

Neste número

- ◆ Editorial
- ◆ Ano Internacional da Sanidade Vegetal
- ◆ Ações implementadas
- ◆ Tarefas desenvolvidas
- ◆ Estivemos aqui
- ◆ Parceiros
- ◆ Definições e siglas
- ◆ Saiba mais
- ◆ Contactos
- ◆ Financiamento

EDITORIAL

Neste número damos-lhe conta das tarefas desenvolvidas no 2º semestre de 2019, no âmbito do projeto “Desenvolvimento de estratégias integradas para prevenção do cancro-resinoso-do-pinheiro (+PrevCRP)”. Apresentamos-lhe, ainda, uma pequena nota sobre o Ano Internacional da Sanidade Vegetal - 2020, proclamado pelas Nações Unidas, ficando o convite para que todas as pessoas participem ativamente, pois a saúde das plantas e das florestas, em particular, está também nas suas mãos!

ANO INTERNACIONAL DA SANIDADE VEGETAL

Segundo a FAO, **80%** dos **alimentos** ingeridos mundialmente são provenientes de **plantas** e, anualmente, cerca de **40 %** das **culturas alimentares** são **perdidas** devido a **problemas fitossanitários**. O **impacto** nas **espécies florestais** é também **importante**, como sucede com o cancro-resinoso-do-pinheiro, provocado pelo fungo *Fusarium circinatum*. Com a globalização, as alterações climáticas, a destruição de *habitat* e a diminuição da biodiversidade, a probabilidade de emergência de novas e mais agressivas doenças e pragas das plantas aumenta.

Assim, as Nações Unidas declararam **2020** como **Ano Internacional da Sanidade Vegetal**, com o lema **Proteger as Plantas, Proteger a Vida**.

Porque a prevenção é o melhor remédio, implemente e **siga as normas fitossanitárias em vigor, de modo a tornar seguro o comércio de plantas e produtos derivados**.

Ao viajar para outros países, não leve nem traga plantas ou parte delas, p. ex. frutos, pois, mesmo que pareçam saudáveis, podem transportar ovos de insetos, vírus, fungos e bactérias que podem causar graves problemas fitossanitários.

As plantas fornecem alimentos, a madeira dos seus móveis e o ar que respira, por isso colabore e mantenha-as sãs!

Abaixo: área média de florestas afetada por agentes bióticos (exceto insetos). Fonte: FAO, FRA 2010.



AÇÕES IMPLEMENTADAS

No 2º semestre de 2019, o projeto continuou, em termos de coordenação, acompanhamento e tarefas, nomeadamente as seguintes:

- T2** determinação de métodos eficazes no tratamento de **sementes** e avaliação do impacto na germinação;
- T3** determinação de métodos eficazes no tratamento de **substratos** e avaliação do impacto no crescimento das plantas;
- T4** determinação de métodos eficazes na **desinfecção de contentores** e avaliação do impacto no crescimento das plantas;
- T5** determinação de métodos eficazes no **tratamento de água de rega** e avaliação do impacto no crescimento das plantas;
- T6** avaliação de potenciais **novos substratos** alternativos à casca de pinheiro, de origem sustentável; e
- T8** **divulgação** e demonstração de resultados.

Testes de germinação *in vitro* de sementes tratadas



TAREFA 2 - DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NO TRATAMENTO DE SEMENTES E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NA GERMINAÇÃO

O INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, o IPN - Instituto Pedro Nunes - FITOLAB e a UTAD - Univ. de Trás-os-Montes e Alto Douro fizeram a **avaliação da eficácia dos tratamentos das sementes** na eliminação do fungo *Fusarium circinatum*. Após aplicação dos vários tratamentos em semente artificialmente inoculada, foi feita a avaliação da presença do fungo na semente tratada. A deteção de *F. circinatum* nas sementes foi feita por meios clássicos, nomeadamente plaqueamento das sementes em meio específico para o género *Fusarium* (DCPA) e identificação dos isolados por cultura em meios generalistas (PDA e SNA). Quando necessário, esta identificação foi complementada com análises moleculares, i. e. PCR com *primers* para a região IGS do fungo. Atendendo aos resultados contraditórios obtidos nos ensaios com Captana, quer pelo IPN quer pelo INIAV, realizaram-se novos testes para as espécies de *Pinus* em estudo, tendo ambos feito o plaqueamento das sementes, duas semanas após a aplicação do tratamento. Os dois laboratórios obtiveram, agora, resultados semelhantes com **taxas de eficácia elevadas** (> 96%). O INIAV voltou a registar a ausência do fungo nas sementes de *P. radiata* e *P. pinaster* (eficácia 100%), enquanto o IPN-FITOLAB registou taxas de eficácia de 98% em sementes de *P. pinaster* e de 96% em sementes de *P. radiata*. No que diz respeito às sementes de *P. pinea*, o INIAV registou a presença do fungo em 4 das 50 sementes analisadas (eficácia 92%) e o IPN-FITOLAB obteve também resultados semelhantes (eficácia 88%), tendo este tratamento sido selecionado para testes de germinação das três espécies. Continuaram a obter-se **resultados inconclusivos em *Pinus pinea***, havendo dificuldade em desinfetar estas sementes, tendo inclusivamente sido detetadas outras espécies de fungos, nas análises pós-tratamento.

O INIAV efetuará testes com sementes de *P. pinaster* não inoculadas e sujeitas aos tratamentos aplicados anteriormente pela UTAD - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro e pelo IPN - FITOLAB.



Legenda: análise pós-tratamento para deteção de *Fusarium circinatum* em sementes de *Pinus pinea*. Identificação morfológica deste fungo em meio semisseletivo - DCPA (presença de outros fungos, dificultando a identificação de *F. circinatum*) e em meio generalista - PDA (micélio com aspeto de algodão, em geral com tons violeta) e em SNA (ver foto na pág. 4).

Entidade	Tratamentos mais eficazes na eliminação de <i>F. circinatum</i> das sementes		
	<i>Pinus pinaster</i> pinheiro-bravo	<i>Pinus radiata</i> pinheiro-radiata	<i>Pinus pinea</i> pinheiro-manso
UTAD	Água oxigenada - H ₂ O ₂ (20%)		---
IPN	MennoFlorades a 4% - 1 h		MennoFlorades a 4% - 2 h
	Etanol 60% - 5 min.		Etanol 60%, 70% - 5 min.
	Térmico em meio húmido a 60° C - 15 min.		
Captana 1,9 g / l - 5 min.			

Tabela 1: tratamentos mais eficazes na eliminação de *Fusarium circinatum* das sementes e selecionados para avaliação do efeito na germinação das sementes de *Pinus pinaster*, *P. radiata* e *P. pinea*, seguindo as regras da ISTA - International Seed Testing Association.

T3 – DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NO TRATAMENTO DE SUBSTRATOS E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Em agosto / setembro de 2019, aplicou-se o tratamento solarização ao substrato mais utilizado nos viveiros do ICNF, I.P. e avaliou-se a evolução da densidade de *F. circinatum*, após 3 e 7 semanas de exposição ao tratamento, em comparação com um substrato não solarizado. O substrato autoclavado e inoculado com uma suspensão de esporos do fungo [2×10^5 esporos/ml] foi colocado em pequenas bolsas de tecido sintético. Estas bolsas com substrato inoculado (30 g) foram colocadas em dois contentores, a 10 cm de profundidade e cobertos por duas camadas de poliestireno, ficando um exposto ao sol e o outro sem exposição solar direta (controlo negativo). Foram ainda sujeitos, às mesmas condições, outros dois contentores, com solo não autoclavado e não inoculado, no centro dos quais foram colocados sensores de humidade e temperatura, igualmente a 10 cm de profundidade. Cont. pág. 3. ➔

Legenda: substrato em contentor de plástico com as 4 bolsas de rede, cada uma com 30 g de substrato inoculado, e a cerca de 10 cm da superfície.



T3 – DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NO TRATAMENTO DE SUBSTRATOS E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS (CONT.)

