

## Neste número

- ◆ Editorial
- ◆ Coordenação e acompanhamento
- ◆ Ações implementadas
- ◆ Tarefas desenvolvidas
- ◆ Publicações
- ◆ Estivemos aqui
- ◆ Parceiros
- ◆ Definições e siglas
- ◆ Saiba mais
- ◆ Contactos
- ◆ Financiamento

## EDITORIAL

O projeto “Desenvolvimento de estratégias integradas para prevenção do cancro-resinoso-do-pinheiro (+PrevCRP)” continua, em termos de coordenação, acompanhamento e tarefas: **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.

## COORDENAÇÃO E ACOMPANHAMENTO

No 1º semestre de 2019, o ICNF, I. P., entidade coordenadora deste Grupo Operacional (GO), foi alvo de uma reestruturação, mantendo-se as competências de coordenação e acompanhamento na atual Divisão de Fitossanidade Florestal, do Departamento de Gestão e Valorização da Floresta. Assim, o ICNF, I.P. continuou a desenvolver as iniciativas adequadas e transversais, para a promoção do desenvolvimento das tarefas previstas.

Em maio, realizaram-se duas reuniões, uma com os laboratórios parceiros e outra com os viveiros e o CENASEF, pertencentes ao ICNF, I.P., onde foram discutidas questões relativas a procedimentos a implementar, materiais necessários, estrangulamentos ao normal andamento das atividades sentidos por estes parceiros e preparação de tarefas a iniciar brevemente.

Em julho, no Instituto Pedro Nunes, em Coimbra, teve lugar a 4.ª reunião de acompanhamento, tendo sido abordados os tópicos:

- andamento dos trabalhos desenvolvidos no 1.º semestre de 2019;
- atividades a desenvolver no 2.º sem. (planeamento); e
- identificação dos fatores que dificultaram os trabalhos e forma de os ultrapassar.

## AÇÕES IMPLEMENTADAS

As tarefas, implementadas no 1º semestre de 2019, foram as previamente definidas no plano de trabalhos, continuando-se algumas e iniciando-se outras. Foram ainda desenvolvidas várias iniciativas no âmbito da divulgação e demonstração dos resultados obtidos pelo Grupo Operacional.

Destaca-se ainda o facto da UTAD ter uma nova técnica afeta ao projeto.



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

Na determinação de métodos eficazes no tratamento de sementes e avaliação do impacto na germinação, a UTAD e o IPN - FITOLAB testaram a eficácia de vários produtos desinfetantes. Foram usadas sementes de pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*), pinheiro-radiata (*P. radiata*) e pinheiro-manso (*P. pinea*), previamente infetadas com o fungo (*Fusarium circinatum*), por inoculação efetuada pelo INIAV, I.P.

Nos ensaios de desinfeção de sementes de *P. pinaster* e *P. radiata* encontraram-se já alguns produtos com eficácias muito elevadas. Com **100% de eficácia**, a UTAD identificou os tratamentos com **peróxido de hidrogénio** (água oxigenada) em **concentrações de 20%** e de **30%**, enquanto o IPN - FITOLAB identificou o **tratamento térmico húmido a 60 °C, durante 5 minutos**, e a **aplicação de MennoFlorades em concentração de 4%, durante uma hora**. Alguns tratamentos revelaram-se 100% eficazes **apenas** para sementes de *P. pinaster*, nomeadamente os com **etanol a 50% a 5 minutos**, o **térmico húmido a 55 °C (15 min.)** e o **com etanol a 60% (5 min.)**. A eficácia dos tratamentos foi também comprovada pelo INIAV, I.P.

Quanto à desinfeção de sementes de pinheiro-manso (*P. pinea*), não existem ainda resultados definitivos, pelo que os ensaios continuam .

Tratamentos EFICAZES em sementes			
UTAD		IPN - FITOLAB	
<i>Pinus pinaster</i>	<i>P. radiata</i>	<i>Pinus pinaster</i>	<i>P. radiata</i>
Água oxigenada (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) a: * 20% * 30%		* Etanol a 50% (5 min.)	* Etanol a 60% (5 min.) (98% eficácia nos testes do INIAV)
		* Térmico húmido a 55 °C (15 min.)	* Térmico húmido a 60°C (5 min.)
		* MennoFlorades 4% (1 h)	



À esquerda, sementes infetadas com o fungo (*Fusarium circinatum*). Em baixo, sementes de pinheiro-manso sem infeção, após aplicação de tratamento eficaz (MennoFlorades 4%, 2 h).



