



**INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO**

Carlos Gil Silva Sá

**Avaliação de porta-enxertos parcialmente resistentes
no controlo de nemátodes-das-galhas-radiculares em tomateiro**

Mestrado em Agricultura Biológica

**Trabalho efetuado sob a orientação de
Professora Doutora Isabel de Maria Mourão
Doutora Sofia Rocha Costa**

Fevereiro 2020

As doutrinas expressas neste trabalho são da exclusiva
responsabilidade do autor.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| Agradecimentos | i |
| Resumo | iii |
| Abstract..... | iv |
| Lista de abreviaturas e símbolos..... | v |
| Lista de figuras | vi |
| Lista de quadros..... | xii |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Agricultura biológica..... | 1 |
| 1.2. Cultura do tomateiro..... | 4 |
| 1.2.1. A planta | 4 |
| 1.2.2. O fruto | 5 |
| 1.2.3. Cultivo do tomateiro..... | 6 |
| 1.2.4. Importância económica da cultura..... | 7 |
| 1.2.5. Pragas e doenças..... | 10 |
| 1.3. Nemátodes-das-galhas-radiculares (<i>Meloidogyne</i> spp.)..... | 19 |
| 1.3.1. Distribuição e importância económica na cultura do tomateiro | 19 |
| 1.3.2. Ciclo da doença e patogenicidade | 21 |
| 1.3.3. Efeitos no crescimento e na fisiologia da planta hospedeira..... | 24 |
| 1.3.4. Meios de proteção da cultura contra o ataque de NGR..... | 25 |
| 1.3.4.1. Luta legislativa | 25 |
| 1.3.4.2. Luta química..... | 26 |
| 1.3.4.3. Luta cultural..... | 27 |
| 1.3.4.4. Luta biológica..... | 28 |
| 1.4. Enxertia em culturas hortícolas | 31 |
| 1.4.1. Conceito e objetivos da enxertia de hortícolas | 31 |
| 1.4.2. Enxertia de hortícolas na Europa e em Portugal..... | 32 |
| 1.4.3. Efeitos da enxertia na qualidade e produtividade do tomate..... | 33 |
| 1.4.4. Enxertia como meio de proteção de <i>Meloidogyne</i> spp..... | 35 |
| 1.5. Comunidade microbiológica do solo..... | 38 |
| 1.5.1. Caracterização da diversidade de comunidades microbiológicas do solo..... | 38 |
| 1.5.2. Importância da comunidade microbiológica do solo em agricultura biológica | |

| | | |
|----------|--|----|
| 1.6. | Objetivos do trabalho | 42 |
| 2. | Materiais e Métodos | 43 |
| 2.1. | Ensaio da Estela..... | 43 |
| 2.1.1. | Localização do ensaio e condições edafo-climáticas | 43 |
| 2.1.2. | Instalação do ensaio..... | 45 |
| 2.1.3. | Densidade e compasso de plantação..... | 46 |
| 2.1.4. | Cultivares utilizadas | 47 |
| 2.1.5. | Leitura e registo de temperatura | 48 |
| 2.1.6. | Práticas culturais efetuadas..... | 50 |
| 2.1.7. | Colheita e avaliação biométrica dos frutos..... | 50 |
| 2.1.8. | Avaliação qualitativa dos frutos | 51 |
| 2.1.9. | Levantamento do ensaio e preparação das raízes | 53 |
| 2.1.10. | Contagem de galhas e massas de ovos | 54 |
| 2.1.11. | Extração e contagem de ovos | 55 |
| 2.2. | Ensaio da Apúlia..... | 56 |
| 2.2.1. | Localização do ensaio e condições edafoclimáticas..... | 57 |
| 2.2.2. | Instalação do ensaio..... | 59 |
| 2.2.3. | Inoculação do fungo no solo..... | 60 |
| 2.2.4. | Fertilização da cultura | 60 |
| 2.2.5. | Recolha de amostras de solo..... | 60 |
| 2.2.6. | Caracterização da comunidade microbiológica do solo | 60 |
| 2.2.6.1. | Preparação das amostras de solo e inoculação das Ecoplates-Biolog™ | 61 |
| 2.2.6.2. | Análise da diversidade metabólica | 62 |
| 2.3. | Análise estatística | 63 |
| 3. | Resultados..... | 64 |
| 3.1. | Condições de temperatura durante o ensaio | 64 |
| 3.2. | Produtividade das culturas de tomate | 65 |
| 3.3. | Calibre dos frutos | 67 |
| 3.4. | Defeitos nos frutos..... | 69 |
| 3.5. | Matéria seca dos frutos | 70 |
| 3.6. | Firmeza, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos frutos..... | 71 |
| 3.7. | Grau de maturação dos frutos..... | 73 |
| 3.8. | Aspetos económicos da produção..... | 75 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 3.9. | Avaliação de danos e reprodução do nemátode nas raízes das plantas | 77 |
| 3.10. | Avaliação da comunidade microbiológica do solo..... | 79 |
| 3.10.1. | Densidade ótica média (AWCD)..... | 79 |
| 3.10.2. | Índices de biodiversidade S, H, E..... | 82 |
| 3.10.3. | Análise por grupos de compostos..... | 84 |
| 4. | Discussão de resultados | 87 |
| 4.1. | Produtividade das plantas | 87 |
| 4.2. | Qualidade dos frutos..... | 87 |
| 4.3. | Infeção dos nemátodes-das-galhas-radiculares | 89 |
| 4.4. | Caracterização da comunidade microbiológica do solo | 90 |
| 5. | Conclusões..... | 93 |
| 6. | Referências bibliográficas | 95 |
| 7. | Anexos..... | 109 |

