c.

2.1.6.4. Necrose do rizoma

A necrose do rizoma pertence ao complexo das doenças da raiz, como a verticilose (Lopes *et al.*, 2005). O agente causal desta doença é um pseudofungo, a *Phytophthora cactorum* (Lopes & Simões, 2006). Este pertence ao reino *Chromista*, ao filo *Oomycota*, à classe *Oomycetes*, à ordem *Peronosporales* e à família *Pythiaceae*. Os esporos sexuais oósporos, são formados após a fusão do anterídeo com o oogónio, ao germinar dá origem ao zoosporângio, que contém os zoósporos (Agrios, 2013).

A necrose do rizoma ocorre esporadicamente, mas quando ocorre as perdas são consideráveis (Porrás *et al.*, 2007). Os oósporos dos frutos mumificados permanecem no solo durante muito tempo, germinando com o aumento das temperaturas, produzindo zoosporângios (Paulus, 1990). A temperatura óptima para o crescimento de micélio é de 20°C, mas é possível observar actividade de zoósporos a temperaturas mais baixas (Lopes *et al.*, 2005).

Este agente patogénico além de provocar a podridão na coroa, também pode causar podridão nos frutos, sendo cada uma causada por estirpes do fungo diferentes (Paulus, 1990). O primeiro sintoma a ser observado é nas folhas jovens, estas adquirem uma cor azul esverdeada e murcham repentinamente (Lopes & Simões, 2006). A coroa escurece levando a desintegração dos tecidos, e à murchidão de toda a planta (Paulus, 1990). Ao arrancar a planta, esta quebra na zona da coroa, ficando grande parte da coroa e as raízes no solo. Os frutos podem ser atacados em qualquer fase da sua maturação. Em frutos verdes as áreas afectadas apresentam cores acastanhadas (Lopes & Simões, 2006), que com a sua evolução tornam o fruto castanho e coriáceo (Paulus, 1990). Já em frutos próximos da maturação, as áreas afectadas apresentam uma cor lilás ou púrpura e uma consistência firme (Figura 9). Em ambos os frutos, com condições de humidade elevada, pode-se desenvolver um micélio branco sobre a sua superfície (Lopes & Simões, 2006), podendo levar a que estes sequem e mumifiquem (Paulus, 1990).



Figura 9 – Necroses acastanhadas presentes em frutos maduros, causadas pela necrose do rizoma; Fonte: Rivard, 2007.

2.1.6.5. Verticiliose

Como referido anteriormente a verticiliose pertence ao complexo das doenças do solo. Esta doença é causada por fungos do género *Verticillium* spp., mais precisamente pelas espécies *Verticillium dahliae* e *V. albo-atrum* (Almeida, 2014; Lopes *et al.*, 2005). Estes fungos, tal como a antracnose, pertencem ao filo *Ascomycota*, e na sua fase anamórfica, *Hypocrea*, pertencem à ordem *Hypocreales* que são ascomicetas filamentosos, em que a estrutura de frutificação são as peritécas (Agris, 2013).

Estes agentes patogénicos numa fase inicial do seu aparecimento no solo provocam ataques localizados, mas o passar dos anos e com a acumulação do inóculo no solo, pode surgir o aparecimento de novas estripes e os ataques tendem a tornam-se mais severos (Agris, 2013). Este fungo infecta preferencialmente as plantas em situações ambientais de stress (Lopes *et al.*, 2005). Ambas as espécies produzem conídios de curta duração, sendo que *V. dahlie* é mais comum em regiões mais quente, já que as suas temperaturas óptimas variam entre os 25 e os 28°C, enquanto que *V. albom-atrum* desenvolve-se melhor entre os 20 e os 25°C (Agris, 2013).

Quanto à sintomatologia desta doença, é possível verificar nas folhas mais velhas um aparecimento de necroses castanhas entre as nervuras e as margens, o que leva à sua morte. As folhas jovens ficam atrofiadas permanecendo verdes e turgidas até à morte da planta (Figura 10) (Lopes & Simões, 2006).



Figura 10 – Presença de folhas mais velhas mortas, causado pela presença de vertililose; Fonte: Bolda & Koike, 2013.

2.1.6.6. Mancha angular da folha

A mancha angular da folha é uma bacteriose causada por *Xanthomonas fragariae* (A. Lopes & Simões, 2006), sendo a sua disseminação feita pelo transporte de plantas afectadas (Roberts *et al.*, 1997).

A bactéria não sobrevive no solo, mas pode alojar-se nos detritos vegetais, de morangueiro, de um ano para o outro. A temperatura óptima para o seu crescimento é de 20°C, suportando uma temperatura máxima de 32°C (Roberts *et al.*, 1997).

Os primeiros sintomas verificam-se passados alguns dias após a plantação (Chaves, 1992). Inicialmente aparecem pequenas lesões, com aspecto húmido, na página inferior da folha, essas lesões só são observáveis com a reflexão da luz (Figura 11 a), mas com o passar do tempo essas manchas evoluem e ganham contornos angulares e uma cor translúcida verde (Lopes *et al.*, 2005). Num estado mais avançado, as manchas ganham uma coloração escura e surge um exsudado amarelo-claro e viscoso (Figura 11 b) (Chaves, 1992) e por fim estas adquirem um contorno poligonal e uma coloração acastanhada (Lopes *et al.*, 2005).

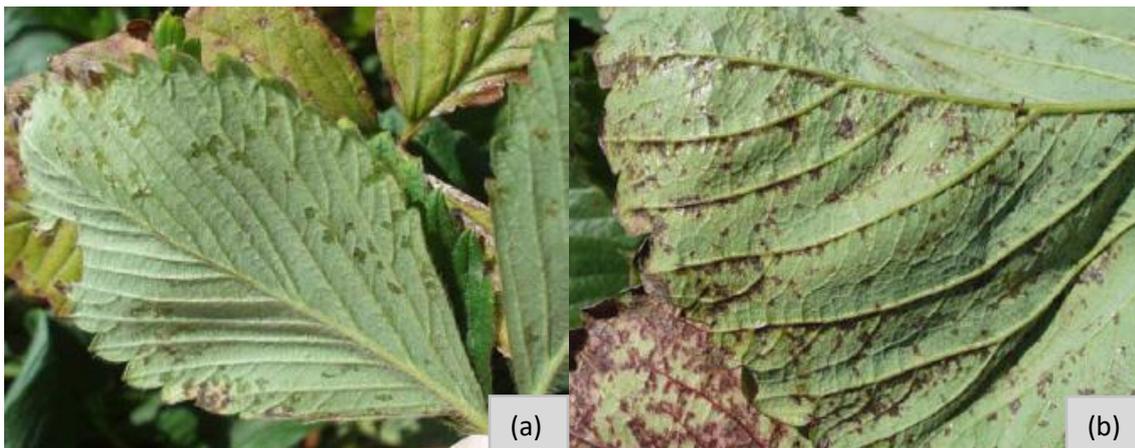


Figura 11 – Lesões com aspecto húmido observáveis na página inferior da folha (a), e lesões escuras num estado avançado com exsudado amarelo-claro (b); Fonte: PaDIL, sem data.

2.1.6.7. Víroses e fitoplasmas

Segundo Almeida (2014), existe um número elevado de espécies de vírus e fitoplasmas associados ao morangueiro, contando-se actualmente descritos mais de 30. No entanto, de entre todos estes são de destacar três vírus, que provocam mais estragos nesta cultura, como o frisado do morangueiro (Strawberry crinkle virus, SCV), o marginado amarelo suave do morangueiro (Strawberry mild yellow edge virus, SMYEV) e o marmoreado do morangueiro (Strawberry mottle virus, SMoV), sendo a sua transmissão feita por afídeos (Lopes & Simões, 2006).

2.1.6.8. Pragas

As principais pragas do morangueiro, em Portugal e em cultura protegida são os ácaros, os afídeos, as lagartas, a mosca branca e os tripses (Almeida, 2014; Campo, 2007; Lopes & Simões, 2006). Os ácaros (Figura 12) *Tetranychus* spp., *Brevipalpus abovatus*, *Phytonemus pallidus* são as principais espécies que atacam os morangueiros (Lopes & Simões, 2006). Esta praga provoca perda de vigor da planta e pode causar necrose nos frutos, reduzindo assim o seu valor comercial (Ferreira *et al.*, 2005). Os principais afídeos que afectam esta cultura são: *Aphis gossypii*, *A. ruborum*, *Aulacorthum solani*, *Pentatrichopus fragaefolii* e *Macrosiphum euphorbiae* (Figura 13) (Lopes & Simões, 2006). Esta praga ao alimentar-se provoca necroses nos tecidos vegetais levando posteriormente à sua morte. Os afídeos também produzem meladas promovendo assim o aparecimento de fumagina (Ferreira *et al.*, 2005). Além disso, os afídeos são os

transmissores dos vírus referidos no ponto anterior. As lagartas provocam estragos nas folhas e nos frutos (Ferreira *et al.*, 2005), sendo as principais espécies *Agrotis segetum*, *Autographa gamma*, *Chrysodeixis calcites*, *Helicoverpa armígera*, *Phragmatobia* spp., *Spodoptera littoralis* (Almeida, 2014). Uma praga que podemos encontrar frequentemente nesta cultura são os tripses, cujas principais espécies identificadas nesta cultura são a *Frankniliella occidentalis*, *Thrips tabaci*, *Thrips flavus*, *Thrips angusticeps* (Almeida, 2014), estes insectos ao alimentarem-se, provocam a morte das células de que se alimentaram, o que leva ao aparecimento de uma coloração bronzeada, perdendo, nos frutos atacados, o seu valor comercial (Ferreira *et al.*, 2005). Por último, a mosca branca (Figura 14), *Trialeurodes vaporariorum*, que sendo um insecto que também se alimenta da seiva da planta, leva ao seu enfraquecimento, sintoma que fica associado à produção de meladas e ao conseqüente aparecimento de fumagina (Ferreira *et al.*, 2005).



© Copyright Syngenta Crop Protection Lda, Lisboa.

Figura 12 - Folha de morangueiro coberta de ácaros e as suas teias;
Fonte: Syngenta, 2017a.



Figura 13 - Afídeo da espécie *Macrosiphum euphorbiae*; Fonte: Rigotti, sem data.



Figura 14 - Mosca branca na página inferior da folha de morangueiro;
Fonte: Alves, 2016.

2.2. Cultura sem solo

A cultura sem solo (CSS) pode ser definida como um método de produção em que as plantas não estão ancoradas no solo (Almeida, 2003; Soria & Olivert, 2002). Assim, a CSS engloba a cultura em água (hidroponia) a cultura em substrato e a aeroponia (Almeida, 2003). Entre nós, apesar de hidroponia significar “cultura em água”, pode-se utilizar o termo como um sinónimo de CSS, sendo que a tecnologia e a condução das culturas são semelhantes nos diferentes sistemas. Neste trabalho será abordado o sistema de cultura em substrato.

A CSS foi desenvolvida com o objectivo de superar problemas do solo usuais nas culturas intensivas em estufa e ao ar livre (Gruda & Maher, 2006). Os principais problemas são a salinidade e as doenças do solo causadas maioritariamente por fungos. O solo tem como principais funções o suporte e o fornecimento de água, nutrientes e oxigénio às raízes, sendo que em CSS o suporte da planta é assegurado pelos substratos ou com recurso a tutores, se necessário. O fornecimento de água e nutrientes é realizado através da solução nutritiva e o arejamento pode ser feito de diversas formas (Almeida, 2003). Neste tipo de cultura é possível controlar as condições físicas e químicas do meio onde crescem as raízes, a solução nutritiva, e nos substratos, escolher o material que constitui o suporte físico, reduzindo o volume de material, comparativamente com as culturas em solo (Reis, 2003). A CSS permite ultrapassar esses problemas de salinidade e doenças do solo, uma vez que a nutrição da planta e a rega podem ser controladas, podendo aumentar a produtividade, sobretudo em culturas protegidas (Almeida, 2003).

Existem dois tipos de sistemas de CSS, os sistemas abertos e os fechados. Nos primeiros a água de drenagem não volta a entrar no sistema, enquanto que em sistemas fechados a água é reciclada, exigindo assim uma maior qualidade da água (Gruda & Maher, 2006).

As CSS têm vindo a despertar um interesse crescente na produção de plantas hortícolas e ornamentais, devido às diversas vantagens comparativamente às culturas no solo (Reis, 2003). No Quadro 4 estão apresentadas as principais vantagens e desvantagens da CSS:

Quadro 4 - Vantagens e desvantagens da CSS. Fonte: Gruda & Maher, 2006; Reis, 2003; Soria & Olivert, 2002.

Vantagens:	Desvantagens:
A nutrição da planta é controlada consoante as exigências das plantas, facilitando as suas correcções;	Na ausência de mecanismos de defesa dos substratos, podem aparecer doenças na raiz, como por exemplo a pitiose, causada por o <i>Pythium</i> spp.;
A solução é aplicada directamente ou pode ser aplicada a um substrato inerte, sem actividade química, ou sobre substratos com baixa troca catiónica;	Como o volume de material é muito menor, têm uma menor capacidade de retenção de água, tendo de haver um maior controlo do sistema de rega e da nutrição da planta;
Maior arejamento da raiz, aumentando a absorção de nutrientes;	Exige um maior conhecimento e formação por parte do agricultor;
Economia de água e fertilizantes. Em sistemas fechados, onde há reutilização da água drenada, a economia é mais acentuada;	O custo de instalação é muito elevado, comparativamente com as culturas instaladas no solo;
Maior controlo fitossanitário e maior tolerância das plantas a doenças. Reduzindo a utilização de produtos fitossanitários;	Maior consumo de energia;
Ausência de operações de preparação do solo e controlo de infestantes;	A grande quantidade de resíduos como os plásticos e os substratos contribui para a contaminação do meio ambiente;
Melhoria das condições de trabalho, no caso dos morangos, onde é possível montar o sistema em altura;	Em sistemas abertos como não há reutilização da água drenada, esta pode causar graves problemas ambientais;
Precocidade e qualidade do produto;	Em sistemas fechados existe uma maior probabilidade de propagação de doenças com a reutilização da água drenada
Permite uma melhoria da produção com a combinação de outras técnicas, como o controlo da temperatura em estufas, o controlo da concentração de CO ₂ , da humidade do ar e a utilização de iluminação artificial.	

2.2.1. Cultura em substrato

Um substrato pode ser definido como meio sólido, natural, sintético ou residual, mineral ou orgânico que serve de suporte para o desenvolvimento das raízes, isolado do solo, proporcionando à planta a água e os nutrientes necessários, e às raízes a oxigenação necessária (Caço, 2010; Quintero *et al.*, 2011). As principais funções de um substrato são ancorar e reter as raízes, protegendo-as da luz, permitir a sua respiração e armazenar água e nutrientes. Com a utilização de substratos pretende-se obter uma maior produção e produtos de maior qualidade, num período de tempo menor, e reduzir os custos de produção e o impacto ambiental (Quintero *et al.*, 2011).

Na cultura em substrato, o volume desse é reduzido, limitando assim o desenvolvimento do sistema radicular, o que leva a um maior controlo do sistema de rega (Gruda & Maher, 2006). Quando há alteração das temperaturas do ar, a absorção de água é maior, ou seja, o consumo de nutrientes tende a ser elevado, isto leva a que as regas sejam mais frequentes, de modo a que a planta tenha sempre água disponível. As regas ao serem mais frequentes, leva a uma falta de arejamento no sistema radicular, por isso devem ser escolhidos substratos com bastante porosidade (Sáez, 1999). Além disso o substrato deve ser escolhido consoante as características da cultura e consoante a sua instalação (Quintero *et al.*, 2011).

Um substrato deve ter as características físicas e químicas ideais para o crescimento da planta e estar livre de sementes, pragas e de outros agente patogénicos. Nem sempre existe um substrato com as características ideais, daí serem feitas misturas de diversos materiais (Beltrano & Gimenez, 2015).

As principais características físicas de um substrato são a densidade real e aparente, granulometria, porosidade, arejamento, capacidade de retenção de água, e permeabilidade (Martínez & Roca, 2011; Sáez, 1999). As características físicas descrevem a porosidade de um substrato, determinando a fracção sólida, líquida e gasosa e a quantidade de água e de ar que este pode armazenar (Martínez & Roca, 2011). Primeiro que tudo, num substrato, pretende-se que este se mantenha estável durante o período em que a cultura está instalada (Beltrano & Gimenez, 2015), deve ter uma elevada capacidade de retenção de água, facilmente disponível para a planta durante o seu desenvolvimento (Beltrano & Gimenez, 2015), a água facilmente disponível deve ter uma percentagem de 20% a 30% e a água de reserva deve ter uma percentagem de 4% a 10%

(Martínez & Roca, 2011). O substrato deve também ter um bom arejamento (Sáez, 1999) e uma porosidade de, aproximadamente, 25%, de forma a que não haja falta de oxigénio na raiz (Beltrano & Gimenez, 2015). Quanto à sua granulometria, o tamanho das partículas deve ser uniforme (Beltrano & Gimenez, 2015), materiais muito espessos têm bom arejamento mas pouca retenção de água e os materiais finos, pelo contrário, têm uma boa retenção de água mas pouco arejamento (Martínez & Roca, 2011), a densidade aparente deve ser baixa (Sáez, 1999), de modo a que o transporte e a manutenção do substrato seja fácil (Martínez & Roca, 2011).