À direita, avaliação da eficácia dos tratamentos aplicados, usando sementes de *P. radiata*, havendo algumas já germinadas.



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

Quanto a esta tarefa, foram já determinadas as metodologias a aplicar e, em agosto de 2019, iniciaram-se os ensaios.

## T4 – DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NA DESINFEÇÃO DE CONTENTORES E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS

As atividades já desenvolvidas pela UTAD—Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro indicam que a desinfeção de contentores com água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 20% e a 30%) é eficaz na completa eliminação do fungo (*Fusarium circinatum*). A eficiência foi avaliada com cultura em meios específicos (DCPA, PDA e SNA\*) e a PCR (*primers*\* específicos para a região IGS do fungo).

É de sublinhar que o método de lavagem dos contentores com água quente (a 90 °C) se revelou ineficaz.

As atividades continuarão a ser desenvolvidas pela UTAD, de modo a avaliar o impacto que os diferentes tratamentos de desinfeção dos contentores terão ou não no crescimento das plantas.

\*Nota: ver glossário na página 6.

## TAREFA 5 - DETERMINAÇÃO DE MÉTODOS EFICAZES NO TRATAMENTO DE ÁGUA DE REGA E AVALIAÇÃO DO IMPACTO NO CRESCIMENTO DAS PLANTAS

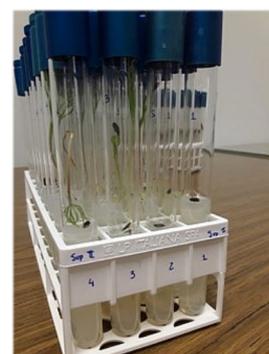
**Média de UFC / ml de *F. circinatum* por tratamento (melhores resultados a verde)**

Tratamento	Média (n=5)	Erro Padrão	% de desinfecção
C+	860000	18973,666	0
C-	0	0	N. A.
<b>NaClO (lixívia)</b>			
1%	0	0	100
2%	0	0	100
2,5%	0	0	100
<b>Desogerme 1%</b>			
	0	0	100
<b>Hydrocare</b>			
1%	3280	3,16227766	99,6186
2%	401	5,05964426	99,5337
3%	5,4	3,81575681	99,9937
4%	0	0	100
5%	20	10,9590146	99,9767

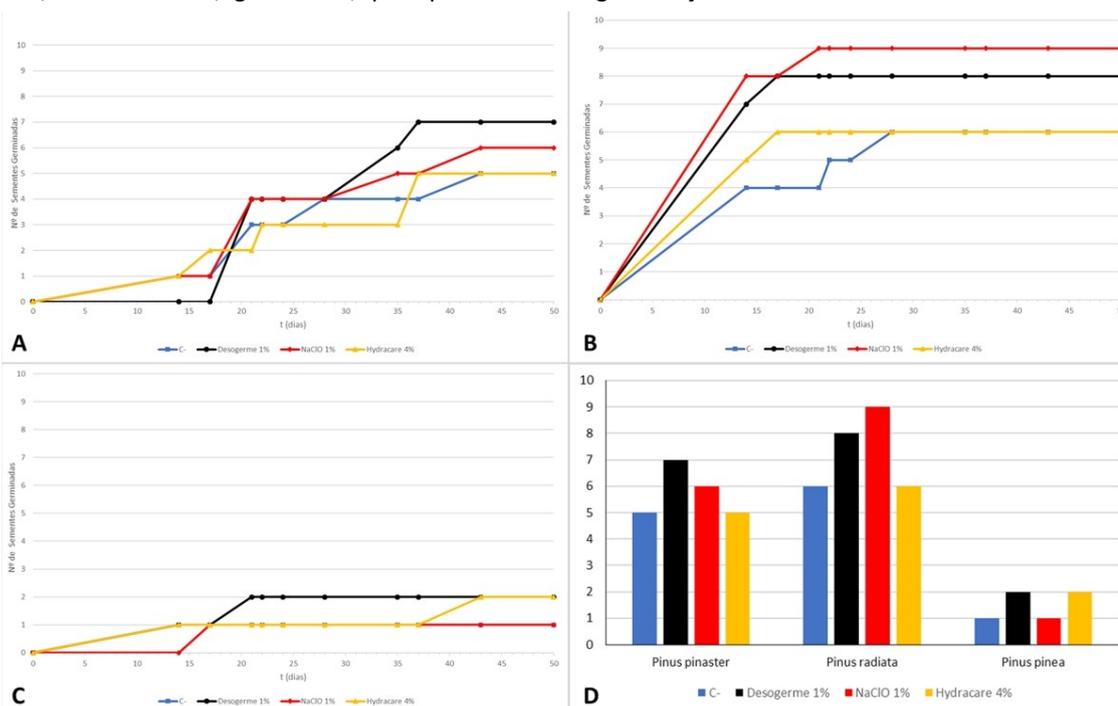
Tabela em cima e fotos à direita: testes de germinação de sementes ao longo de 50 dias de rega com os tratamentos.