AGRADECIMENTOS

Após a finalização da minha Dissertação de Mestrado, sinto-me grato a algumas entidades que, de alguma forma, direta ou indireta, me ajudaram a concluir a minha licenciatura e por essa mesma razão, não posso deixar de lhes agradecer.

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais, pelo enorme esforço que fizeram para me proporcionar todas as condições necessárias para que conseguisse concluir o mestrado e aproveitar ao máximo a minha vida académica, assim como por toda a compreensão, consolo e apoio que me deram durante toda a minha vida.

Agradeço a Deus, por nunca me ter deixado desistir nos piores momentos destes 2 anos, principalmente no período de realização desta dissertação e, por tudo o que me proporcionou durante toda a minha vida.

Quero também mostrar aqui, toda a minha gratidão pela ajuda, ensinamentos, disponibilidade, paciência e compreensão prestados pelas minhas orientadoras Professora Doutora Isabel Mourão e Doutora Sofia Costa, que, no decorrer deste trabalho, sempre me acompanharam e auxiliaram com a maior das prontidões e melhor disposição possível. Muito Obrigado Professora Isabel e Doutora Sofia.

À Professora Doutora Luísa Moura por todo apoio, conselhos e incentivo prestado no decorrer da parte laboratorial deste estudo, deixo o meu sincero agradecimento.

Agradeço aos empresários agrícolas Sr. Joaquim e Sr. Inácio por terem facultado os espaços das estufas onde os ensaios foram instalados e pelo acompanhamento ao longo do estudo.

Obrigado a todos os investigadores do Projeto COCOON e ao meu colega de estágio Tiago Torre, pelo apoio prestado e pela preocupação, acompanhamento e prontidão na hora de ajudar, no decorrer deste estudo.

Agradeço também ao Eng.º Vergílio e às técnicas de laboratório D^a Suzy, D^a Maria e D^a Maria Helena, que sempre se mostraram disponíveis para todo o tipo de ajuda necessárias durante a realização das tarefas.

Agradeço aos meus colegas e amigos do 10º Mestrado em Agricultura Biológica, por toda a amizade, companheirismo, incentivo e apoio prestado nesta fase da minha vida.

À minha namorada Margarida Oliveira, o meu Muito Obrigado por todo incentivo e força que me deu e por nunca me ter deixado fraquejar durante a realização desta dissertação.

Quero também agradecer à Escola Superior Agrária de Ponte de Lima do Instituto Politécnico de Viana do Castelo e a todos os seus docentes que sempre me apoiaram. Sítio mágico este, onde passei os melhores anos da minha vida.

Por fim, e não menos importante, tenho de agradecer aos meus avós pela pessoa em que me tornei e por tudo o que sou hoje. Obrigado vó e obrigado vô.