No que diz respeito às características químicas, as principais são a capacidade de troca catiónica (CTC), o pH, a capacidade tampão, a condutividade eléctrica (CE), o teor de sais e a relação C/N (carbono/azoto) (Caço, 2010; Martínez & Roca, 2011; Sáez, 1999). Um substrato deve ser quimicamente inerte (Soria & Olivert, 2002), assegurando um equilíbrio iónico da solução (Martínez & Roca, 2011). Deve ter um pH neutro, igual a 7, para que não afecte a disponibilidade de iões (Martínez & Roca, 2011). A capacidade tampão deve ser elevada para que não haja variações no pH (Beltrano & Gimenez, 2015). A CTC deve ser baixa, pois as regas são mais frequentes, ou seja os nutrientes estão sempre disponíveis, logo não há necessidade na alteração do equilíbrio iónico da solução nutritiva (Martínez & Roca, 2011). A salinidade de um substrato deve ser reduzida (Sáez, 1999) de forma a não alterar a CTC (Martínez & Roca, 2011), considerando-se que valores superiores a 3,5 mS/cm é um valor bastante elevado para qualquer cultura hortícola (Soria & Olivert, 2002). A velocidade de degradação de um substrato deve ser mínima (Sáez, 1999), pois um substrato com uma relação C/N elevada, têm uma baixa estabilidade, podendo alterar outras características como a porosidade e o arejamento, sendo aconselhado para substratos orgânicos uma relação C/N de 20 (Martínez & Roca, 2011).

Os substratos podem ser classificados segundo a sua natureza, a granulometria e segundo a sua actividade química (Quintero *et al.*, 2011), na figura seguinte (Figura 15) é apresentado um esquema das diferentes classificações de um substrato.

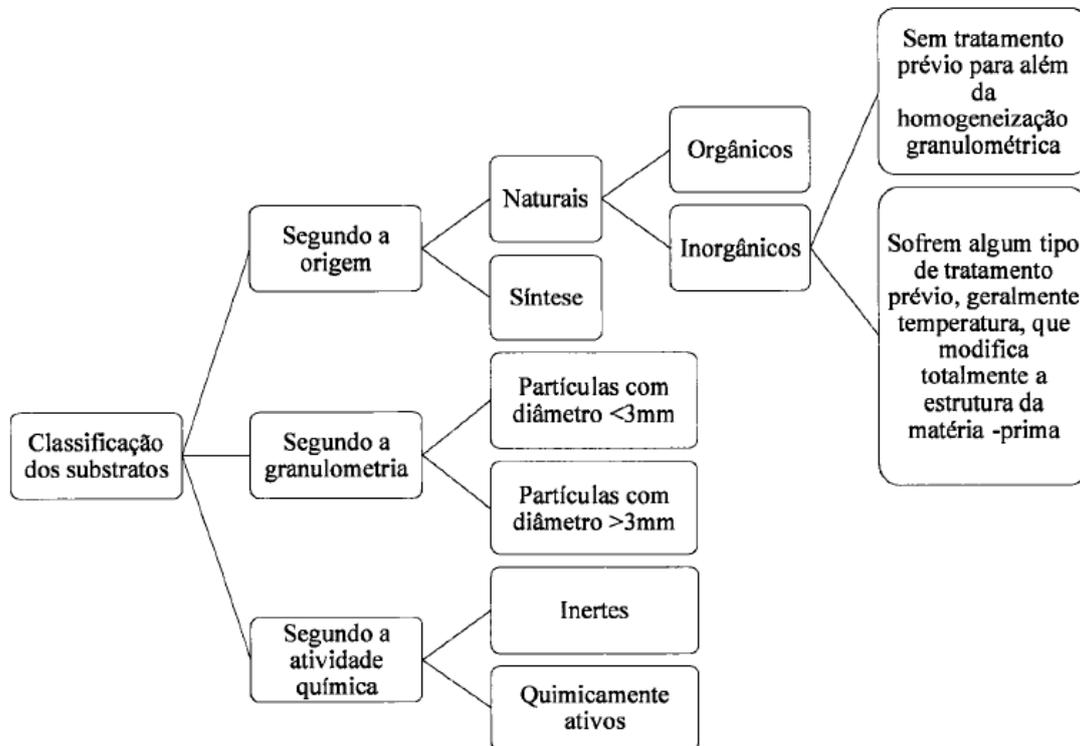


Figura 15 - Esquema representativo das diferentes classificações dos substratos; Fonte: Barcelos, 2015.

Quanto à sua origem os substratos podem ser classificados como substratos de síntese (polímeros orgânicos não biodegradáveis, obtidos por síntese química) e substratos naturais (sujeitos a uma decomposição biológica) (Barcelos, 2016; Beltrano & Gimenez, 2015). Como substratos de síntese temos por exemplo a espuma de poliuretano e poliestireno expandido (Beltrano & Gimenez, 2015). Quanto aos substratos naturais existem dois tipos, os substratos orgânicos e os substratos inorgânicos. Os substratos orgânicos são de origem animal ou vegetal como por exemplo as turfas, a fibra de coco, a casca de pinheiro, a casca de arroz, o serrim e a palha. Os substratos inorgânicos, tendem a ser inertes quimicamente e subdividem-se em substratos que não sofreram um tratamento prévio para além da homogeneização granulométrica, como por exemplo a gravilha, a areia, a pozolana (pedra vulcânica) e a pedra-pomes, e os que sofreram algum tratamento prévio, como a lã de rocha, a perlite, a vermiculite e a argila expandida (Barcelos, 2016). Segundo Soria & Olivert (2002), nas culturas hortícolas, os principais

substratos utilizados são a lã de rocha, a perlite, as areias, as turfas, a fibra de coco e a argila expandida.

Segundo a sua granulometria, os substratos podem ser divididos em substratos com partículas inferiores a 3 mm e substratos com partículas superiores a 3 mm. Como exemplo dos substratos com partículas inferiores a 3 mm temos as areia, a perlite, os plásticos e a lã de rocha, e como exemplo de substratos com partículas superiores a 3 mm temos a gravilha e a pedra-pomes (Barcelos, 2016).

De acordo com a actividade química existem substratos inertes e os substratos quimicamente activos. Os substratos inertes não reagem quimicamente com a solução nutritiva, têm baixa ou nula CTC, sendo a sua função apenas a fixação da planta e manter uma boa relação ar/água. Temos como principais exemplos de substratos inertes a lã de rocha, a perlite, a areia, a gravilha e as rochas vulcânicas. Já os substratos quimicamente activos reagem com a solução nutritiva, apresentando uma elevada CTC e retêm os nutrientes. Como principais exemplos temos a turfa, a fibra de coco e a vermiculite (Barcelos, 2016).

2.2.2. Cultura do morango em substrato

A introdução do cultivo de morangos em CSS permite ultrapassar diversos problemas do cultivo tradicional, tais como: a presença de agentes patogénios no solo, salinidade e os custo de mão de obra (Depardieu *et al.*, 2016). Em CSS os morangos podem ser instalados sobre tabuleiros, acima do nível do solo, facilitando assim a colheita, permitindo uma maior densidade de plantação e aumentando a produtividade (Giménez *et al.*, 2008). Actualmente predominam os sistemas abertos, mas devido a problemas económicos e ambientais a tendência são os sistemas fechados (Miranda *et al.*, 2014).

Em CSS no morangueiro, geralmente utiliza-se algum substrato, podendo este ser colocado em sacos de cultivo, vasos de plástico ou tabuleiros, sendo o mais utilizado o sistema com sacos de cultivo preenchidos com, por exemplo, turfa, perlita, lã de rocha ou fibra de coco. Como a densidade de plantação nestes sistemas é superior, é possível colocar 8 a 12 plantas/m², tendo uma produtividade entre os 5 e os 10 kg/m² (Giménez *et al.*, 2008).

Num estudo realizado por Miranda *et al.* (2014) para a influência em sistema fechado com sacos e tabuleiros com fibra de coco no rendimento e no peso médio de morangos de quatro cultivares (Albion, Camarosa, Festival e Oso Grande), estes verificaram que o rendimento por planta, foi significativamente maior nos tabuleiros. A produção média nos tabuleiros foi de 964 g/planta e nos sacos de 733 g/planta. Para esta diferença pode ter contribuído a densidade plantação que foi de 13 e 10 plantas/m², respectivamente.

Noutro estudo feito por Paranjpe *et al.* (2003), onde foi utilizada uma densidade de plantação maior (22 plantas/m²), a produção por planta foi de 0,390 g/planta. De um modo geral a análise da bibliografia permite-nos verificar que o aumento da densidade diminui a produtividade por planta, mas a produção por m² aumenta.

Para uma boa viabilidade económica pretende-se que a produção por planta seja no mínimo 300 g (Oliveira & Scivittaro, 2011). Em sistemas com sacos de cultivo considera-se que 1,200 g/planta é aceitável economicamente (Lazzarotto & Fioravanço, 2007)

2.2.3. New Growing System

O NGS é um sistema hidropónico de recirculação sem solo onde as culturas se desenvolvem num ambiente óptimo, com a água, o oxigénio e os nutrientes necessários (New Growing System S.L., 2014b).

Este sistema é constituído por uma multi-banda (Figura 16), preenchida com substrato, concebida para o desenvolvimento do sistema radicular das plantas. Essa multi-banda é constituída por duas camadas interligadas fixadas numa armadura em ferro com um ligeiro declive (New Growing System S.L., 2014c). Este sistema pode ser instalado em suportes fixos ou em suportes oscilantes (Figura 17), onde os tabuleiros se encontram suspensos por cabos a uma certa altura do solo, e quando se baixa um grupo de tabuleiros os outros sobem, ficando alternados. Este último sistema permite uma maior ocupação da área, tendo uma densidade de 200 000 plantas/ha (New Growing System S.L., 2014b).

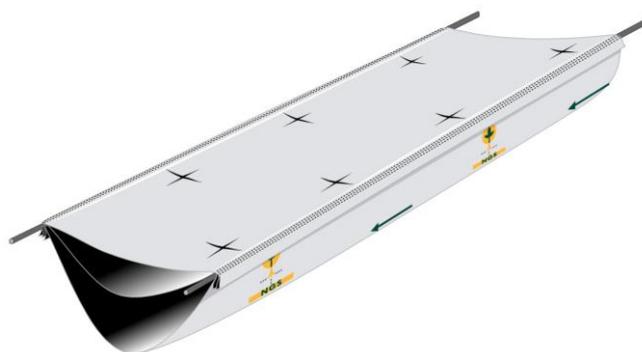


Figura 16 - Corte da multi-banda; Fonte: New Growing System S.L., 2014c

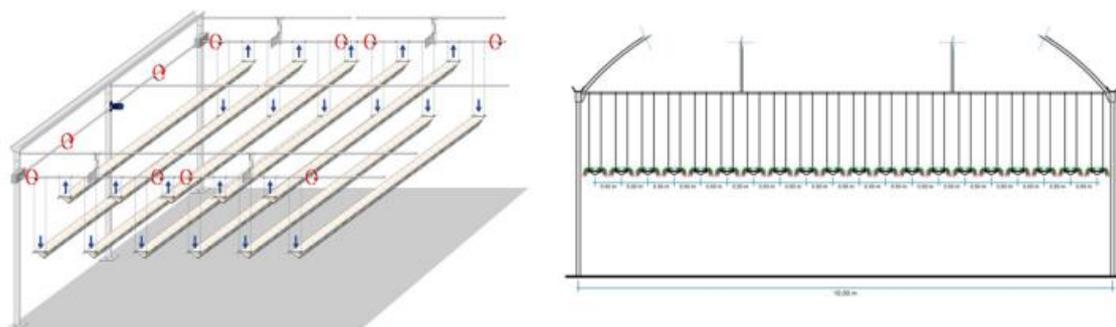


Figura 17 - Esquema do sistema oscilante; Fonte: Santos, 2016

Em NGS o sistema de rega (Figura 18) é caracterizado por ser de circuito fechado, aproveitando o máximo das drenagens, economizando, assim, água e fertilizantes. Para isso, no final de cada tabuleiro existe um tubo que recolhe toda a água drenada enviando-a de novo para o local de origem. Este método de cultivo permite obter produtos de qualidade e limpos, pronto para consumo em fresco (New Growing System S.L., 2014b)

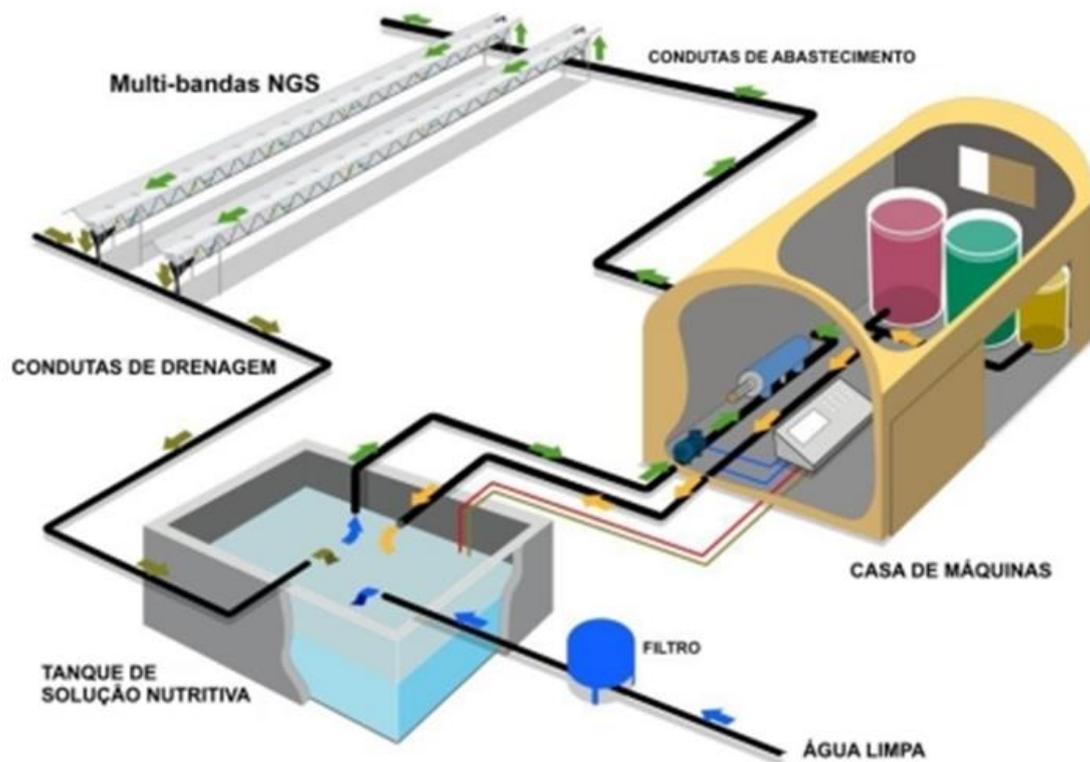


Figura 18 - Esquema do sistema de rega em NGS; Fonte: Santos, 2016.

Materiais e métodos

3. Materiais e métodos

3.1. Localização do ensaio

O ensaio foi realizado na empresa Estufas do Vale, Lda, nas Fazendas de Almeirim, no concelho de Almeirim, distrito de Santarém (39°18 52 N; 8°61 12 W)

3.2. Caracterização do sistema

3.2.1. Estufas

As estufas têm cobertura em polietileno térmico e um sistema de aquecimento com duas fornalhas, para fazer face às temperaturas baixas que se podem registar durante o inverno e durante a noite. No seu interior está instalado o sistema NGS com 40 tabuleiros com multi-banda DUO por sector, e as plantas instaladas com um espaçamento de 20 cm. Entre cada tabuleiro existe uma entrelinha de 50 cm, mas como o sistema é oscilante, quando os tabuleiros não estão ao mesmo nível, este apresenta uma entrelinha de 1 m.

3.2.2. Sistema de rega e solução nutritiva

O sistema de rega instalado é um sistema fechado, onde há reaproveitamento de água. Para isso existe um tanque para onde é escoada toda a solução drenada dos tabuleiros. Inicialmente esse tanque é cheio com água retirada de um furo. A solução nutritiva encontra-se dividida em 4 tanques, e existe mais um 5º tanque que contém ácido nítrico para controlo do pH.

A água sai do tanque, passa por uma máquina com sondas que medem o pH e CE (Figura 19). A máquina é programada para corrigir o pH e a CE dentro de um determinado valor, neste caso pretendia-se um pH de 5,8, tendo um intervalo entre 5,5 e 6,3 e uma CE entre 1,1 e 1,5 mS/cm. A CE é diferente consoante o estado de desenvolvimento da planta, inicialmente utilizou-se uma condutividade baixa, 0,9 mS/cm e durante a produção utilizou-se uma CE de 1,5 mS/cm no início, passando para os 1,3 mS/cm mais tarde.

Sempre que o valor de pH e CE seja inferior a esse intervalo é injectada solução-mãe e ácido na água, para que seja feita uma correcção da solução de entrada. Depois da correcção referida a solução é enviada para os tabuleiros. No Anexo 1 é apresentada uma imagem da correcção de pH e CE pela máquina.

Como é um sistema sofisticado foi necessário realizar medições todos os dias de valores de pH e CE, tanto na solução de entrada no sistema, como na solução drenada no final de cada tabuleiro e no tanque. Na solução de entrada foram medidos os valores das amostras da solução, depois de feita a correcção desses parâmetros. Na solução drenada foram verificados os valores destes parâmetros em amostras de solução do tanque e amostras recolhidas no sistema de drenagem (Figura 20) de cada tabuleiro, com os diferentes substratos. As regas de lavagem foram feitas sempre que a solução do tanque apresentasse valores superiores a 1,00 mS/cm e sempre que as amostras de solução recolhidas no sistema de drenagem fossem superiores a 2,00 mS/cm. As regas de lavagem foram feitas tendo em conta os valores de outros sectores na estufa.