Após a solarização verificou-se uma redução no nº de CFU - unidade de formação de colónias, ao fim de 7 semanas, mas não uma eliminação completa do fungo. Assim, a **solarização do substrato não é um tratamento interessante**, pois é moroso, não elimina totalmente o fungo e exige grandes áreas para aplicação do método aos volumes de substratos de que um viveiro, em plena atividade, necessita.

TAREFA 4 – DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NA DESINFECÇÃO DE CONTENTORES E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Essencialmente realizada pela UTAD, esta tarefa está terminada, sendo a **água oxigenada (H₂O₂) a 20%** o tratamento **mais eficaz na desinfecção de contentores para eliminação do fungo *Fusarium circinatum***.

T5 – DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NO TRATAMENTO DE ÁGUA DE REGA E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Foram realizados testes de toxicidade, com sementes de agrião. Realizar-se-ão novos testes de germinação, agora com sementes de *Pinus* regadas com água tratada com Hydrocare 1% e 2%. O INIAV realizará também testes com sementes de *Pinus* para avaliar o efeito dos tratamentos de água de rega (NaClO e Desogerme) na germinação. O IPN-FITOLAB concluiu já os ensaios, tendo efetuado os tratamentos previstos, repetido os melhores ensaios e avaliado o efeito dos tratamentos no desenvolvimento das plantas. Os **tratamentos mais eficazes na eliminação do fungo**, com taxas de **eficácia de 100%**, são **NaClO 1%**, **Desogerme 1%** (composto de amónio quaternário) e **Hydrocare 4%** (à base de água oxigenada e quelatos de prata).

T6 – AVALIAÇÃO DE POTENCIAIS NOVOS SUBSTRATOS ALTERNATIVOS À CASCA DO PINHEIRO, DE ORIGEM SUSTENTÁVEL

Nos ensaios de novos substratos, em virtude dos resultados obtidos pelo ISA, propôs-se que durante a aplicação dos tratamentos mais eficazes em contexto real, os parceiros fornecedores de MFR, utilizem 3 materiais alternativos, em duas proporções distintas (15% e 30%). Os novos substratos a utilizar serão:

- ➡ **casca de eucalipto-glóbulo (*Eucalyptus globulus*);**
- ➡ **granulado ADT 1-2 mm fresco** (resíduo da indústria corticeira); e
- ➡ **falca** (desperdícios da cortiça ex.: ramos, rolhas, placas...), disponibilizada pela Biochem.

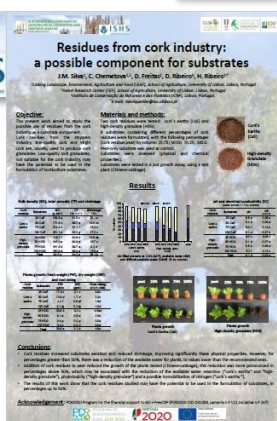
Para a tarefa 7 - aplicação dos tratamentos ao nível dos fornecedores de MFR, propôs-se que todos os viveiros usassem a mesma turfa, podendo a modalidade testemunha ser uma combinação de turfa + perlite ou turfa + casca de pinheiro.

ESTIVEMOS AQUI



III International Symposium on Growing Media, Composting and Substrate Analysis

24 a 28 junho 2019, Milão (Itália) — apresentação de *poster* “Residues from cork industry: a possible component for substrates”. Autores: J. M. Silva, C. Chemetvova, D. Freitas, R. Ribeiro e H. Ribeiro.



Legenda: identificação ao microscópio dos dois tipos de mitósporos do *Fusarium circinatum*, nomeadamente **A** - macronídios e **B** - micronídios.

PARCEIROS

[ICNF, I. P.](#) - Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I. P. | [INIAV, I. P.](#) - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. | [DGAV](#) - Direção-Geral de Alimentação e Veterinária | [Centro PINUS](#) - Associação para a Valorização da Floresta de Pinho | [Florgénese](#) - Produtos e Serviços para a Agricultura e Floresta, Lda. | [ISA](#) - Instituto Superior de Agronomia | [ANSUB](#) - Associação de Produtores Florestais do Vale do Sado | [IPN](#) - Instituto Pedro Nunes, Assoc. para a Inovação e Desenvolvimento em Ciência e Tecnologia | [Viveiros do Furadouro Unipessoal Lda.](#) | [UTAD](#) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro | [APFC](#) - Associação de Produtores Florestais do Concelho de Coruche e Limitrofes | [Pombalverde](#) - Produção e Comercialização de Plantas, Lda. | [Germiplanta](#), Viveiros de Plantas, Lda. | [Biochem](#) Iberica – Químicos Agrícolas e Industriais, Lda.