A responsabilidade de realizar esta tarefa foi distribuída pelo IPN—FITOLAB (Instituto Pedro Nunes - Assoc. para a Inovação e Desenvolvimento em Ciência e Tecnologia—FITOLAB), pelo ISA — Instituto Superior de Agronomia e INIAV — Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. e pela Biochem.

Assim, o IPN—FITOLAB realizou as primeiras subtarefas e terminou já a sua participação na T5, tendo elaborado o protocolo de ensaio, multiplicado o inóculo e preparado as suspensões a utilizar. Testou, ainda, nas diferentes modalidades, os produtos químicos utilizados [hipoclorito de sódio (NaClO), Desogerme (composto de amónio quaternário) e Hydrocare (à base de água oxigenada e quelatos de prata - Ag)], bem como a avaliação do impacto do tratamento, na germinação e crescimento de sementes.



Em termos de resultados, o IPN—FITOLAB verificou que a utilização de NaClO a 1%, de Desogerme 1% e de Hydrocare 4% se revelaram eficazes na eliminação do fungo do cancro-resinoso-do-pinheiro (*Fusarium circinatum*) da água de rega. Em termos da germinação de sementes regadas com água ou tratada ou da rede verificou-se que os valores obtidos são muito semelhantes, não ocorrendo, igualmente, quaisquer atrasos na germinação.



**Gráficos:** número de sementes germinadas ao longo de 50 dias de rega com os tratamentos. **A** - sementes de pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*), **B** - pinheiro-radiada (*P. radiata*) e **C** - pinheiro-manso (*P. pinea*). **D** - nº de sementes germinadas, no final dos 50 dias de rega, por espécie e tratamento, nomeadamente a cor **Azul** - C-, **Preta** - Desogerme 1%, **Vermelha** - lixívia 1% e **Laranja** - Hydrocare 4%.

O ISA—Instituto Superior de Agronomia irá proceder à avaliação da qualidade da água nas diferentes modalidades testadas, no que diz respeito à sua composição química, e à avaliação dos efeitos do tratamento escolhido na germinação e no crescimento de plantas teste.

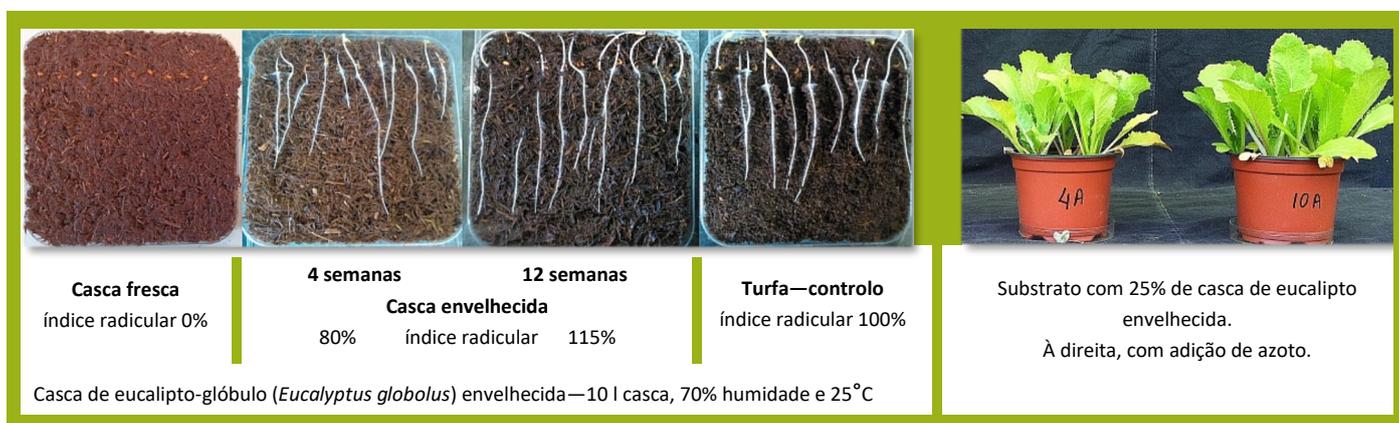
## T6 – AVALIAÇÃO DE POTENCIAIS NOVOS SUBSTRATOS ALTERNATIVOS À CASCA DO PINHEIRO, DE ORIGEM SUSTENTÁVEL