A rampa de cada tabuleiro tinha 25 metros, com 5 gotejadores por metro, cada um com um débito de 0,6 L/h. O tabuleiro tinha no total 125 gotejadores, ou seja, o débito total era de 75 L/h.



Figura 19 - Máquina de controlo de pH e CE da solução de entrada.



Figura 20 - Sistema de drenagem no final de cada tabuleiro.

A solução nutritiva era a adequada ao estado de desenvolvimento da planta, mas no período de recolha de dados foi utilizada sempre a mesma solução nutritiva. No Quadro 5 apresentam-se os adubos usados e as quantidades dissolvidas em 100 L de água em diferentes tanques para impedir a sua precipitação. A partir desta solução, conforme a programação de pH e de CE estabelecida na máquina, esta foi doseando 400 ml de água durante a correcção dos parâmetros. No Anexo 2 é apresentada um quadro com a concentração dos nutrientes nos fertilizantes (% p/p).

Quadro 5 - Quantidades de adubos, em kg, dissolvidos em 100 L de água

Tanque 1	
Nitrato de Cálcio	4,16
Tanque 2	
Nitrato de Potássio	0,67
Microser – Boro (B); Cobre (Cu); Ferro (Fe); Manganês (Mn); Molibdénio (Mo); Zinco (Zn)	0,2
Tanque 3	
Fosfato monopotássico	1,67
Quelato de ferro 6%	0,15
Tanque 4	
Sulfato de Potássio	2
Sulfato de Magnésio	0,83

3.2.3. Substratos utilizados

Os substratos utilizados são ambos comerciais, um fornecido pela empresa Litoral Regas, Lda (Sub 1) e outro pela SIRO ® (Sub 2). O Sub 1 é constituído por fibra de coco (60% v/v) e 40% de perlite. Apresenta uma percentagem de matéria orgânica de 66%, um pH entre 5,5 e 6,5 e uma condutividade eléctrica (CE) entre 50 e 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Relativamente às propriedades físicas tinha 62,1% de matéria seca, uma densidade aparente seca de 105,5 g/L, arejamento de 19,3%, porosidade de 94,2%, água de reserva de 6,7% água facilmente disponível de 38,8%, água dificilmente disponível de 29,4% e um índice de espessura de 35,2%.

O segundo substrato (Sub 2) foi fornecido pela SIRO ®, SIRO Morango profissional – Mist. 145.00. Este substrato é constituído por 50% de húmus de casca de

pinho, 20% de turfa loira e 30% de coco. Relativamente às propriedades químicas, apresenta uma percentagem de matéria orgânica superior a 86,4%, um pH entre os 5,5 e os 5,8 e uma CE entre os 60 e os 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Quanto às propriedades físicas tinha uma textura fina-média de 0 a 0,8 mm, 33,7% de matéria seca, uma densidade aparente seca de 0,15%, um arejamento de 20,3%, porosidade de 90,2%, água de reserva de 4,11%, água facilmente disponível de 29,6% e uma água dificilmente disponível de 36,2%.

3.2.4. Material vegetal

A variedade de morango utilizada foi a San Andreas (Plant Patent US PP19,975 P2). É uma variedade de dias-neutros, adequada para produção de inverno e muito semelhante à variedade Diamante e Albion, mas com uma maior produtividade, melhor qualidade dos frutos e uma maior resistência a doenças (Shaw & Larson, 2008). É uma variedade precoce com uma produção estável durante o seu ciclo produtivo. Adapta-se muito bem a diversos climas e mercados. Esta variedade não produz um número elevado de estolhos (Morangoeste, 2017).

A variedade San Andreas é tolerante ao oídio, causado por *Sphaerotheca macularis*, à antracnose, causado por *Colletotrichum acutatum*, à verticiliose, causado por *Verticillium dahliae*, à necrose do rizoma, causada por *Phytophthora cactorum* e à mancha comum da folha, causada por *Ramularia tulasnei*. Shaw & Larson, (2008) referem ainda que apresenta tolerância a ácaros e a diversos vírus.

3.3. Condução do ensaio

Após a desinfecção dos tabuleiros durante o mês de agosto de 2016, os substratos foram colocados neles, no dia 5 de setembro. No dia 10 de setembro procedeu-se à plantação com uma densidade de 15 plantas/ m^2 . Ao longo do ciclo foram feitas podas para eliminar folhas velhas e estolhos, frutos deformados e de reduzido calibre. Durante a floração foram colocadas colmeias de *Bombus terrestris*, para ajudar na polinização. As colheitas foram feitas semanalmente. Ao longo de todo o ciclo da planta foram feitas aplicações de produtos fitofarmacêuticos, segundo as regras da protecção integrada de forma a controlar as principais doenças e pragas. A recolha de dados começou no início de outubro de 2016.

3.4. Parâmetros avaliados

3.4.1. Pesquisa da presença de agentes patogénicos nos substratos e nas águas

3.4.1.1. Recolha de amostras

Para a análise da presença de patogénios no sistema, inicialmente foram recolhidas amostras de água do furo e do tanque, e dos dois substratos em estudo. Depois foram recolhidas mensalmente amostras de água drenada dos dois substratos. No final no ensaio, foram recolhidas novamente amostras de água do tanque e do furo. Ao longo do ciclo da cultura foram recolhidas plantas mortas ou doentes dos tabuleiros dos substratos em estudo.

3.4.1.2. Preparação das amostras

Os substratos recolhidos inicialmente foram misturados em água-miliQ, e a suspensão formada deixou-se repousar durante algum tempo até que a maioria das partículas com maior densidade precipitasse no fundo do copo. Seguidamente retirou-se, com uma pipeta Pasteur, 0,10 mL da suspensão de duas zonas diferentes do copo, de modo a obter uma amostra mais representativa e colocou-se numa placa de Petri de 90 mm com meio de cultura PDA (Potato dextrose agar). As placas inoculadas, foram deixadas à temperatura ambiente (22 a 24°C) durante alguns dias, de modo a que os microorganismos que estivessem presentes pudessem crescer.

As águas recolhidas, tanto as recolhidas inicialmente como as que foram recolhidas mensalmente, sofreram um processo de centrifugação com a centrífuga (Sorvall Lynx 4000 – Thermo Scientific), programada para os 9 232 g a 10°C durante 10 min. Seguidamente, eliminou-se o sobrenadante e do precipitado retirou-se com uma pipeta de Pasteur, 1 mL e foram colocadas em placas de Petri de 90 mm, tendo-se procedido como anteriormente.

As plantas mortas recolhidas foram divididas em raiz, caule e folhas, se as apresentassem. Com água corrente foi retirado todo o substrato que estava na raiz das

plantas, de modo a deixá-las limpas. Todas as partes da planta foram sujeitas a um processo de desinfecção superficial, para o qual se seguiu o protocolo descrito por Verma *et al.* (2007), iniciando-se com uma desinfecção em: álcool 96%, 1 min, seguida de outra desinfecção em hipoclorito de sódio 3%, 1 min, e por fim outra desinfecção em álcool a 70%, 1 min, após o ciclo de desinfecções foram realizadas três lavagens em água-miliQ, de modo a eliminar todo o excesso de desinfectante. Depois do processo de limpeza e desinfecção, as diferentes partes da planta foram secas em papel de filtro, para retirar o excesso de água e foram cortadas em pedaços pequenos e colocados nas placas de Petri de 90 mm com meio de cultura PDA, que foram deixadas a incubar nas condições referidas anteriormente.

Posteriormente foram feitas repicagens, de cada um dos diferentes microorganismos obtidos, para placas de Petri de 60 mm, de modo a que estes ficassem em cultura pura. As placas foram todas devidamente identificadas, e deixadas à temperatura ambiente durante 2 a 8 dias até ao preenchimento completo das placas.

3.4.1.3. Identificação molecular dos patógenos presentes

Após o isolamento em cultura pura de microorganismos, estes foram agrupados em 2 grupos, baseados nas suas características visuais, bactérias e fungos, e dentro desses grupos agruparam-se os fungos ou bactérias em subgrupos, consoante o seu aspecto visual, como a cor, a forma e a textura.

O DNA total das culturas foi extraído usando o método CTAB (brometo de hexadeciltrimetilamonio), descrito por Doyle & Doyle (1987) com algumas modificações. Assim, retiraram-se dos -20°C, cada um dos microtubos contendo as estruturas dos microorganismos macerados transformadas em pó e adicionou-se a cada um, 600 µL de tampão de extracção CTAB 2% (20 mM EDTA, 0,1 M Tris HCl pH8,0, 1,4 M NaCl, 2% CTAB, mais 4% de pvp, e 0,1% de β-mercaptoetanol adicionados imediatamente antes da sua utilização) e 0,5% de Proteinase K. A suspensão foi incubada a 60°C durante 90 min, e agitada por inversão a cada 15 min. Após esta incubação, foram adicionados a cada tubo 600 µL de clorofórmio-alcóol isoamílico (24:1) e os tubos foram agitados durante 10 minutos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 5000 g durante 10 min (Centrifuga 5415R, Eppendorf) e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo tendo-se adicionado depois 2,5 volumes de etanol absoluto frio.

As amostras foram suavemente homogeneizadas por inversão e novamente centrifugadas a 10000 g (Centrifuga 5415R, Eppendorf) durante 10 min. O sobrenadante foi descartado e o ‘pellet’ resultante foi lavado com 500 µL de etanol a 70% de modo a eliminar todos os resíduos de sal aderentes ao DNA. Os tubos foram novamente centrifugados a 10000 g (Centrifuga 5415R, Eppendorf) durante 10 min e o sobrenadante descartado. O ‘pellet’ final foi seco na centrifuga ‘speed vacuum’ (CentriVap micro IR, Labconco) durante 10 min a 55°C e por fim este foi ressuspenso em 30 µL de água ultra pura e o DNA conservado a -20°C até à sua posterior utilização.

O DNA total extraído foi sujeito a PCR (‘Polymerase Chain Reaction’ – reacção da polimerase em cadeia), para amplificação de cerca de 600 pb da região ITS (‘Internal Transcribed Spacer’) dos fungos utilizando ‘primers’ específicos, o ‘primer’ direto ITS1 (5’TCC GTA GGT GAA CC TGC GG 3’) e o ‘primer’ reverso ITS4 (5’TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3’) (White *et al.*, 1990). No caso das bactérias, foi amplificada uma porção de cerca de 1300 pb do rRNA 16S, utilizando os ‘primers’ Y1 (5’TGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGC3’) e Y3 (5’TACCTTGTTACGACTTCACCCCAGTC3’) (Laranjo *et al.*, 2004; Young *et al.*, 1991). As reacções de amplificação dos fungos realizaram-se nas seguintes condições: para 1 µL de DNA e um volume final de 50 µL juntou-se: 10 mM Tris-HCl (pH 8,6), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs (Thermo), 1 mM de cada ‘primer’ e 2,5 U de Dream-Taq DNA polimerase (Thermo), utilizando um termociclador MyCycler (Bio-Rad). O programa de amplificação da região ITS dos fungos foi o seguinte: 95°C durante 5 min., seguido de 39 ciclos de 95° C durante 30 seg., 55° C durante 30 seg. e 72° C durante 2 min. e a extensão final a 72° C durante 10 min.

As reacções de amplificação das bactérias realizaram-se nas seguintes condições: para 1 µL de DNA e um volume final de 50 µL juntou-se: 10 mM Tris-HCl (pH 8,6), 50 mM KCl, 1,25 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs (Thermo), 0,32 mM de cada ‘primer’ e 1,25 U de Dream-Taq DNA polimerase (Thermo), utilizando um termociclador MyCycler (Bio-Rad). No caso da amplificação rRNA 16S bacteriano o programa de amplificação foi: 95°C durante 2 min., seguido de 30 ciclos a 95°C durante 1 min., 62°C durante 30 seg. e 72°C durante 1 min., a extensão final decorreu a 72°C durante 5 min.

Os produtos amplificados foram analisados através da eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (0,5X: 1,1M Tris; 900mM Borate; 25mM EDTA; pH 8,3)

com uma voltagem constante de 80V, durante aproximadamente 1 hora. Como referência, para posterior análise, utilizou-se o marcador 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher).

Após a análise do gel, os produtos de amplificação foram purificados utilizando o kit comercial NZYGelpure da Nzytech Genes&Enzymes, seguindo todas as instruções do fabricante. Após a purificação as amostras foram novamente analisadas em gel de agarose, como descrito anteriormente, para avaliação da qualidade do DNA e sua quantificação, tendo depois sido enviadas para sequenciar para a empresa Macrogen-Europa (Holanda).

Os resultados da sequenciação foram analisados com o programa “BioEdit Sequence Alignment Editor v.7.2.3.” (Hall, 2011) e a procura de seqüências homólogas foi realizada com recurso à base de dados “Basic Local Alignment Search Tools” (BLAST) (Altschul *et al.*, 1997), do “National Center for Biotechnology Information (NCBI)”. Sempre que possível, as seqüências foram identificadas até à espécie e com um grau de semelhança entre os 95% e os 100%.

3.4.2. pH e Condutividade eléctrica (CE)

Em dois períodos ao longo do ensaio, de 21 de dezembro a 23 de janeiro e de 20 de fevereiro a 20 de março, foram feitas medições de pH e da CE da solução fornecida à cultura e drenada. As medições foram feitas 3 vezes ao dia, a primeira entre as 9:00 horas e as 10:00 horas, a segunda entre as 13:00 horas e as 14:00 horas e a última medição entre as 16:00 horas e as 17:00 horas. Quanto à solução de entrada apenas foram feitas medições quando se regava. Todas estas medições foram feitas 2 a 3 dias por semana. Para medir o pH e a CE utilizou-se respectivamente o HM Digital pH meter pH e o HM Digital EC/TDS/TEMP COM-100. A água drenada foi recolhida no fim do tabuleiro, no sistema de drenagem.

3.4.3. Produção e qualidade do fruto

Para avaliar a produção em cada substrato, delimitaram-se 4 parcelas ao longo do tabuleiro, nas quais se assinalaram 5 plantas. Em cada uma dessas plantas foram recolhidos os frutos. A partir destes determinou-se a produção total e comercial, que apenas engloba os frutos com características comerciais (\approx 80 % do fruto vermelho e

calibre), não deformados, não sobremaduros e de calibre elevado. Durante a colheita eram aplicadas as seguintes regras:

- Desprender o fruto pelo pedúnculo cortando-o;
- Minimizar a manipulação dos frutos;
- Colher os frutos directamente para a caixa;
- Eliminar todos os frutos defeituosos, sobremaduros, doentes ou de tamanho reduzido;
- Colocar as caixas nos carrinhos de colheita ou numa plataforma, nunca colocar directamente no chão.

A produção total e comercial foi avaliada ao longo do ensaio (entre 17 de outubro de 2016 e 17 de abril de 2017) e em dois períodos (de 21 de dezembro a 23 de janeiro e de 20 de fevereiro a 20 de março). Mediu-se o peso dos frutos, o calibre, através do diâmetro longitudinal e do diâmetro transversal e o teor de sólidos solúveis totais (°Brix), apenas dos frutos comerciais.

O peso por fruto foi medido por uma balança digital (Dibal), o calibre avaliado através do diâmetro longitudinal e transversal do fruto em milímetros (mm), medido por uma craveira digital. O °Brix mediu-se utilizando um refractómetro digital (ATAGO Palette).

Para o tratamento dos dados relativos aos dois períodos, foi feita a comparação de médias pelo teste de tStudent, usando o SPSS (Carvalho, 1988).

3.5. Objectivos

Este trabalho teve como objectivo analisar a influência da utilização de dois substratos comerciais diferentes num sistema hidropónico fechado, New Growing Systems, na produção e na qualidade de morangos da variedade ‘San Andreas’. Além disso, como se trata de um sistema hidropónico fechado, onde a água é reciclada, pretende-se avaliar a presença de microorganismos dentro do sistema, qual a sua origem e qual a sua dispersão nos substratos, nas plantas e na água. Para esse efeito, seleccionaram-se dois tabuleiros de 25 m, sendo cada um destes preenchidos com os substratos em estudo.

Discussão de Resultados

4. Discussão de resultados

4.1. Presença de microorganismos nos substratos, nas águas e nas plantas

Inicialmente analisaram-se os dois substratos em estudo, antes de serem colocados nos tabuleiros, e analisaram-se as águas do furo e do tanque. Depois, durante 6 meses foram analisadas as águas drenadas de cada substrato, e observados os sintomas das plantas.

Os organismos que se obtiveram nas culturas, foram agrupados em fungos e bactérias, como mostra a Figura 21.

Com a selecção visual foi possível identificar 40 fungos e 10 bactérias com características visuais diferentes, na figura 26 apresentam-se alguns exemplos. Durante as repicagens foram eliminadas placas com a presença de *Rhizopus* sp., uma vez que torna difícil o isolamento do fungo pretendido.