RESUMO

A cultura do tomateiro apresenta uma grande relevância no setor hortícola em Portugal. Contudo, os nemátodes-das-galhas-radiculares (NGR), *Meloidogyne* spp., são os responsáveis por uma das principais doenças transmitidas pelo solo na produção de tomate em cultura protegida. A enxertia tem sido descrita como uma técnica que contribui para o controlo desta doença, uma vez que alguns porta-enxertos (p.e.) têm demonstrado tolerância aos NGR. Os objetivos deste estudo incluíram a avaliação de quatro p.e. na produtividade e qualidade dos frutos de tomateiro, na reprodução dos NGR (número de galhas e massas de ovos) e nos danos causados nas raízes das plantas, e ainda, a avaliação do efeito na comunidade microbiana do solo causado pela inoculação do fungo *Pochonia chlamydosporia* utilizado no controlo biológico de NGR. O primeiro ensaio realizou-se numa estufa na Estela, Póvoa de Varzim. Tomateiros da cv. Anairis foram enxertados nos p.e. Embajador, Emperador, Multifort e Silex, tendo-se utilizado plantas não enxertadas e auto-enxertadas como controlo. O segundo ensaio realizou-se na Apúlia, Esposende, onde se plantaram tomateiros da cv. Coração de Boi não enxertado e enxertado no p.e. Embajador, sem e com inoculação do fungo *P. chlamydosporia*. Recolheram-se amostras de solo mensalmente e analisou-se a comunidade microbiológica através da técnica Biolog®.

O potencial benefício da enxertia de aumento da produtividade não ocorreu, mas as plantas enxertadas em qualquer um dos quatro porta-enxertos sofreram significativamente menos danos causados por NGR, tendo o p.e. Embajador permitido uma maior reprodução de NGR. Estes resultados estão de acordo com outros estudos realizados em produção biológica e em condições de uma baixa pressão de NGR no solo. O calibre dos frutos foi melhorado pela enxertia, mas a matéria seca e o °Brix foram superiores nas plantas não enxertadas. No segundo ensaio, as amostras de solo dos tratamentos de plantas enxertadas, sem inoculação de fungo, apresentaram uma menor diversidade e atividade microbiológica, em comparação com os restantes tratamentos. De um modo geral não se verificou dominância de subgrupos microbianos, mas sim, uma ampla utilização de vários substratos uniformemente.

Concluiu-se que a utilização da enxertia será benéfica se a severidade da doença causada por NGR for alta e que os p.e. utilizados apresentaram maior tolerância a esta doença do que as plantas não enxertadas. Plantas enxertadas, sem inoculação de *P. chlamydosporia* pareceram não fomentar a diversidade e atividade microbiológica do solo, em comparação com os restantes tratamentos e não se observou dominância de subgrupos microbianos, mas sim um aumento da utilização de vários substratos uniformemente

Palavras-chave: Biolog, enxertia, *Meloidogyne* spp., *Pochonia chlamydosporia*, tomate.

ABSTRACT

Tomato crop is very important in the Portuguese horticultural sector. However, root-knot nematodes (RKN), *Meloidogyne* spp., are responsible for one of the main diseases transmitted by the soil in protected tomato production. Grafting has been described as a technique that contributes to the control of this disease, since some rootstocks have shown tolerance to RKN. The objectives of this study included the evaluation of four rootstocks in the tomato yield and fruit quality, in the reproduction of the RKN (number of galls and egg masses) and in the plant roots damages, as well as, the evaluation of the effect in the soil microbiological community caused by inoculation of the fungus *Pochonia chlamydosporia* used as a biological control of RKN. The first trial took place in a greenhouse in Estela, Póvoa de Varzim, where tomatoes of cv. Anairis were grafted onto rootstocks Embajador, Emperador, Multifort and Silex, using non-grafted and self-grafted plants as control. The second trial took place in Apulia, Esposende, with tomato plants of cv. Coração de Boi non-grafted and grafted onto the rootstock Embajador, without and with inoculation of the fungus *P. chlamydosporia*. Soil samples were collected monthly and the soil microbiological community was analyzed using the Biolog® technique.