No âmbito das atividades destinadas a identificar novos substratos sem casca de pinheiro, que o ISA continua a desenvolver, foram já realizados ensaios com:

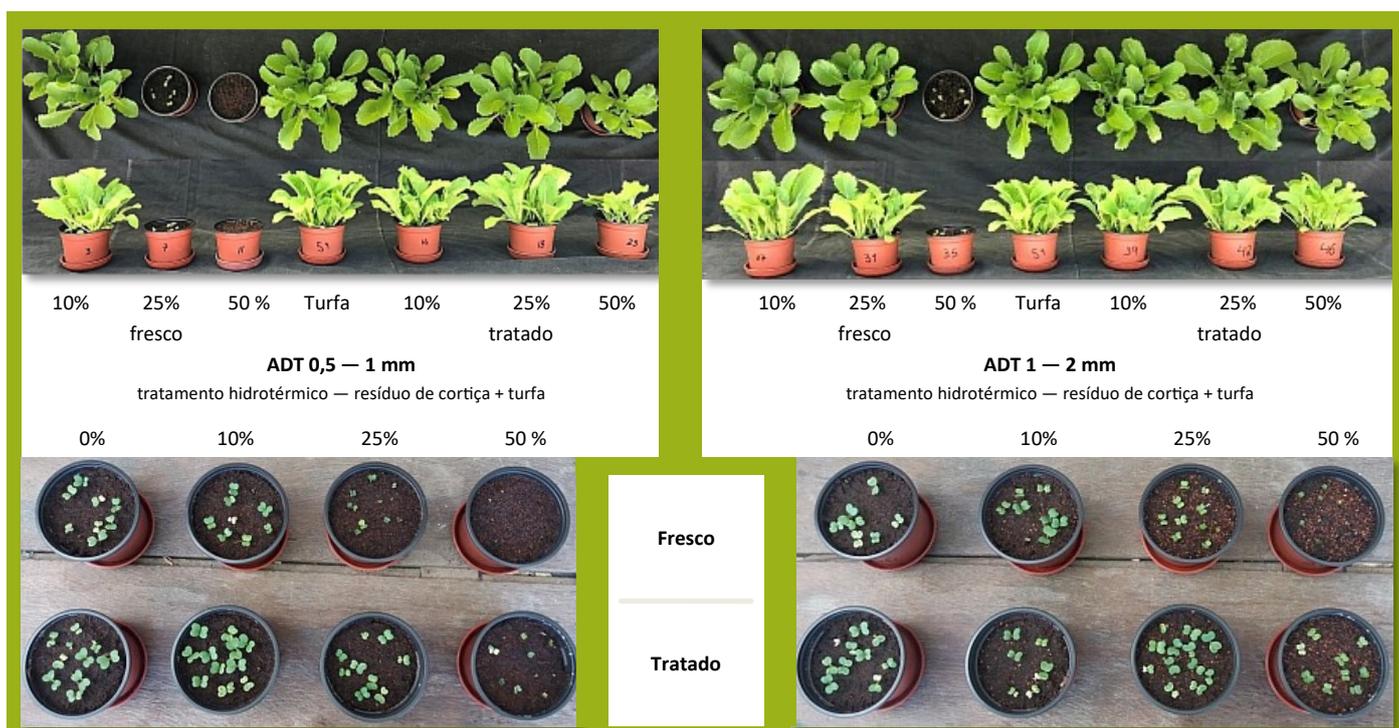
- ⇒ **casca de acácia** proveniente do descasque de árvores adultas da serra de Sintra, com secagem ao ar livre em ambiente seco, 8 semanas de envelhecimento com adição de água (de acordo com EN 18086-2), a 25°C de temperatura;
- ⇒ **casca de eucalipto-glóbulo** (*Eucalyptus globulus*); e
- ⇒ **resíduos da indústria corticeira (granulados ADT)**.