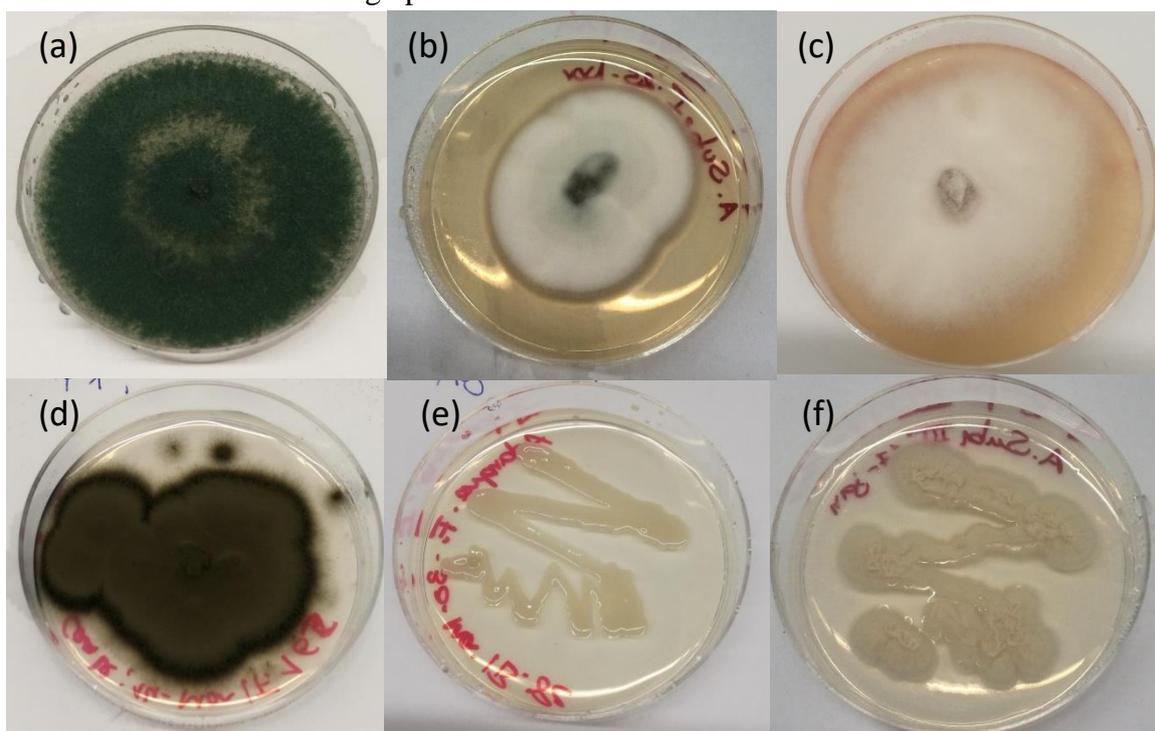


Figura 21 – Placas de Petri com diferentes fungos (a; b; c; d) e bactérias (e; f) com características visuais diferentes.

Pela observação visual das características morfológicas, os microorganismos obtidos dividiram-se por 24 tipos de fungos e 5 tipos de bactérias diferentes entre si. Após a amplificação por PCR obtiveram-se os produtos esperados, no caso da amplificação da

região ITS dos fungos, uma banda com cerca de 600 pb (Figura 22) e no caso das bactérias o produto de amplificação correspondente ao rRNA 16S, a banda com cerca de 1300 pb (Figura 23) Houve algumas amostras das quais não se obteve amplificação, assumindo-se que pode ter ocorrido algum problema no processo de extracção, como perda do ‘pellet’ de DNA, ou então que os crescimentos obtidos em placa poderiam não corresponder a fungos. Estas amostras acabaram por não ser identificadas.

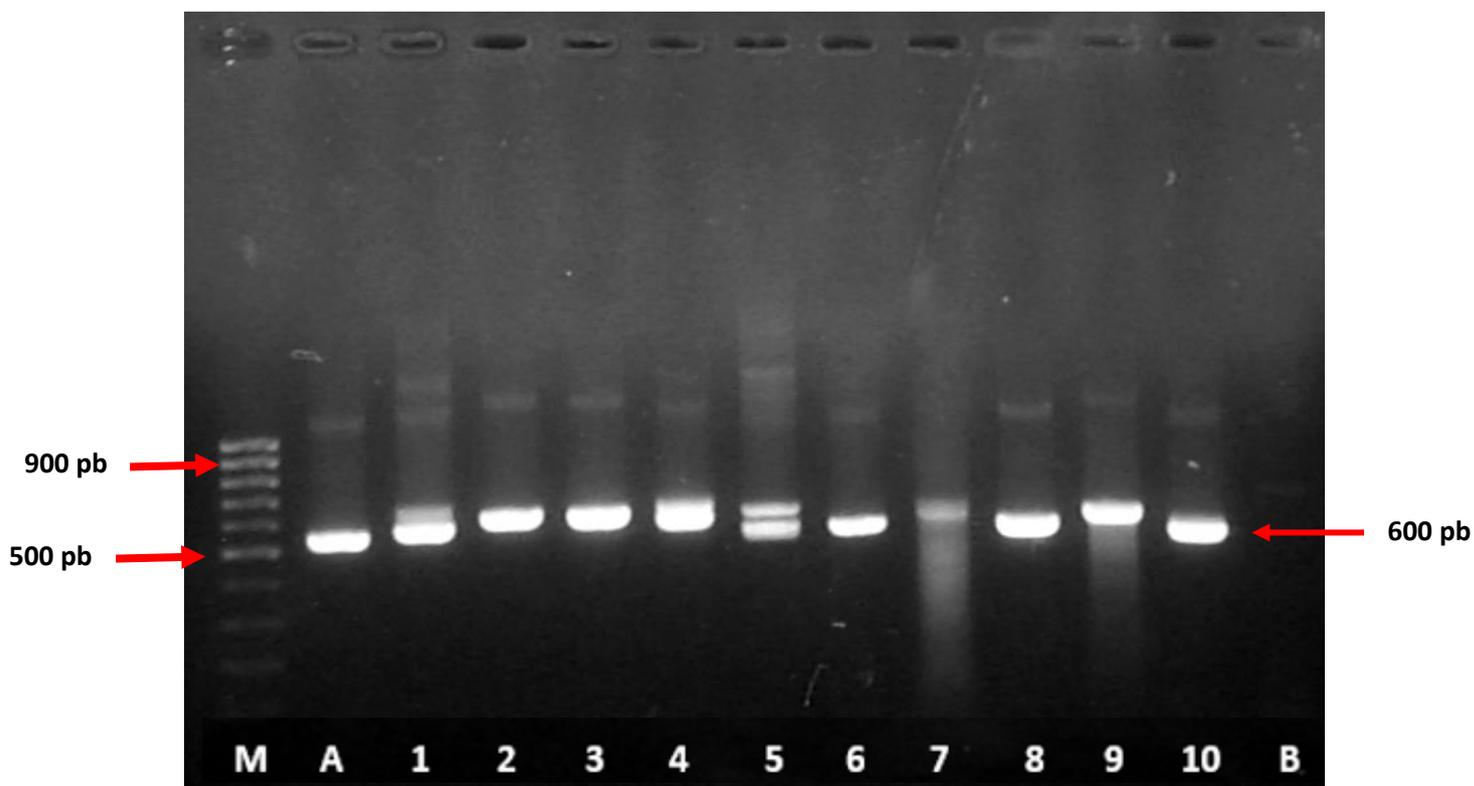


Figura 22 – Produtos obtidos por amplificação em PCR com os ‘primer’ ITS1 e ITS4, que amplificou uma porção do gene ITS. Os tamanhos das bandas correspondem aos 600 pb esperados estão indicados à direita. M- Marcador 100bp ‘DNA Ladder’ (Thermo Fisher). A – Controlo positivo; 1 a 10 – amostras de DNA isoladas neste trabalho; B – Controlo negativo de PCR.

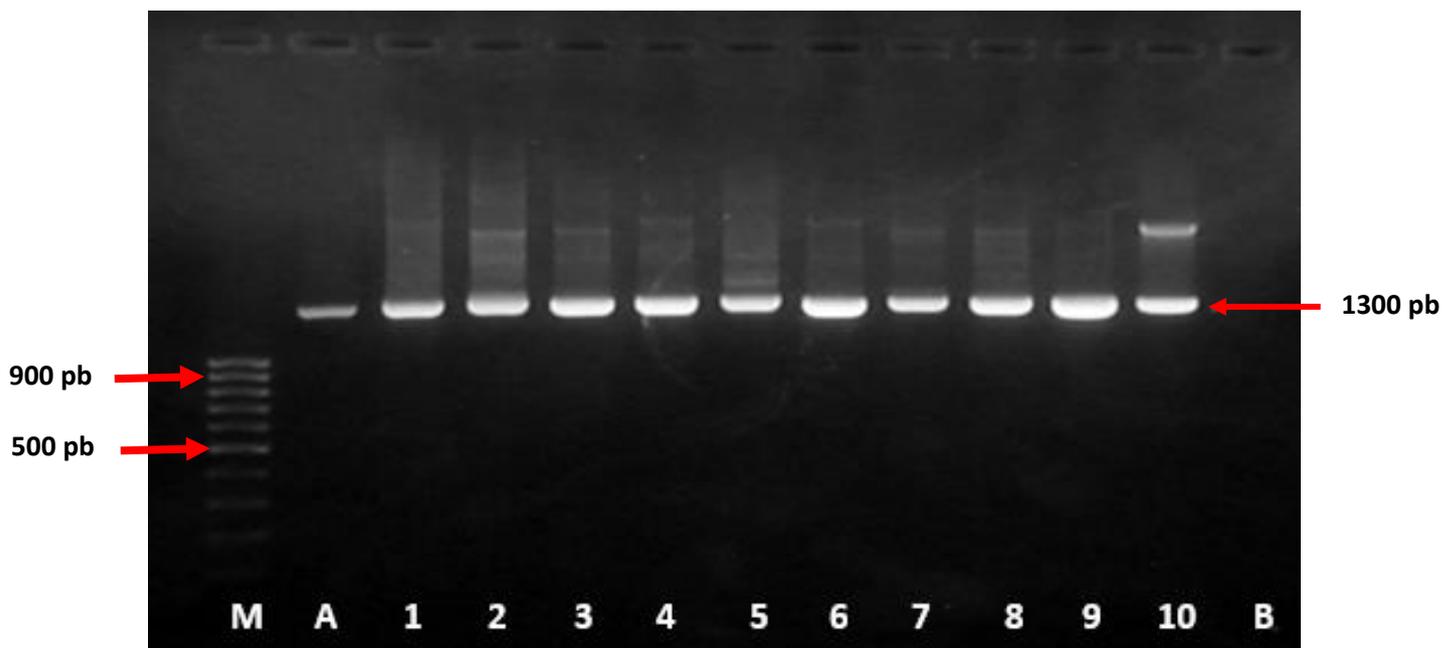


Figura 23 – Produtos obtidos por amplificação em PCR com os ‘primer’ Y1 e Y3, que amplificou uma porção do gene rRNA 16S bacteriano. Os tamanhos das bandas correspondem aos 1300 pb esperados estão indicados à direita. M- Marcador 100bp ‘DNA Ladder’ (Thermo Fisher). A – Controlo positivo; 1 a 10 – amostras de DNA isoladas neste trabalho; B – Controlo negativo de PCR.

As espécies de fungos identificadas molecularmente foram: *Trichoderma* sp., *Trichoderma viride*, *Umbelopsis isabellina*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. Ciceris, *Pestalotiopsis* sp., *Purpureocillium lilacinum*, *Cladosporium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Pilidium concavum*, *Penicillium* sp., *Penicillium daleae*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium oxalicum*, *Colletotrichum scoville*, *Pleospora herbarum*, *Xylogone sphaerospora*, *Botrytis cinerea*, *Filobasidium* sp., *Rhodotorula mucilaginosa* e *Aureobasidium pullulans*. No Anexo 3, podem ser observadas quais as espécies de fungos que foram isolados, das águas, dos substratos e das plantas sintomáticas.

Os fungos *Trichoderma* spp. são fungos antagonistas do solo, eficazes contra fungos que afectam a parte aérea das plantas, podendo afectar o seu crescimento positivamente (Agrios, 2013; Santos *et al.*, 2003). Estes fungos têm um rápido crescimento que parasita o micélio de outros fungos produzindo enzimas e antibióticos (Ubalua & Oti, 2007). A sua eficácia depende da planta, do substrato onde estas estão instaladas, da sua temperatura, do pH, e da presença de outros microorganismos. Estas espécies podem ser utilizadas no controle biológico de outras espécies como *Rhizoctonia*

solani, *Pythium ultimum*, *Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis*, *Thielaviopsis basicola*, *Alternaria alternata* e *Fusarium Oxysporum* (Howell, 2003)

Epicoccum nigrum é um fungo saprófita presente em órgãos mortos das plantas (Martini *et al.*, 2009). Esta espécie também pode ser utilizada no controlo biológico de patógenos como *Colletotrichum gloesporioides*, *Botrytis cinerea* e *Monilinia laxa*, sendo que o seu desempenho depende das condições climáticas (Pascual *et al.*, 2003). Outras espécies utilizadas como controlo biológico são *Rhodotorula mucilaginosa* e *Aureobasidium pullulans* que podem ser utilizadas nas doenças em pós-colheita como a *Botrytis cinera* e *Penicillium expansum* (Spadaro & Droby, 2016; Zhang *et al.*, 2014)

Fusarium oxysporum contém mais de 120 subespécies, consoante o hospedeiro que infecta (Agrios, 2013). O *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* tem como hospedeiro o grão-de-bico (Singh *et al.*, 2006). É um fungo do solo, responsável por doenças que causam a murchidão das plantas (Juber *et al.*, 2014). Em morangos, *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* está descrito como sendo o agente causal da fusariose (Almeida, 2014). Os principais sintomas é a secagem e a morte das folhas mais velhas, a redução da produção e os tecidos do interior da coroa apresentam-se alaranjados. Se o ataque for muito severo leva à morte da planta. É um patógeno difícil de controlar, uma vez que as suas estruturas reprodutivas podem permanecer no solo durante vários anos (Juber *et al.*, 2014).

As espécies do género *Cladosporium* são fungos mitosporicos (imperfeitos) que provocam várias doenças sendo uma delas a ‘Blossom blight’ no morangueiro, causada por *C. cladosporioides*. Os principais sintomas são as necroses nas flores, o aparecimento de micélio verde-acinzentado nas anteras mortas e o aparecimento de frutos deformados, que pode estar relacionado com a má polinização, resultante da infecção das anteras (Gubler *et al.*, 1999; Nam *et al.*, 2015)

Rhizoctonia solani é um fungo do solo (Agrios, 2013). Considerada uma doença da raiz no morangueiro, é responsável pela podridão da coroa (Lopes *et al.*, 2005). Os principais sintomas são o aparecimento de lesões castanhas escuras na raiz, morte da coroa, as folhas velhas apresentam zonas acinzentadas, as folhas novas enrolam-se devido ao micélio que se forma na página inferior e por último os frutos apresentam podridões (Lopes & Simões, 2006).

A espécie *Pestalotiopsis* sp. pode ser considerada um fungo saprófita ou pode ser considerado um patogénico (Jeewon *et al.*, 2003). São responsáveis por diversas doenças em diversas plantas, no morangueiro *Pestalotiopsis longisetula* causa lesões nos frutos (Jeewon *et al.*, 2006).

Existe uma grande variedade de fungos associados às podridões nos frutos em pós-colheita, sendo alguns deles o *Pilidium concavum*, *Botrytis cinerea*, descrita anteriormente, e os fungos do género *Penicillium* (Agrios, 2013; Costa, Ventura, & Lopes, 2011; A. Lopes & Simões, 2006).

O *Umbelopsis isabellina* é um fungo pertencente à ordem *Mucorales* que inclui o género *Rhizopus*. É um fungo oleaginoso, acumula lípidios em mais de 40% da sua biomassa. Os seus níveis de acumulação intracelular de triacilglicérido, a sua versatilidade na utilização de nutrientes e a sua alta taxa de crescimento faz com que cada vez sejam mais importantes como potenciais produtores de biocombustíveis e produtos químicos de alto valor (Takeda *et al.*, 2014). *Pleospora herbarum* é o agente causal da podridão mole no tomate (Agrios, 2013). O *Purpureocillium lilacinum* é um fungo do solo comum em todo o mundo (Johny *et al.*, 2012), também é considerado um fungo saprófita, podendo ser encontrado na matéria vegetal em decomposição (Khan *et al.*, 2012). Todos estes fungos, juntamente com *Umbelopsis isabellina*, *Xylogone sphaerospora* e *Filobasidium* sp não estão relacionados com nenhuma doença descrita até ao momento, para o morangueiro. A antracnose tem como agente causal fungos do género *Colletotrichum*, no entanto a espécie *Colletotrichum scovillie* não é dada como economicamente importante para a cultura do morangueiro (Agrios, 2013; Martinez-Culebras *et al.*, 2000).

As espécies de bactérias encontradas foram: *Pseudomonas* sp. *Pseudomonas putida*, *Pantoea agglomerans*, *Paenibacillus* sp. e *Dyella* sp. No Anexo 3, podem ser observadas quais as espécies de bactérias que foram isoladas, das águas, dos substratos e das plantas sintomáticas.

As espécies do género *Pseudomonas* são bactérias que estão presentes no solo ou em aquíferos e afectam maioritariamente plantas (Agrios, 2013). As *Pseudomonas* spp. pertencem a um grupo de bactérias colonizadores de rizosfera que podem ser utilizadas para aumentar o crescimento de plantas ou proteger estas de outros patogénios (Vestberg *et al.*, 2004).