DEFINIÇÕES E SIGLAS

ADN (DNA em inglês) - ácido desoxirribonucleico. Molécula em dupla hélice que contém a informação genética e hereditária.

Autoclavado - esterilizado em autoclave, aparelho de pressão de vapor usado na esterilização de instrumentos laboratoriais e afins.

Cancro-resinoso-do-pinheiro - doença provocada pelo fungo *Fusarium circinatum*, responsável por danos apreciáveis e mortalidade significativa em indivíduos do género *Pinus*, afetando também a espécie *Pseudotsuga menziesii*, sendo considerado um dos mais importantes agentes bióticos nocivos que afeta sementes, plantas de viveiros e árvores adultas.

CFU - Colony Forming Unit i. e. unidade de formação de colónias.

DCPA - meio de cultura semisseletivo composto por dichloran, cloranfenicol, peptona e agar-agar, adequado para identificar espécies de *Fusarium*.

IGS - Intergenic Spacer, i. e. espaço intergénico, região não codificadora do **ADN**. que sinaliza o início ou fim de um gene, influenciando a transcrição génica, ou o ponto de início para a replicação do **ADN**.

PCR - Polymerase Chain Reaction i. e. reação em cadeia da polimerase. Técnica usada em biologia molecular para replicar, repetidamente, um segmento específico de **ADN** e que pode ser utilizada, p. ex. para a identificação de agentes patogénicos, presentes em amostras, e dos seus genótipos.

PDA - meio de cultura específico para identificação de leveduras e fungos, composto por: **dextrose**, como fonte de hidratos de carbono e que funciona como promotor de crescimento; **infusão de batata**, para proporcionar os nutrientes base para o bom crescimento da maioria dos fungos; e **agar-agar**, como agente solidificante.

Plaqueamento - método laboratorial em que o material biológico é distribuído em placas de Petri.

Polimerase do ADN - enzima que polimeriza novas cadeias de **ADN**.

Primers de PCR - pedaços curtos de **ADN** de fita simples. Para cada reação de **PCR** são usados 2 **primers**, projetados de modo a incluírem a região a copiar, ligando as fitas opostas do **ADN** molde nas extremidades da região a copiar. Os **primers** ligam-se ao molde por emparelhamento de bases complementares.

SNA (do alemão *Spezieller-Nährstoffarmer Agar*) - meio de cultura específico composto por agar-agar, pobre em nutrientes especiais.

Solarização - método de desinfeção do solo usando a energia solar para, subindo a temperatura, eliminar ou reduzir fungos, nemátodos, bactérias e outras infestantes.

Substrato - meio onde se desenvolvem as plantas.

SAIBA MAIS

[ICNF, I. P.](#) | [INIAV, I. P.](#) | [Instituto Pedro Nunes Rede Rural Nacional](#) (grupo operacional)

Contactos

ICNF — Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I. P.

Departamento de Gestão e Valorização da Floresta

Divisão de Fitossanidade Florestal

Eng.ª Dina Ribeiro

Av. da República, 16

1050-191 LISBOA

Tel. (00351) 213 507 900

www.icnf.pt

Para receber este boletim ou saber mais sobre o projeto envie um email para dffap@icnf.pt

Ficha técnica

Coordenação: ICNF, I. P.

Textos e design: ICNF, I. P. com a colaboração dos restantes parceiros.

Imagens: INIAV, I. P.; IPN-FITOLAB; ISA e UTAD.



Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas

FINANCIAMENTO



PROGRAMA DE DESENVOLVIMENTO RURAL 2014-2020



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural

A Europa Investe nas Zonas Rurais