The potential benefit of increased yield by grafting did not occur, but the plants grafted onto any of the four rootstocks suffered significantly less damage caused by RKN, with the rootstocks Embajador having the greater RKN reproduction. These results are in accordance with other studies carried out in organic production and under conditions of low pressure of NGR in the soil. The fruits grading was improved by grafting, but the dry matter and °Brix were higher in non-grafted plants. In the second trial, the soil samples from the treatment of grafted plant without fungus inoculation, showed less diversity and microbiological activity, compared to the other treatments. In general, there was no dominance of microbial subgroups, but rather a wide use of several substrates uniformly.

It is concluded that the use of grafting will be beneficial if the severity of the disease caused by RKN is high and that the rootstocks used showed greater tolerance to this disease than the non-grafted plants. Grafted plants, without *P. chlamydosporia* inoculation, did not seem to promote soil diversity and microbiological activity as the other crop treatments and there was no dominance of microbial subgroups, but an increase in the use of various substrates uniformly.

Keywords: Biolog, grafting, *Meloidogyne* spp., *Pochonia chlamydosporia*, tomato.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cv. – Cultivar

MS – Matéria seca

NGR – Nemátodes-das-galhas-radiculares

p.e. – Porta enxerto

Pf – Peso fresco

PFCM – Perfil fisiológico de comunidades microbianas

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1: Evolução da área (ha) e número de produtores em MPB desde o ano 2006 até ao ano 2017. À esquerda lê-se a área de produção em MPB e á direita lê-se o número de produtores em MPB (DGADR, 2019)..... | 2 |
| Figura 1.2: Distribuição da área em MPB por tipo de cultura, em Portugal continental, em 2017. (DGADR, 2019) | 3 |
| Figura 1.3: Estrutura de um tomate, em corte transversal..... | 6 |
| Figura 1.4: Principais países produtores de tomate no mundo em 2017 (adaptado de FAOSTAT, 2019)..... | 8 |
| Figura 1.5: Evolução da produção de tomate para indústria e para consumo em fresco em Portugal (adaptado de FAOSTAT, 2019) em termos de peso e de área cultivada, entre 2012 e 2017. À esquerda lê-se o peso de tomate (toneladas x 10 ⁵) e á direita lê-se a área de produção de tomate (hectares)..... | 9 |
| Figura 1.6: Balança comercial do tomate em Portugal. À esquerda lê-se a produção de tomate em toneladas e à direita lê-se o valor monetário em milhões de euros. (adaptado de Eurostat, 2019)..... | 10 |
| Figura 1.7 - Radícula de tomateiro com massas de ovos tingidas a vermelho | 22 |
| Figura 1.8: Nemátode J2 dentro do ovo | 22 |
| Figura 1.9: Nemátode J2 no momento da eclosão..... | 22 |
| Figura 1.10: Fêmea adulta do género <i>Meloidogyne</i> destacada da galha | 24 |
| Figura 1.11: Fêmea adulta do género <i>Meloidogyne</i> inserida numa galha de uma raiz de tomateiro..... | 24 |
| Figura 1.12: Esquema do ciclo de vida dos NGR (Fonte: Adaptado de Moens <i>et al.</i> , 2009) | 24 |
| Figura 1.13: Placa Ecoplate - Biolog TM contendo 31 fontes de carbono diferentes. Cada fonte de carbono será consumida e o tetrazólio presente em cada poço será reduzido, conferindo cor purpura de diferente intensidade de acordo com o consumo da fonte de carbono em cada poço (Fonte: Biolog, 2019)..... | 40 |
| Figura 1.14: Fontes de Carbono em microplaca as Ecoplate – Biolog TM (Biolog, 2007)... | 40 |
| Figura 2.1: Localização da estufa de produção de tomate onde foi instalado o ensaio da Estela (Imagem aérea retirada de Google Maps) | 43 |
| Figura 2.2: Esquema da estufa localizada na Estela, onde decorreu o ensaio..... | 44 |
| Figura 2.3: Esquema da disposição dos tratamentos do ensaio..... | 45 |