Pantoea agglomerans, é uma bactéria que pode ser facilmente encontrada no solo e em plantas, e *Paenibacillus* spp. são espécies que têm sido estudadas para controlo biológico de doenças em pós-colheita (Donmez *et al.*, 2011; Francés *et al.*, 2006).

Por último *Dyella* sp. pode ser encontrada em plantas instaladas em solos com baixo pH (Hardoim *et al.*, 2012).

Tendo em conta a descrição de cada espécie encontrada no sistema, pode-se dividi-las em 2 grupos, as espécies que afectam o morangueiro e as espécies que podem ser utilizadas como controlo biológico de outros agentes patogénios (Quadro 6). Todas as outras espécies, como não têm relação com a planta do morangueiro não serão analisadas.

Quadro 6 - Lista de espécies que afectam o morangueiro e espécies que podem ser utilizadas como controlo biológico

Espécies que afectam o morangueiro	Espécies que podem ser utilizadas como controlo biológico
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Trichoderma</i> spp.
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Aureobasidium pullulans</i>
<i>Pilidium concavum</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>
<i>Penicillium</i> spp.	

Com a análise dos substratos e da água do furo é possível identificar a origem de cada espécie que foi encontrada no sistema ao longo do ensaio.

Na análise dos dois substratos foi possível verificar a presença no substrato 1 de *Trichoderma* spp., *Epicocum nigrum*, *Penicillium* spp., *Botrytis cinerea*, *Pseudomonas* spp. e *Pantoea agglomerans*, enquanto que no substrato 2, para além da *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Penicillium daleae* e *Pseudomonas* spp., foram encontradas outras espécies como *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*.

Segundo Beltrano & Gimenez (2015) um substrato deve estar livre de sementes, pragas e outros agentes patogénicos, o que não foi verificado nos substratos em estudo. Em relação às espécies de controlo biológico, por vezes, as empresas adicionam-nas aos

substratos, uma vez que não têm impactos negativos nas culturas, mas as espécies como *Penicillium* spp. *Botrytis cinerea*, *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*, que causam perdas económicas grandes, não deveriam estar presentes nos substratos.

Quanto à água do furo encontraram-se espécies descritas como sendo de controlo biológico como *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pseudomonas* spp. e espécies patogénicas como *Cladosporium cladosporioides* e *Rhizoctonia solani*. Na água do tanque, que é a água drenada de todos os tabuleiros foram encontradas espécies de controlo biológico como *Trichoderma* spp. e *Pantoea agglomerans*, e espécies associadas a doenças de pós-colheita como *Penicillium* spp..

Tendo em conta que o NGS é um sistema fechado, a propagação de doenças é facilitada e a sua infecção é mais eficiente (Agris, 2013; Gruda & Maher, 2006). Das águas recolhidas mensalmente dos dois substratos foi possível verificar a evolução das diferentes espécies encontradas nos substratos e na água do furo.

A *Trichoderma* spp., foi encontrada nas águas drenadas dos dois substratos em vários meses, à excepção do mês de dezembro no substrato 1 e no mês de fevereiro no substrato 2, isto pode ter acontecido pelo facto das amostras de água não terem quantidade suficiente de inoculo ou por durante as repicagens o fungo se ter perdido. Apesar disso assume-se que estas espécies estiveram sempre presentes no sistema, podendo-se atribuir que o inoculo teve origem nos substratos.

A *Rhodotorula mucilaginosa* também esteve presente durante todo o ensaio, à excepção das águas drenadas do substrato 1 nos meses de novembro, fevereiro e março, mas como foi encontrada no último mês, abril, assume-se que esteve sempre presente no sistema, embora só no final estivesse em quantidades detectáveis, atribuindo a sua origem à água do furo, apesar de na amostra de água do furo recolhida no final do ensaio, não ter sido encontrada esta espécie.

As espécies de *Pseudomonas* spp. e *Pantoea agglomerans*, foram encontradas em diversas águas drenadas dos dois substratos, assumindo que estas espécies estiveram sempre no sistema. A *Pseudomonas* spp. teve origem tanto na água do furo como nos dois substratos enquanto que *Pantoea agglomerans* teve origem no substrato 1.

A presença de *Fusarium oxysporum* foi observada em algumas das águas drenadas tanto do substrato 1 como do substrato 2. Como não foi observada a presença destas duas

espécies nos dois substratos analisados, presume-se que tenha origem nas plantas que vieram de viveiro, que já poderiam vir inoculadas com este fungo e que depois, através das suas raízes fosse libertado nos substratos e nas águas drenadas destes. No entanto, apesar de na amostra inicial da água do furo não ser encontrada esta espécie, na análise final observou a sua presença, podendo, na amostra inicial não conter inóculo suficiente ou durante o processo de purificação dos microorganismos este ter sido perdido.

Cladosporium cladosporioides, encontrado na água do furo esteve presentes nas águas drenadas dos dois substratos, à excepção do mês de março, mas como no mês seguinte, abril, e na amostra de água recolhida do tanque no final do ensaio foi verificada a presença deste fungo, pode-se assumir que esta espécie esteve sempre presente no sistema.

Em relação às espécies de *Penicillium*, pode-se assumir o mesmo, uma vez que se verifica a presença de várias espécies nas diversas colheitas efectuadas às águas drenadas dos dois substratos, o que leva a crer que a sua origem é dos substratos.

Além destas espécies, houve outras que apareceram em algumas das colheitas das águas drenadas. As espécies identificadas foram: *Pestalotiopsis* sp., *Rhizoctonia solani*, *Pilidium concavum* e *Aureobasidium pullulans*. Isto pode ter acontecido devido à pequena quantidade de inóculo existente ou à presença de espécies descritas de antagonistas como a *Trichoderma* spp. que é utilizada contra *Rhizoctonia solani* (Howell, 2003). No entanto, a presença destes antagonistas biológicos não foi eficiente para inibir a infecção por *Fusarium oxysporum* e *Penicillium* spp. que também estão descritos que podem ser controlados por *Trichoderma* spp., e *Rhodotorula mucilaginosa* (Howell, 2003; Vestberg *et al.*, 2004), e que foram detectadas sempre como presentes no sistema.

Para além da análise das águas drenadas foram acompanhados os sintomas das plantas. Apesar do patogénio *Botrytis cinerea*, nunca ter sido observada nas águas drenadas, foi observada a sua presença de micélio branco nas inflorescências e nos frutos maduros, sintoma típico do agente causal (Figura 24) (Agrios, 2013).



Figura 24 - Presença de micélio branco de *Botrytis cinerea* nas inflorescências (a) e nos morangos (b).

Durante o mês de fevereiro houve um grande aparecimento de flores com um aspecto queimado que deram depois a frutos deformados (Figura 25) e que pode estar associado à presença de *Cladosporium cladosporioides*, uma vez que se registaram temperaturas favoráveis e humidade relativa alta, condições favoráveis à proliferação deste patogénio (Agrios, 2013). Apesar disso os tratamentos foram feitos assumindo que os sintomas eram típicos de oídio, causado pelo fungo *Sphaerotheca macularis* f. sp *fragariae*, uma vez que inicialmente se observou micélio branco nas flores (Lopes & Simões, 2006), no entanto, este patogénio mesmo presente não foi identificado em laboratório. pelos métodos utilizados, uma vez que é um parasita obrigatório, não crescendo em meio de cultura artificial.



Figura 25 - Flor queimada (a) e posteriormente frutos deformados (b).

Por último foram analisadas as duas plantas mortas que apareceram no substrato 2. Foram analisadas as raízes, os caules e as folhas, se estas ainda existissem. As espécies patogénias encontradas foram: *Pestalotiopsis* sp, *Cladosporium cladosporioides* e *Penicillium* spp.. No entanto, foi encontrada a espécie *Colletotrichum scovillei* que apesar de não ter importância económica descrita, para a cultura do morango, é um dos agentes causais da antracnose, podendo ter sido o responsável pela morte das plantas, tendo ocorrido uma crise de transplantação e estas nunca terem conseguido adaptar-se ao sistema.

Apesar de não fazer parte do objectivo proposto para este estudo, durante as observações efectuadas à cultura pode constatar-se a presença de algumas pragas, como foi o caso de tripes (Anexo 4), mosca branca (*Trialeurodes vaporarorum*) (Anexo 5), aranhaço (*Tetranychus* spp) (Anexo 6) e a presença de roedores que depreciam os frutos, tornando-os não comercializáveis (Anexo 7).

4.2. pH

Na figura 26 e 27 apresentam-se os valores do pH da solução fornecida e drenada por cada substrato, às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h para o 1º período (entre 21 de dezembro a 23 de janeiro) e o 2º período (entre 20 fevereiro a 20 de março). A sua análise permite-nos verificar que, o pH da solução drenada nos dois períodos em estudo, nas diferentes horas de medição não foi influenciado pelo substrato.

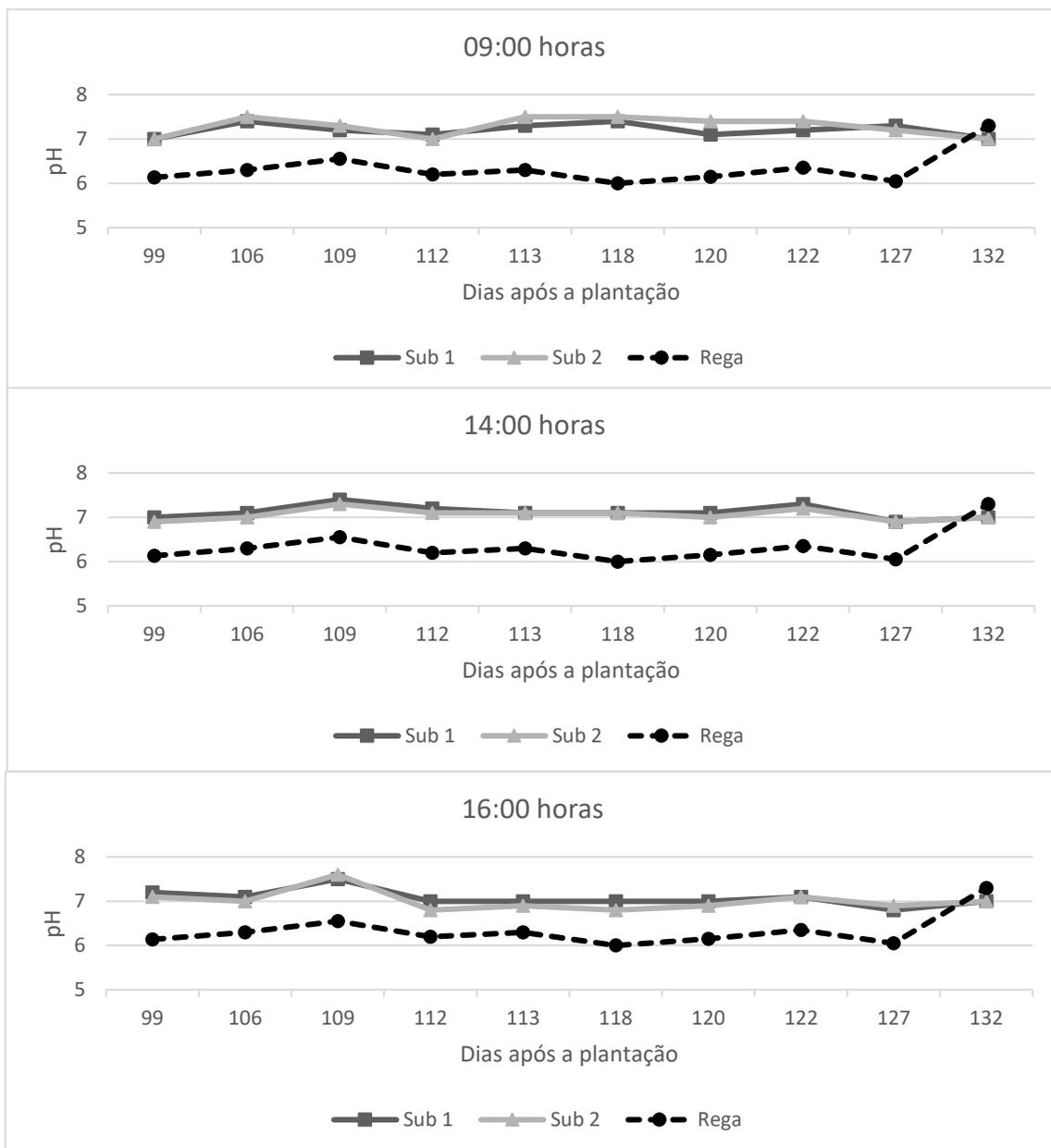


Figura 26 – pH da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (1º período)

O valor de pH da solução fornecida esteve dentro do intervalo recomendado para a cultura do morangueiro (5,5 e 6,5) (Giménez *et al.*, 2008). No primeiro período, entre os 99 e os 127 DAP (dias após plantação), o pH da solução fornecida variou entre 5,5 e 6,3. Aos 132 DAP o valor do pH foi superior (7,3) o que está relacionado com uma rega de lavagem que foi feita nesta data. Quando a CE da solução drenada era ≥ 2 mS/cm procedia-se a uma rega de lavagem. A rega de lavagem foi feita com a máquina desligada, os valores da solução fornecida são iguais à da solução dentro do tanque.

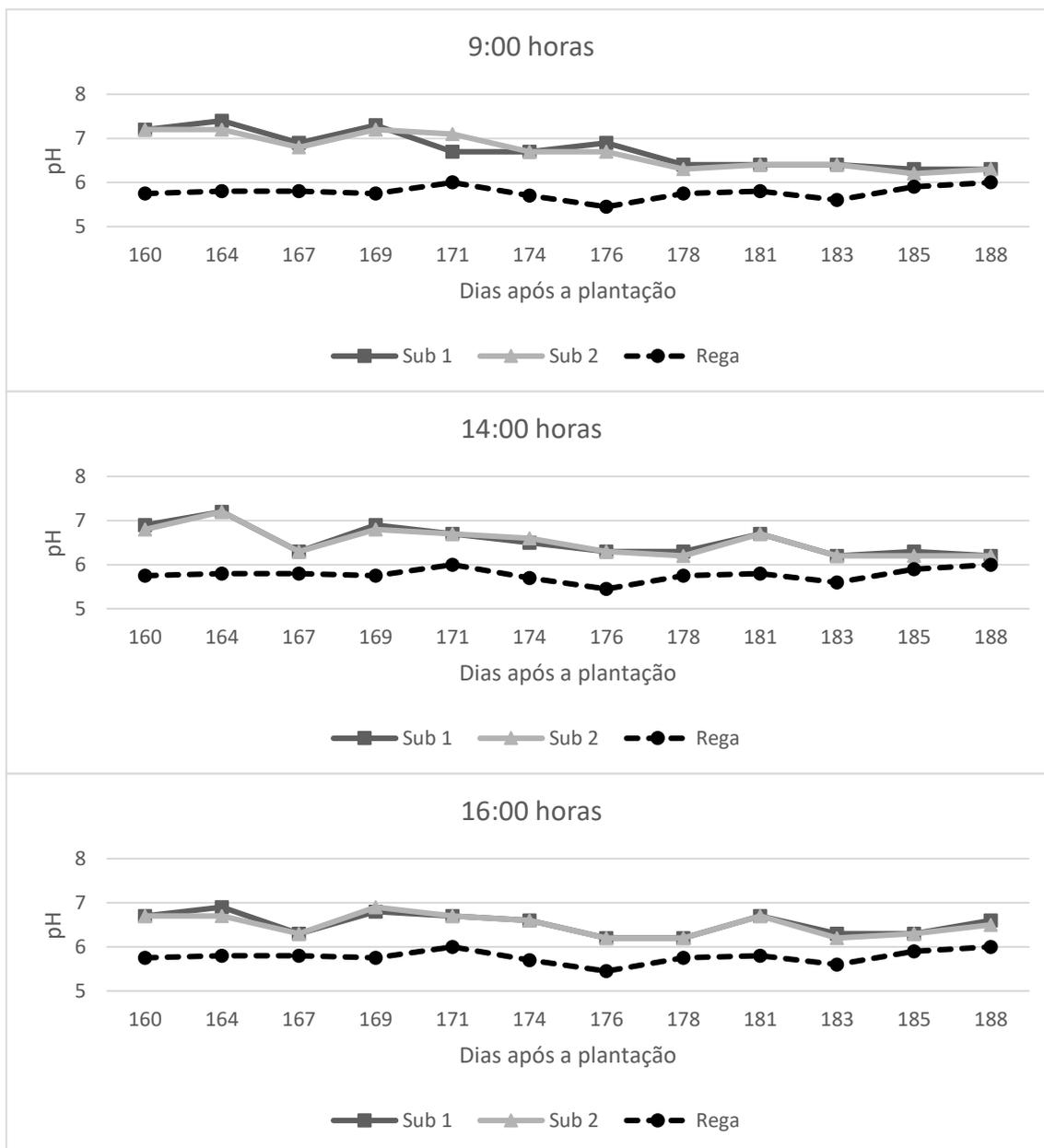


Figura 27 - pH da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (2º período)

No 2º período, entre os 160 e os 188 DAP, o valor pH da solução fornecida, também se manteve entre os valores pretendidos para a cultura do morangueiro, variando entre 5,5 e 6,0. Neste período foram feitas 3 regas de lavagem.