Até ao momento, foi possível concluir que a **casca de acácia (*Acacia melanoxylon*) pode substituir até 50% de turfa**. No entanto e em função do objetivo pretendido, deve ser dada atenção à **granulometria** da casca, já que as texturas grosseiras (crivo  $\varnothing = 10$  mm) promovem o arejamento, enquanto as mais finas (crivo  $\varnothing = 4$  mm) facilitam a retenção de água.

No que diz respeito à **casca de eucalipto-glóbulo** verificou-se que, enquanto verde, é tóxica, porém, perde muita da sua toxicidade após o envelhecimento, podendo o desempenho dos substratos com este material, em **percentagem de até 25%, ainda ser melhorado com a adição de azoto**.



Quanto aos resíduos da indústria corticeira, nomeadamente à utilização de **granulado de cortiça ADT 1—2 mm** sujeito a tratamento hidrotérmico, em percentagens até 50% do substrato, apresenta resultados semelhantes a substratos de turfa. No caso de granulados ADT de menor granulometria (0,5 a 1 mm) a fitotoxicidade é maior, devido à maior superfície específica.



## PUBLICAÇÕES



### Journal of Cleaner Production

Chemetova C., et al. 2019. Aged *Acacia melanoxylon* bark as an organic peat replacement in container media. *Journal of Cleaner Production*, 232, 1103-1111.



Journal of Cleaner Production

Volume 232, 20 September 2019, Pages 1103-1111



### Tese de mestrado em Bioquímica, Coimbra

Tese de Luís Fernandes, intitulada “Desenvolvimento de estratégias integradas para a prevenção do Cancro-resinoso-do-pinheiro – relevância do tratamento de água de rega e desinfecção de sementes”.



Em cima: reuniões de maio, ICNF, I.P., Lisboa



## ESTIVEMOS AQUI



### PINESTRENGHT — final meeting

26 a 28 mar. 2019, Skopje (Macedónia) — comunicação pelo INIAV, I.P. “Finding effective methods for seed treatment against *Fusarium circinatum*”.



### ExpoMortágua

30 maio a 2 junho 2019, Mortágua — participação com expositor de atividades e divulgação de projetos e serviços.



### XXV IUFRO World Congress

29 set. - 5 out. 2019, Curitiba, Brasil — comunicações orais pela UTAD, intituladas “First Report of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* in Portuguese pine forest: detection, eradication and management” e “Disclosing effective methods in the *Pinus* spp. seeds treatment to the Pine Pitch Canker prevention”.



Reunião do Grupo Operacional (+PrevCRP), no IPN — Instituto Pedro Nunes, Coimbra (16 de julho de 2019)

## 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.

**Agente biótico nocivo** — qualquer espécie, estirpe ou biótipo de agentes patogénicos, animais ou vegetais, parasitas nocivos para os vegetais ou produtos vegetais (o mesmo que praga).

**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.

**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 o fim de um gene, influenciando a transcrição génica, ou que é o ponto de início para a replicação do ADN.

**PCR** — *Polymerase Chain Reaction* i. e. reação em cadeia da polimerase. Técnica utilizada em biologia molecular para replicar, repetidamente, um segmento específico de ADN e que pode ser utilizada, entre outros fins, 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.

**Peróxido de oxigénio** — vulgo água oxigenada.

**Plantas teste** — plantas utilizadas nos ensaios e que, em geral, são muito sensíveis a alterações das condições ambientais (edafoclimáticas), como por exemplo o agrião.

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

**Primer 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.

**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](http://www.icnf.pt)

Para receber este boletim ou saber mais sobre o projeto envie um email para [dffap@icnf.pt](mailto:dffap@icnf.pt)

### Ficha técnica

Coordenação: ICNF, I. P.

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

Imagens: ICNF, I. P.; 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