O pH da solução drenada em relação ao da solução fornecida aumentou, em ambos os períodos, o que pode estar relacionado com o facto de todo o azoto ter sido fornecido na forma nítrica, levando ao aumento da concentração do ião hidróxido (OH⁻) na solução drenada (Barcelos *et al.*, 2016; Marschner, 2012)

4.3. Condutividade Eléctrica (CE)

Na figura 28 e 29 apresentam-se os valores de CE da solução fornecida e drenada por cada substrato, às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h, nos dois períodos em estudo. Da sua análise, verifica-se que, à semelhança do pH, a CE da solução drenada nos dois períodos não foi influenciada pelo tipo de substrato, e a CE da solução fornecida e drenada ao longo dos dois períodos em estudo foi muito semelhante (Figura 23 e 24).

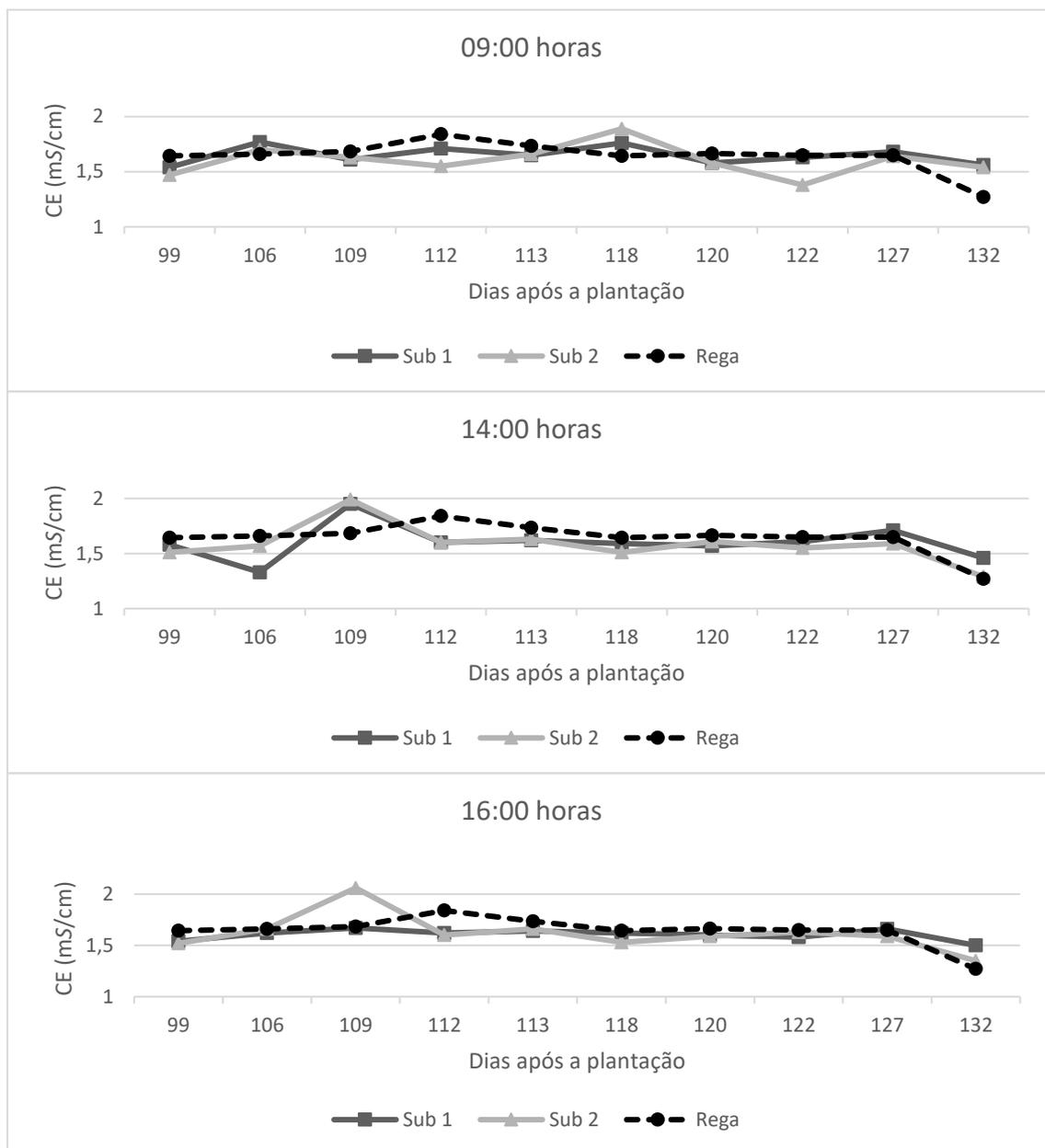


Figura 28 - CE da solução fornecida e da solução drenada por cada substrato às 9:00 h, às 14:00 h e às 16:00 h (1º período)

No 1º período, a CE da solução fornecida variou entre 1,64 e 1,84 mS/cm. Estes valores estão dentro dos recomendados por Giménez *et al.* (2008) para a cultura de morango em hidroponia (1,4 e 1,8 mS/cm). Aos 132 DAP o valor da CE baixou devido à rega de lavagem.

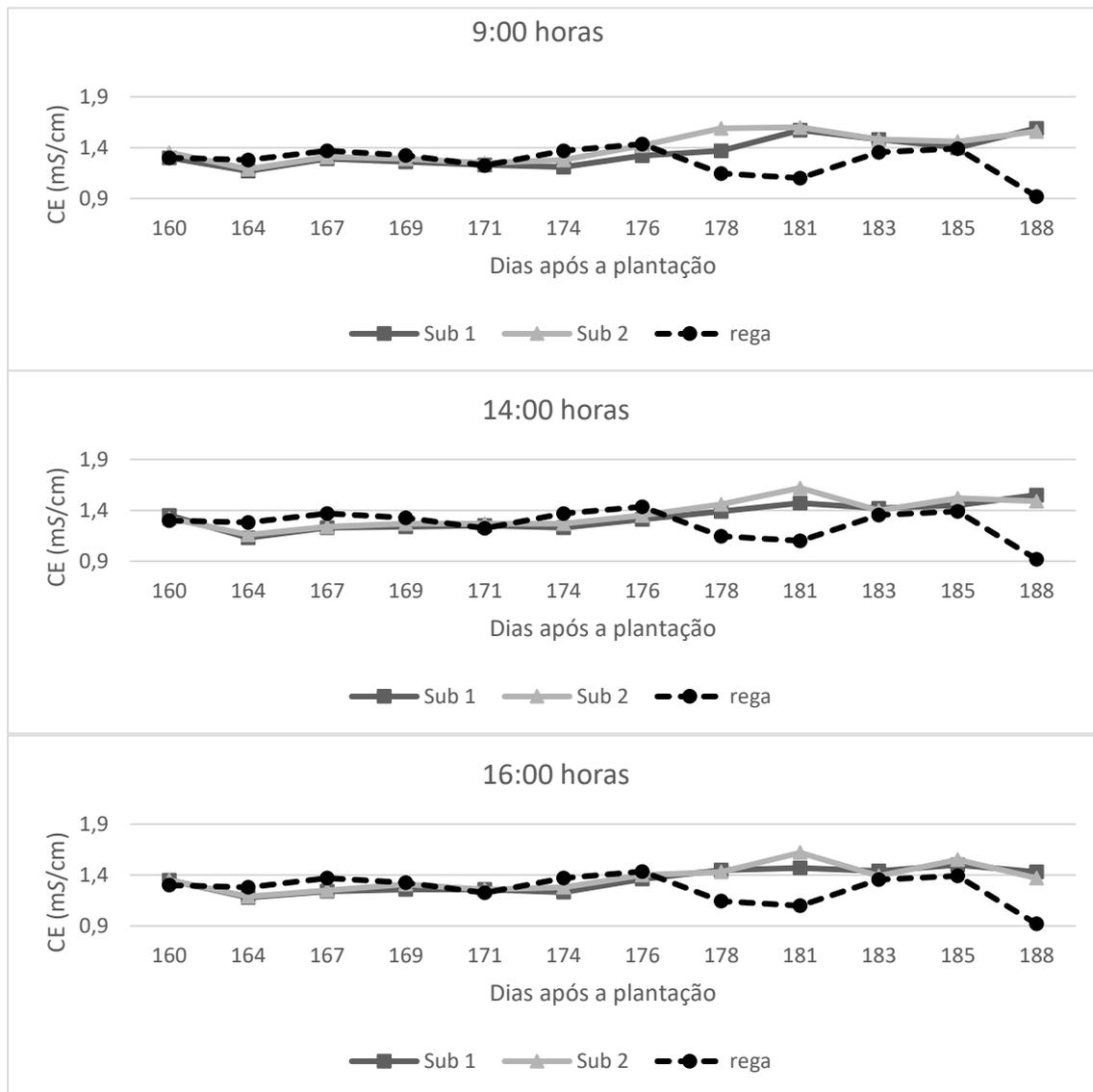


Figura 29 - CE da solução fornecida e da água drenada por cada substrato às 9:00h, às 14:00h e às 16:00h (2º período)

No 2º período, a CE da solução fornecida variou entre 1,23 e 1,44 mS/cm, valor abaixo do recomendado para a cultura de morangueiro, uma vez que a máquina foi programada para os 1,3 mS/cm. Neste período, como já foi referido, foram feitas 3 regas de lavagem (178, 181 e 188 DAP), em que a solução fornecida tinha valores próximos de 1 mS/cm. A CE da solução fornecida e drenada com exceção das datas em que foi feita lavagem, foi semelhante, o que é um indicador de uma frequência de rega adequada.

4.4. Produtividade e qualidade dos frutos

- Produtividade:

Seguidamente apresenta-se a produção total e comercial por planta nos dois períodos seleccionados.

- Produção total:

A análise do Quadro 7 permite-nos verificar que, o substrato não teve influência na produção total por planta, nas diferentes datas de colheita nem na produção total do 1º e do 2º período.

Quadro 7 - Influência do substrato na produção total

		Produção total (g/planta)				Prod. acumulada (g/planta)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	7,70	14,00	20,10	3,70	45,50
		2	7,10	7,60	16,40	3,50	34,60
		Sig.	NS	NS	NS	NS	NS
		161	176	183	188		
2º Período	Substrato	1	0,00	4,50	14,40	24,20	43,10
		2	0,00	1,50	10,40	11,80	23,70
		Sig.	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$);

○ Produção comercial

Relativamente à produção comercial, o tipo de substrato também não influenciou a produção nas diferentes datas de colheita nem a produção acumulada em ambos os períodos (Quadro 8).

Quadro 8 - Influência do substrato na produção comercial

		Produção comercial (g/planta)				Prod. acumulada (g/planta)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	7,70	10,50	16,40	2,40	37,00
		2	7,00	7,60	7,60	2,50	24,70
	Sig.	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		161	176	183	188		
2º Período	Substrato	1	0,00	2,20	7,70	13,20	23,10
		2	0,00	0,00	10,10	9,80	19,90
	Sig.	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$);

○ Produtividade total durante o ensaio

A análise da Figura 30 permite-nos constatar que a produção acumulada total e comercial ao longo do ensaio foi semelhante nos dois substratos.

A produção total e comercial por planta variou, respectivamente, entre 289,9 e 294,1 g, e 179,9 e 189,5 g, tendo a produção mais elevada ocorrido no substrato 1.

Em ensaios realizados por Cecatto *et al.* (2013) a produção total por planta na variedade San Andreas foi muito semelhante (301 g/planta) mas bastante inferior à obtida por Ruan *et al.* (2011) (587 g/planta). Em relação à produção comercial, esta foi inferior aos 266 g/planta e bastante inferior aos 451 g/planta, obtidos respectivamente por cada autor. Em morango, para a cultura ser rentável a produtividade deve ser aproximadamente de 300 g/planta (Oliveira & Scivittaro, 2011). Ainda que o rendimento da cultura seja influenciado pelo preço do mercado, o qual depende muito da época de produção. Os agricultores portugueses consideram um valor aproximado de 500 g/planta o mínimo, para a cultura ser rentável. Assim, constata-se que a produtividade obtida no ensaio foi

baixa. Para este comportamento pode ter contribuído o facto do ensaio ter decorrido apenas em duas épocas de produção, uma vez que a cultivar é indiferente ao fotoperíodo crítico, em vez de duas poderiam ter sido três épocas de produção, mas nunca chegaria à produção de 1,200 g/planta, independente da variedade, que Lazzarotto & Fioravanço (2007) consideram ser aceitável.

A análise da Figura 30 permite-nos ainda verificar que a produção aumentou no final do ensaio, a partir dos 193 DAP. Nos últimos 31 dias do período experimental, entre os 183 e os 214 DAP foi colhida mais de 57 % da produção comercial, o que poderá ser justificado pelo aumento da temperatura, com a chegada da primavera.

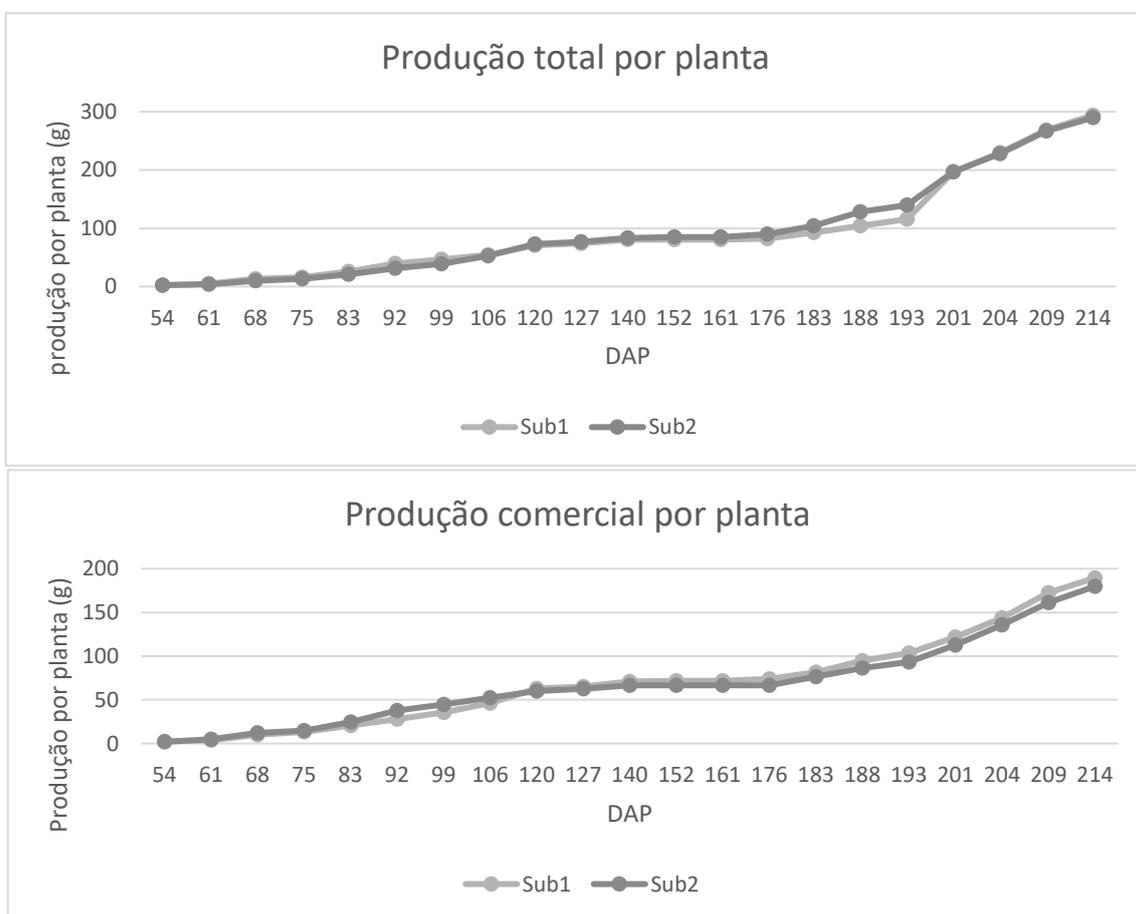


Figura 30 - Influência do substrato na produção total e comercial acumulada ao longo do ensaio

- Qualidade dos frutos

Para a qualidade dos frutos foi analisado o peso médio por fruto, o calibre (diâmetro longitudinal e transversal) e o teor de sólidos solúveis totais (°Brix). Seguidamente são apresentados os quadros com a análise estatística feita em SPSS para cada parâmetro.

- Peso do fruto:

No Quadro 9 é apresentado o peso médio dos frutos nos dois períodos, o qual não foi afectado pelo tipo de substrato. O peso médio por fruto no 1º período variou entre 16,67 e 38,5 g. No 2º período, o peso médio por fruto variou entre os 19,6 e os 44 g. O peso médio dos frutos no 1º e no 2º período variou respectivamente entre 24,73 e 25,42 g e 23,41 e 25,17 g. Estes valores são inferiores aos observados pelos obtentores da patente Shaw & Larson (2008) (31 g/fruto). Contudo, valores mais baixos foram observados por Miranda *et al.* (2014) e Almeida (2012), entre 10,12 e 22,72 g.

As diferenças encontradas podem estar relacionadas com as técnicas culturais e a época de produção e polinização, pois têm grande influência no peso médio dos frutos.

Quadro 9 - Influência do substrato no peso do fruto

		Peso do fruto (g)				Média (g)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	38,50	29,00	23,25	16,00	25,42
		2	30,33	28,50	24,67	16,67	24,73
	Sig:	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2º Período	Substrato	1	*	44,00	22,22	19,16	23,41
		2	*	*	23,50	26,83	25,17
	Sig:	*	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$); * - não houve frutos colhidos.

- Calibre (diâmetro longitudinal e transversal):
 - Diâmetro longitudinal

O diâmetro longitudinal não foi afectado pelo tipo de substrato (Quadro 10). O diâmetro longitudinal médio no 1º e no 2º período variou entre os 35,9 e os 36,4 mm e os 33,5 e 33,1 mm, respectivamente. Estes valores foram ligeiramente inferiores aos encontrados pelos obtentores da variedade Shaw & Larson (2008) (40 a 48 mm).

Quadro 10 - Influência do substrato no diâmetro longitudinal

		Diâmetro longitudinal (mm)				Média (mm)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	40,41	38,60	35,45	32,04	36,39
		2	37,79	35,59	37,65	32,42	35,86
	Sig:	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		161	176	183	188		
2º Período	Substrato	1	*	46,56	32,15	31,28	33,52
		2	*	*	33,63	32,63	33,13
	Sig:	*	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$); * - não houve frutos colhidos.

▪ Diâmetro transversal

O diâmetro transversal também não foi afectado pelo tipo de substrato (Quadro 11). O diâmetro médio no 1º e no 2º período variou entre os 43,0 e os 43,8 mm e os 48,4 e 50,5 mm, respectivamente. Estes valores também são inferiores aos mencionados na patente da variedade (46 a 68 mm) (Shaw & Larson, 2008). Contudo no segundo período os valores estiveram dentro do intervalo observado por Shaw & Larson (2008)

Quadro 11 - Influência do substrato no diâmetro transversal

		Diâmetro transversal (mm)				Média (mm)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	52,29	43,71	45,03	36,64	43,80
		2	53,27	42,05	40,94	35,92	43,04
	Sig:	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		161	176	183	188		
2º Período	Substrato	1	*	60,93	46,07	46,96	48,38
		2	*	*	50,96	50,11	50,54
	Sig:	*	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$); * - não houve frutos colhidos.

o Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)

A análise do quadro 12 permite verificar que, o tipo de substrato não afectou o teor de sólidos solúveis totais dos frutos (°Brix). O °Brix no 1º período variou entre 8,4 e 8,8. No 2º período os valores foram mais baixos variando entre os 5,3 e 6,6 °Brix. Esta redução pode estar relacionada com a diminuição da CE da solução nutritiva aplicada (1,3 mS/cm) e com as 3 regas de lavagem. A diminuição da CE da solução nutritiva, leva a perda de qualidade nos frutos, neste caso à diminuição do °Brix (Portela *et al.*, 2012; Sarooshi & Cresswell, 1994). Para a mesma cultivar Antunes *et al.* (2014), Cecatto *et al.* (2013) e Ruan *et al.* (2013) registaram valores entre 5,26 e 7,13 °Brix.

Quadro 12 - Influência do substrato no teor de sólidos solúveis totais (°Brix)

		Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)				Média (°Brix)	
		DAP					
		99	106	120	127		
1º Período	Substrato	1	10,25	9,43	7,20	9,17	8,81
		2	9,77	9,27	6,27	8,47	8,44
	Sig:	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2º Período	Substrato	1	*	8,50	7,20	5,75	6,64
		2	*	*	5,80	4,83	5,31
	Sig:	*	NS	NS	NS	NS	NS

NS – não significativo ($p > 0,05$); * - não houve frutos colhidos.

Conclusões

5. Conclusões

O estudo realizado vem mostrar que os resultados finais não dependeram dos substratos utilizados, como inicialmente se poderia esperar.

A análise à componente fitossanitária revelou um factor muito importante a ter em conta, aquando da instalação deste tipo de sistema e que tem a ver com a contaminação que os substratos possam ter com microorganismos fitopatogénicos. Neste caso concreto, ambos os substratos apresentavam a presença, não só de microorganismos benéficos, como *Trichoderma* spp, fungo utilizado no controlo biológico de organismos patogénios mas também se encontraram organismos fitopatogénicos como *Penicillium* spp. *Botrytis cinerea*, *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*. Verificou-se também que a água em circulação no sistema foi rapidamente contaminada com os diferentes microorganismos, o que permitiu a sua propagação por todo o sistema e conseqüente infecção das plantas de morangueiro. Este sistema fechado potência a proliferação e acumulação de microorganismos, pois a água é um veículo privilegiado de transporte de patogénios e neste caso nomeadamente de fungos e das suas estruturas de multiplicação como os esporos.

O pH e a CE da solução drenada, em dois períodos distintos do ciclo da cultura não foram afectados pelo tipo de substrato. O pH e a CE da solução de entrada mantiveram-se sempre dentro dos valores pretendidos (5,5 a 6,3 e 1,1 a 1,5 mS/cm, respectivamente). Em ambos os substratos, de um modo geral o pH da solução drenada foi superior ao da solução aplicada, o que pode estar relacionado com a forma de azoto aplicada (níttrica).

As produções totais e comerciais médias não foram afectadas pelo tipo de substrato e variaram entre 289,9 e 294,1 g, e 179,9 e 189,5 g, respectivamente. A produção total e a comercial foram inferiores às 500 g por planta, o que é considerado pelos produtores de morango um valor economicamente rentável.

Em relação à qualidade dos frutos, o peso médio por fruto, o calibre (diâmetro longitudinal e transversal) e o teor de sólidos solúveis também não foram afectados pelo tipo de substrato. O peso médio dos frutos variou entre 16,0 e 44,0 g e o calibre apresentou um diâmetro longitudinal entre 31,3 e 46,56 mm e o diâmetro transversal entre 35,92 e 60,93 mm. O teor de sólidos solúveis totais nos dois períodos de colheita variou entre 4,83 e 10,25. No 2º período do ensaio, entre 20 de fevereiro e 20 de março, os valores do

°Brix foram inferiores a 8,5 o que pode estar relacionado com a diminuição da CE da solução de rega.

Ainda que não se tenha alcançado a produtividade e a qualidade dos frutos desejada, o NGS funcionou, de um modo geral, adequadamente. Assim, seria interessante, dar continuidade a este estudo, verificando de que modo a composição da solução nutritiva, a reutilização da solução e o controlo de doenças em sistemas fechados podem contribuir para o aumento da produtividade e da qualidade dos morangos. Também seria interessante testar outros substratos, nomeadamente inertes, e experimentar a introdução no sistema, de fungos antagonistas de patógenos tais como *Trichoderma* spp. e *Epicoccum* spp.

Referências

6. Referências

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5ª Edição), Department of Plant Pathology. University of Florida, EUA. 992p
- Albano, S., Salvado, E., & Mexia, A. (2005). Polinização. In M. G. Palha. *Manual do Morangueiro* (pp. 99-108). INIAP/EAN, Lisboa;
- Almeida, D. (2003). *Horticultura sem solo*. Universidade do Porto. Obtido em Junho de 2017, de: <http://dalmeida.com/hortnet/apontamentos/hidroponia.htm> em Junho de 2017;
- Almeida, D. (2014). *Manual de Culturas Hortícolas* (2ª Edição., Volume II). (pp. 196-219). Lisboa: Editorial Presença;
- Almeida, L. (2012). *Qualidade de morango e framboesa – Efeito de diferentes práticas culturais, datas de colheita e estabilidade durante conservação sob congelação*. Dissertação de Mestrado apresentado ao Instituto superior de Agronomia, Universidade técnica de Lisboa, Lisboa;
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST an PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17), 3389-3402;
- Alves, G. (2016). *Trialeurods vaporiorum*. Obtido em Agosto de 2017, de: <http://www.defesavegetal.net/triava>;
- Antunes, M. C., Cuquel, F. L., Zawadneak, M. A., Mogos, Á. F., & Resende, J. T. (2014). Postharvest quality of strawberry produced during two consecutive seasons. *Horticultura Brasileira*, 32 (2), 168-173;
- Barcelos, C. (2016). *Influência do substrato no crescimento de espinafres (Spinacia oleracea L.)*. Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de fitotecnia da Universidade de Évora;
- Barcelos, C., Machado, R. M. A., Alves-Pereira, I., Ferreira, R., Bryla, D. R. (2016). Effects of substrate type on plant growth and nitrogen and nitrate concentration in spinach. *International Journal of Plant Biology*. 7(6325), 44-47;

- Beltrano, J., & Gimenez, D. O. (2015). Cultivo en hidroponía. Universidad Nacional de La Plata. Obtido de:
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46752/Documento_completo.pdf?sequence=1;
- Bolda, M., & Koike, S. (2013). Verticillium wilt in strawberreries. Agriculture and Natural Resouces, University of California. California, USA:. Obtido de:
<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=10993>;
- Bolda, M., Koike, S., & Daugovish, O. (2016). A Review on Anthracnose Disease Caused By Colletotrichum acutatum in Stawberry. Agriculture and Natural Resources, University of California. Obtido em Maio de 2017 de:
<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=20250> em Maio de 2017;
- Branzanti, E. C. (1989). La fresa. Madrid: Mundi-prensa, 386p
- Caço, J. (2010). Substratos para culturas sem solo, Hidroponia. Hubel Verde – Grupo Hubel. Obtido de: <http://www.hubel.pt/artec/detalhes.php?id=24&empresa=21>;
- Campo, J. (2007). Ocorrência dos diversos inimigos das culturas de morangueiro e de framboesa. INIAV. Obtido de:
http://www.iniaiv.pt/fotos/gca/5_ocorrenca_de_diversos_inimigos_das_1369136360....pdf;
- Carvalho, M. de. (1988). A Estatística Aplicada à Experimentação Agrícola. Edições Afrontamento, 292p;
- Cecatto, A. P., Calvete, E. O., Nienow, A. A., Costa, R. C. Da, Mendonça, H. F. C., & Pazzinato, A. C. (2013). Culture systems in the production and quality of strawberry cultivars. Acta Scientiarum. Agronomy, 35(4), 471-478;
- Chaves, J. A. S. (1992). Inimigos das culturas (2ª Edição). Ministério da Agricultura, Lisboa. 507p
- Costa, H., Ventura, J. A., & Lopes, U. P. (2011). Doenças em pós-colheita de morango na região serrana do Espírito Santo. Horticultura Brasileira, 29(2), S5856-S5877;
- Darrow, G. M. (1966). The Strawberry – History, Breeding and Physiology. The New Englad Institute for Medical Research, Canada;

- Depardieu, C., Prémont, V., Boily, C., & Caron, J. (2016). Sawdust and bark-based substrates for soilless strawberry production: Irrigation and electrical conductivity management. *PLOS ONE*, 11(4), 1-20;
- Donmez, M. F., Esitken, A. Yildiz, H., & Ercisli, S. (2011). Biocontrol of *Botrytis cinerea* on strawberry fruit by plant growth promoting bacteria. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21(4), 758–763;
- Doyle J, Doyle J, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19, 11-15.
- Ellis, M. A., & Erincik, O. (2008). Anthracnose of Strawberry. The Ohio State University, Department of Plant Pathology: Agriculture and Natural Resources;
- Ferreira, M. dos A., Valério, E., Cecílio, A., Nunes, A. P., Andrade, C. S., Figueiredo, E., & Mateus, C. (2005). Protecção fitossanitária no ambito da protecção integrada - Pragas. In M. da G. Palha, *Manual do Morangueiro* (pp. 29-61). INIAP/EAN, Lisboa;
- Forney, C. F., Kalt, W., & Jordas, M. A. (2000). The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. *HortScience*, 35(6), 1022–1026;
- Francés, J., Bonaterra, A., Moreno, M. C., Cabrefiga, J., Badosa, E., & Montesinos, E. (2006). Pathogen aggressiveness and postharvest biocontrol efficiency in *Pantoea agglomerans*. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 299–307;
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9–19;
- Giménez, G., Andriolo, J., & Godoi, R. (2008). Cultivo sem solo do morangueiro. *Ciência Rural*, 28, 273–279;
- Grubinger, V. (2012). History of Strawberry. *Cultivating Healthy Communities Extension*. Obtido em Março de 2017 de: <https://www.uvm.edu/vtveganberry/factsheets/strawberryhistory.html>;
- Gruda, N., & Maher, M. J. (2006). Soil-less Culture. *Encyclopedia of Soil Science* (pp. 1644–1647). Obtido de <https://doi.org/10.1081/E-ESS-120028194>;

- Gubler, W. D., Feliciano, C. J., Bordas, A. C., Civerolo, E. L., Melvin, J. A., & Welch, N. C. (1999). *X. fragariae* and *C. cladosporioides* cause strawberry blossom blight. *California Agriculture*, 53(4), 26–28;
- Hall, T. (2011). BioEdit: An important software for molecular biology. *Bulletin of Biosciences*, 2(1), 60–61;
- Hancock, J. F. (1999). *Strawberries*. New York: CABI;
- Hardoim, P. R., Hardoim, C. C. P., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2012). Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS ONE*, 7(2);
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms Employed by Trichoderma Species in the Biological Control of Plant Diseases : *Plant Disease*, 87(1), 4–10;
- Jeewon, R., Liew, E. C. Y., & Hyde, K. D. (2006). Phylogenetic evaluation of species nomenclature *Pestalotiopsis* in relation to host association of. *Fungal Diversity*, 17(October 2004), 39–55;
- Jeewon, R., Liew, E. C. Y., Simpson, J. A., Hodgkiss, I. J., & Hyde, K. D. (2003). Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *pestalotiopsis* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27(3), 372–383;
- Johny, S., Kyei-Poku, G., Gauthier, D., & Frankenhuyzen, K. (2012). Isolation and characterisation of *Isaria farinosa* and *Purpureocillium lilacinum* associated with emerald ash borer, *Agrilus planipennis* in Canada. *Biocontrol Science and Technology*, 22(6), 723–732;
- Juber, K. S., Al-juboory, H. H., & Juboory, S. B. A.-. (2014). Fusarium wilt disease of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* in Iraq and its control. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2(2320), 420–427;
- Khan, Z., Ahmad, S., Al-Ghimlas, F., Al-Mutairi, S., Joseph, L., Chandy, R., Sutton, D. A., Guarro, J. (2012). *Purpureocillium lilacinum* as a cause of cavitory pulmonary disease: A new clinical presentation and observations on atypical morphologic characteristics of the isolate. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(5), 1800–1804;
- Laranjo, M., Machado, J., Young, J. P. W., & Oliveira, S. (2004). High diversity of chickpea *Mesorhizobium* species isolated in a Portuguese agricultural region.

Microbiology Ecology, 48, 101–107;

Lazzarotto, J. J., & Fioravanço, J. C. (2007). Estudo de caso da eficiência econômica e viabilidade financeira da produção de morango em sistema semi-hidropônico.

Bento Gonçalves: Embrapa - Uva e Vinho, 24

Lopes, A., & Simões, A. M. (2006). Produção integrada em hortícolas: Família Das Rosáceas – Morangueiro. DGPC: Direcção geral de protecção das culturas, Oeiras;

Lopes, M. C., Andrade, C. S., Nunes, A. P., & Palha, M. da G. (2005). Protecção fitossanitária no âmbito da protecção integrada – Doenças. In M. da G. Palha, Manual do Morangueiro (pp. 63-98). INIAP/EAN, Lisboa;

Lows, F., Ridge, G., & Harrison, J. (2014). Anthracnose Fruit Rot of Strawberry. North Carolina State University. Obtido de https://content.ces.ncsu.edu/anthracnose-fruit-rot-of-strawberry#section_heading_323;

Madeiras, A. (2016). Strawberry Anthracnose. The Center for Agriculture, Food, and the Environment. Obtido de <https://ag.umass.edu/fruit/fact-sheets/strawberry-anthracnose>;

Marschner, H. (2012). Mineral nutrition of higher plants (2ª Edição). Academic Press, San Diego;

Martínez-Culebras, P. V., Barrio, E., García, M. D., & Querol, A. (2000). Identification of Colletotrichum species responsible for anthracnose of strawberry based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region. FEMS Microbiology Letters, 189(November 2015), 97–101;

Martínez, P.-F., & Roca, D. (2011). Sustratos para el cultivo sin suelo. Materiales, propiedades y manejo. Sustratos, manejo del clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo. December 2011, 37-77;

Martini, M., Musetti, R., Grisan, S., Polizzotto, R., Borselli, S., Pavan, F., & Osler, R. (2009). DNA-Dependent Detection of the Grapevine Fungal Endophytes *Aureobasidium pullulans* and *Epicoccum nigrum*. Plant Disease, 93(10), 993–998;

Miranda, F. R. de, Silva, V. B. da, Santos, F. S. R. dos, Rossetti, A. G., & Silva, C. de F. B. da. (2014). Production of strawberry cultivars in closed hydroponic systems and coconut fibre substrate. Revista Ciência Agronômica, 45, 833–841;

Morangoeste. (sem data). Morangoeste. Obtido em Janeiro de 2017 de:

<http://www.morangoeste.com/morango-variedades/item/102-camarosa.html>;

Nam, M. H., Park, M. S., Kim, H. S., Kim, T. Il, & Kim, H. G. (2015). Cladosporium cladosporioides and C. tenuissimum cause blossom blight in strawberry in Korea. *Mycobiology*, 43(3), 354–359;

New Growing System S.L. (2014a). Advantages of working with NGS. Obtido em Maio de 2017 de: <http://ngsystem.com/en/ngs/ventajas>;

New Growing System S.L. (2014b). Descripción Sistema NGS. Obtido em Abril de 2017 de: <http://ngsystem.com/es/ngs/descripcion>;

New Growing System S.L. (2014c). New Growing System - Produccion de fresa en hidroponia recirculante. Obtido em Abril de 2017 de: <http://ngsystem.com/es>;

Oliveira, R. P. De, & Scivittaro, W. B. (2011). Agronomic Performance of Strawberry Cultivars. *Scientia Agraria*, 12(2), 69–74;

OMAIAA. (2011). A Produção e Comercialização do Morango em Portugal.

Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares.

Obtido em Abril de 2017 de

http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=104;

Otto, R. F., Morakami, R. K., Reghin, M. Y., & Caíres, E. F. (2009). Cultivares de morango de dia neutro : produção em função de doses de nitrogênio durante o verão. *Horticultura Brasileira*, 27(2001), 217–221;

PaDIL. (sem data). Strawberry Angular Leaf Spot (*Xanthomonas fragariae*). Obtido em

Maio de 2017 de: <http://pbt.padil.gov.au/pbt/index.php?q=node/20&pbtID=103>;

Palha, M. da G. (2005). A Planta do Morangueiro. In M. G. Palha, *Manual do Morangueiro* (pp. 3–6). INIAP/EAN, Lisboa;

Paranjpe, A. V., Cantlife, D. J., Lamb, E. M., Stoffella, P. J., & Powell, C. (2003).

Winter Strawberry Production in Greenhouses Using Soilless Substrates: an Alternative To Methyl Bromide Soil Fumigation. *Proc. Fla. State Hort. Soc. Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 116, 98–105;

Paraskevopoulou-Paroussi, G., Grafiadellis, M., & Paroussis, E. (1995). Precocity, plant

- productivity and fruit quality os strawberry plants grown in soil and soilless culture. *Acta Horticulturae*, 408, 109–117;
- Pascual, S., Melgarejo, P., & Magan, N. (2003). Water availability affects the growth, accumulation of compatible solutes and the viability of the biocontrol agent *Epicoccum nigrum*. *Mycopathologia*, 156(2), 93–100;
- Paulus, A. O. (1990). Fungal Diseases of strawberry. *HortScience*, 25(8), 885–889;
- Porras, M., Barran, C., Arroyo, F. T., Santos, B., Blanco, C., & Romero, F. (2007). Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and soil solarization. *Plant Disease*, 91(2), 142–146;
- Portela, I. P., Peil, R. M., & Rombaldi, C. V. (2012). Efeito da concentração de nutrientes no crescimento, produtividade e qualidade de morangos em hidroponia. *Horticultura Brasileira*, 30(2), 266–273;
- Quintero, M. F., González, C. A., & Guzmán, J. M. (2011). Sustratos para cultivos horticolas y flores de corte. In V. Flórez R., Sustratos, manejo del clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo, (pp. 79–108). Universidad Nacional de Colombia, Bogota;
- Reis, M. (2003). Novas tecnologias em horticultura : cultura sem solo e controlo ambiental. Livro de Programa de Resumos das “Jornadas da V Semana Agrícola”, 7 a 10 de Abril, organizadas pelo núcleo da IAAS da Universidade de Trás-os-Montes e Alto-Douro, (pp. 52-57);
- Rigotti, M. (sem data). Controle alternativo de pulgões. Obtido em Junho de 2017 de: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=24474&secao=Sanidade%20Vegetal>;
- Risser, G., & Navatel, J. C. (1997). La Fraise - Plant et Variétés. C.tecchenique interprofessionnel des fruits et Légumes, Paris;
- Rivard, C. (2007, Maio). *Phytophthora cactorum*. Department of plant pathology, North Carolina state University. Obtido de <https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/cactorum/Pcactorum.html>;
- Roberts, P. D., Berger, R. D., Jones, J. B., Chandler, C. K., & Stall, R. E. (1997). Disease progress, yield loss, and control of *Xanthomonas fragariae* on strawberry

- plants. *Plant Disease*, 81(8), 917–921;
- Ruan, J., Lee, Y. H., Hong, S. J., & Yeoung, Y. R. (2013). Sugar and organic acid contents of day-neutral and ever-bearing strawberry cultivars in high-elevation for summer and autumn fruit production in Korea. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 54(3), 214–222;
- Ruan, J., Yeoung, Y. R., & Larson, K. D. (2011). Influence of cultivar, planting date, and planting material on yield of day-neutral strawberry cultivars in highland areas of Korea. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 52(6), 567–575;
- Sáez, J. N. P. (1999). Use of Growing Mediums in the Nursery Production. *Terra Latinoamericana*, 17(3), 231–235;
- Santos, B. de los, Barrau, C., Blanco, C., Arrayo, F., Porrás, M., Medina, J. J., & Romero, F. (2003). Relationship between Trichoderma Soil Populations and Strawberry Fruit Production in Previously. *HortScience*, 38(7), 1400–1402;
- Santos, F. (2016). Sistemas oscilantes. Obtido em Junho de 2017 de: http://www.litoralregas.com/crbst_32_m.html;
- Sarooshi, R. A., & Cresswell, G. C. (1994). Effects of hydroponic solution composition, electrical conductivity and plant spacing on yield and quality of strawberries. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 34(4), 529–535;
- Shaw, D. V., & Larson, K. D. (2008). Strawberry Plant Named ‘San Andreas’ (Patent No. US PP19,975 P2). United States of America;
- Singh, B. P., Saikia, R., Yadav, M., Singh, R., Chauhan, V. S., & Arora, D. K. (2006). Molecular Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing wilt of chickpea. *African Journal of Biotechnology*, 5(6), 497–502;
- Soria, C. B., & Olivert, J. M. A. (2002). Cultivo sin suelo de hortalizas: aspectos prácticos y experiencias. Generalitat Valenciana, Valencia (España);
- Sousa, M. B. S. e, & Curado, T. de F. (2005). Colheita, Pós-colheita, Conservação e Qualidade. In M. G. Palha. *Manual do Morangueiro* (107-119). INIAP/EAN, Lisboa;
- Spadaro, D., & Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest

- diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science and Technology*, 47, 39–49;
- Syngenta. (2017a). Acaros em morangueiro. Retirado de <https://www.syngenta.pt/acaros-em-morangueiro> em Agosto de 2017;
- Syngenta. (2017b). Oídio em Morangueiro. Obtido em Maio de 2017 de: <https://www.syngenta.pt/oidio-em-morangueiro>;
- Syngenta. (2017c). Podridão cinzenta em morangueiro. Obtido em Maio de 2017 de: <https://www.syngenta.pt/podridao-cinzenta-em-morangueiro>;
- Takeda, I., Tamano, K., Yamane, N., Ishii, T., Miura, A., Umemura, M., ... Machida, H. K. M. (2014). Genome sequence of the Mucoromycotina fungus *Umbelopsis isabellina*, an effective producer of lipids. *Genome announcements*, 2(1), 1–2;
- Treftz, C., & Omaye, S. T. (2015). Nutrient Analysis of Soil and Soilless Strawberries and Raspberries Grown in a Greenhouse. *Food and Nutrition Sciences*, 6(June), 805–815;
- Turechek, B., & Heidenreich, C. (2012). Strawberry Anthracnose. *University of Kentucky*, 6. Obtido de <http://www.fruit.cornell.edu/tfabp/strawanthracnose.pdf>;
- Ubalua, A. O., & Oti, E. (2007). Antagonistic properties of *Trichoderma viride* on post harvest cassava root rot pathogens. *African Journal of Biotechnology*, 6(21), 2447–2450;
- Urrestarazu, M. (2013). State of the art and new trends of soilless culture in Spain and in emerging countries. *Acta Horticulturae*, 1013(November 2016), 305–312;
- Verma, V., Gond, S., Kumar, A., Kharwar, R., Strobel, G. (2007). The endophytic mycoflora of bark, leaf, and stem tissues of *Azadirachta indica* A. Juss. (neem) from Varanasi (India). *Microb. Ecol.* 54 (1), 119–125.
- Vestberg, M., Kukkonen, S., Saari, K., Parikka, P., Huttunen, J., Tainio, L., Weekers, F., Kevers, C., Thonart, P., Lemoine, M. -C., Cordier, C., Alabouvette, C., Gianinazzi, S. (2004). Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology*, 27(3), 243–258;
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct

sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR - Protocols and Applications - A Laboratory Manual (pp. 315–322). Academic Press;

Young, J. P. W., Downer, H. L., & Eardly, B. D. (1991). Phylogeny of the Phototrophic Rhizobium Strain BTail by Polymerase Chain Reaction-Based Sequencing of a 16S rRNA Gene Segment, *173*(7), 2271–2277;

Yuen, G. Y. (1991). Effects of soil fumigation with methyl bromide and chloropicrin on root health and yield of strawberry. *Plant Disease*, *75*(4), 416–420;

Zhang, H., Ge, L., Chen, K., Zhao, L., & Zhang, X. (2014). Enhanced biocontrol activity of *rhodotorula mucilaginosa* cultured in media containing chitosan against postharvest diseases in strawberries: Possible mechanisms underlying the effect. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(18), 4214–4224.

Anexos

7. Anexos

Anexo 1 - Controlo do pH e da CE. Tanque 1 – Nitrato de Cálcio; Tanque 2 – Nitrato de Potássio e microser; Tanque 3 – Fosfato monopotássico e quelato de ferro 6%; Tanque 4 – Sulfato de potássio e sulfato de magnésio; Ácido – Ácido nítrico.



Anexo 2 - Concentração dos nutrientes nos fertilizantes (% p/p)

Adubos a fornecer	N	P₂O₅	K₂O	CaO	MgO	SO₃	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
Nitrato de cálcio	15,5			27								
Nitrato de potássio	13,5		46									
Sulfato de magnésio					16	13						
Fosfato monopotássico		52	34									
Sulfato de potássio			50			45						
Microser							0,7	0,5	7,5	3,3	0,2	0,6
Quelato de ferro									6			
Quelato de boro							21					
Ácido nítrico	55											

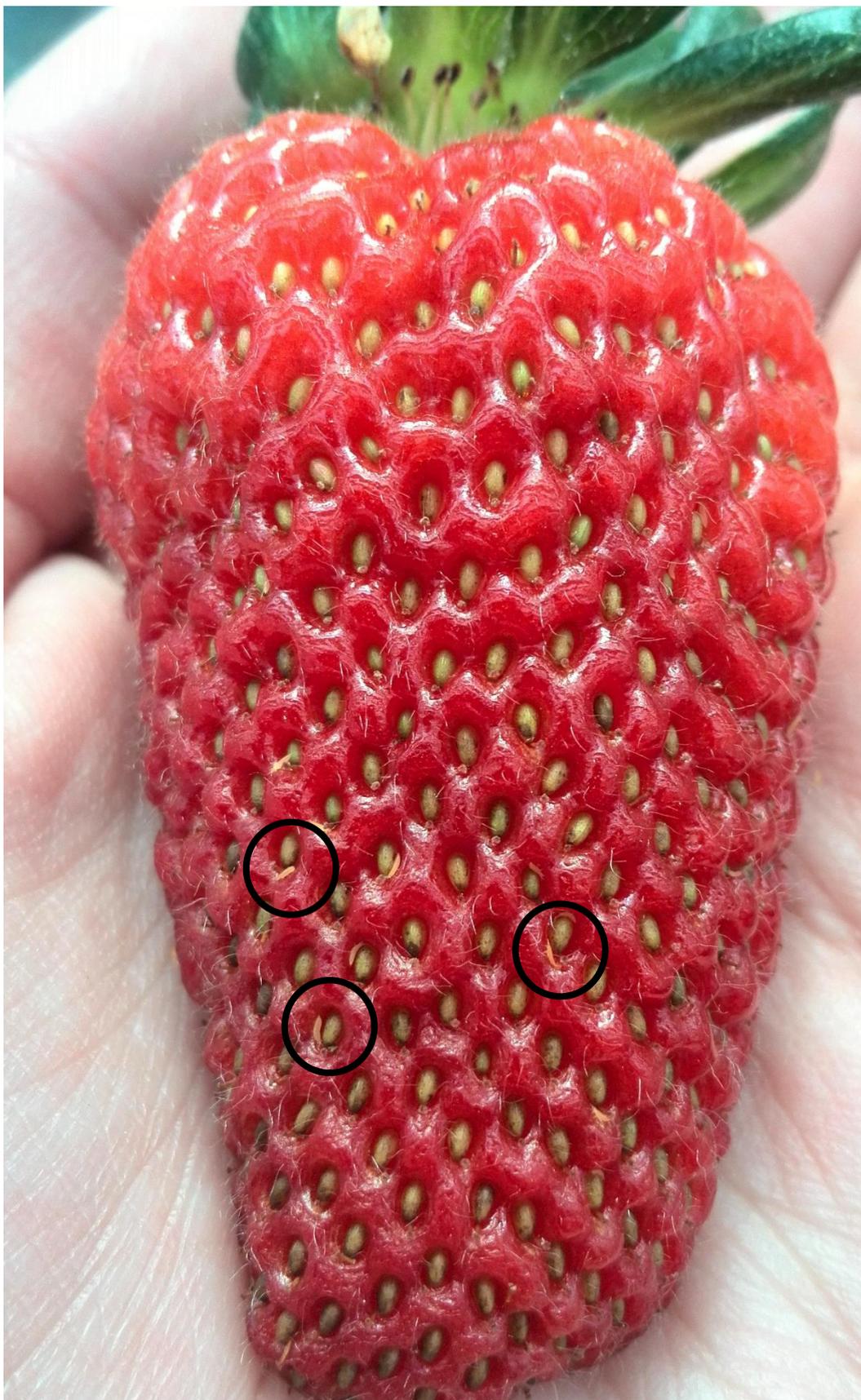
Anexo 3 - Espécies encontradas na água do furo e do tanque, nos dois substratos e nas diferentes águas drenadas

	Água tanque	Água furo	Sub 1	Sub 2	Nov Sub1	Nov Sub2	Dez Sub1	Dez Sub2	Jan Sub1	Jan Sub2	Fev Sub1	Fev Sub2	Mar Sub1	Mar Sub2	Abr Sub1	Abr Sub2	Aguatantque F.	Água furo F.	P1;Sub2; folhas	P1;Sub2; caule	P1;Sub2; raiz	P2;Sub2; raiz	P2;Sub2; caule
<i>Trichoderma sp.</i>	X		X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X				X	X	X
<i>Trichoderma viride</i>	X						X	X	X		X				X							X	X
<i>Umbelopsis isabellina</i>														X									
<i>Epicoccum nigrum</i>			X																X			X	
<i>Fusarium oxysporum</i>												X	X					X					
<i>Fusarium oxysporum f. sp. Ciceris</i>			X									X	X	X		X		X1					
<i>Pestalotiopsis sp.</i>				X			X													X			
<i>Purpureocillium lilacinum</i>		X										X										X	
<i>Cladosporium sp.</i>		X								X		X			X				X	X			
<i>Cladosporium cladosporioides</i>		X		X		X	X	X	X	X	X	X			X	X	X		X	X	X		
<i>Rhizoctonia solani</i>		X								X													
<i>Pilidium concavum</i>						X																	
<i>Penicillium sp.</i>	X		X	X		X		X	X	X	X	X	X	X		X			X	X	X		
<i>Penicillium daleae</i>			X	X						X		X			X							X	
<i>Penicillium glabrum</i>			X																				
<i>Penicillium brevicompactum</i>																	X			X			
<i>Penicillium oxalicum</i>	X										X												
<i>Colletotrichum scovillei</i>															X						X		X
<i>Pleospora herbarum</i>																			X	X			X
<i>Xylogone sphaerospora</i>			X																				
<i>Botrytis cinerea</i>			X																				
<i>Filobasidium sp</i>								X															
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>		X				X	X	X	X	X		X		X	X	X	X	X					
<i>Aureobasidium pullulans</i>								X															
<i>Pseudomonas sp.</i>		X	X	X		X	X	X			X	X	X		X		X		X	X			X
<i>Pseudomonas putida</i>		X				X	X	X	X		X										X		
<i>Pantoea agglomerans</i>	X		X			X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X
<i>Paenibacillus sp.</i>						X			X						X			X					X
<i>Dyella sp</i>													X										

Legenda do anexo 3:

- Sub 1: Substrato 1
- Sub 2: Substrato 2
- Nov – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Novembro
- Nov – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Novembro
- Dez – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Dezembro
- Dez – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Dezembro
- Jan – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Janeiro
- Jan – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Janeiro
- Fev – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Fevereiro
- Fev – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Fevereiro
- Mar – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Março
- Mar – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Março
- Abr – Sub1: Água drenada do substrato 1 em Abril
- Abr – Sub2: Água drenada do substrato 2 em Abril
- Aguatanque F.: Água do tanque recolhida no final do ensaio
- Agua furo F.: Água do furo recolhida no final do ensaio
- P1;Sub2; folhas : Folhas da planta 1 recolhida no substrato 2
- P1;Sub2; caule: Caule da planta 1 recolhida no substrato 2
- P1;Sub2; raiz: Raiz da planta 1 recolhida no substrato 2
- P2;Sub2; raiz: Raiz da planta 2 recolhida no substrato 2
- P2;Sub2; caule: Caule da planta 2 recolhida no substrato 2

Anexo 4 - Observação de tripses junto aos aquênios do fruto.



Anexo 5 - Observação de mosca branca (*Trialeurodes vaporarorum*) na página inferior da folha



Anexo 6 - Observação do aranhaço (*Tetranychus* spp) nas inflorescências da planta.



Anexo 7 - Observação de frutos atacados por roedores



Anexo 8 - Vista superior com os tabuleiros nivelados



Anexo 9 - Vista inferior com os tabuleiros nivelados