| | |
|--|----|
| Figura 2.4: Esquema de plantação dos tomateiros. À esquerda representados os tratamentos AxSi, AxEp, AxEb e AxMt, com 1 planta por alvéolo e conduzidos por 2 hastes, e à direita representados os tratamentos A e AxA, com 2 plantas por alvéolo e conduzidos por 1 haste. | 47 |
| Figura 2.5: Data Logger utilizado no ensaio | 49 |
| Figura 2.6: instalação dos sensores no solo | 49 |
| Figura 2.7: Colheita e separação dos frutos por tratamento e repetição | 51 |
| Figura 2.8: À esquerda a balança utilizada para pesar os frutos e à direita, a régua de calibração usada para medir o calibre de cada fruto..... | 51 |
| Figura 2.9: Medição do grau de maturação com recurso a um colorímetro | 53 |
| Figura 2.10: Medição da consistência da polpa utilizando um penetrómetro | 53 |
| Figura 2.11: Análises que implicam a destruição do fruto - elaboração do sumo e preparação do fruto para pesar em fresco e posteriormente a MS | 53 |
| Figura 2.12: Análise da acidez titulável do sumo de tomate | 53 |
| Figura 2.13: À esquerda, uma placa de Petri com água e uma amostra de 3g de raiz tingida pronta para ser processada na lupa. À direita duas galhas com duas massas de ovos, vistas à lupa (10x), tingidas a vermelho pela floxina B. | 54 |
| Figura 2.14: Crivos de 75 µm e de 20 µm utilizados para crivar os ovos dos NGR..... | 56 |
| Figura 2.15: Crivagem dos ovos dos NGR..... | 56 |
| Figura 2.16: Recolha da suspensão de ovos de NGR para um copo graduado | 56 |
| Figura 2.17: Suspensão de ovos de NGR em água destilada resultante | 56 |
| Figura 2.18: Localização da estufa de produção de tomate onde foi instalado o ensaio da Apúlia (Imagem aérea retirada de Google Maps) | 57 |
| Figura 2.19: Esquema da estufa localizada na Apúlia, onde decorreu o ensaio..... | 58 |
| Figura 2.20: Esquema da disposição dos tratamentos do ensaio..... | 59 |
| Figura 2.21: EcoPlate inoculada..... | 62 |
| Figura 2.22: Leitor de microplacas utilizado..... | 62 |
| Figura 3.1: Temperatura média diária do ar (°C) no período entre 13 de junho e 10 de outubro de 2018, no exterior e dentro da estufa onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, em Rio Alto, Estela, Póvoa de Varzim..... | 64 |
| Figura 3.2: Temperatura média diária do solo (°C) no período entre 13 de junho e 10 de outubro de 2018, no exterior e dentro da estufa, sem e com cobertura de filme de polietileno preto, onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, em Rio Alto, Estela, Póvoa de | 65 |

| | |
|--|----|
| Figura 3.3: (a) Número total de frutos (m^{-2}) e (b) produtividade ($kg\ m^{-2}$) para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A)..... | 66 |
| Figura 3.4: Número de frutos acumulados (m^{-2}), durante o período da colheita (20/8 a 4/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A)..... | 66 |
| Figura 3.5: Peso fresco acumulado ($kg\ m^{-2}$), durante o período da colheita (20/8 a 4/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A)..... | 67 |
| Figura 3.6: Número de frutos de tomate m^{-2} , para frutos com calibre (a) ≤ 56 , 57-66 mm e (b) 67-81, 82-102 e >102 mm, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). | 68 |
| Figura 3.7: Peso fresco do tomate ($kg\ m^{-2}$), para frutos com calibre (a) ≤ 56 , 57-66 mm e (b) 67-81, 82-102 e >102 mm, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A)..... | 68 |
| Figura 3.8: Percentagem do peso fresco dos frutos para os calibres ≤ 66 , 67-102 e >102 mm, para os tratamentos de tomate cv. Anairis, enxertada nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertada na própria cultivar (AxA) e não enxertada (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). | 69 |
| Figura 3.9: Percentagem do número total de frutos sem defeito, com fendas e outros, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). | 70 |
| Figura 3.10: Percentagem de MS para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e | |

| | |
|---|----|
| Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05). | 70 |
| Figura 3.11: Percentagem de MS, 22, 29 e 35 dias após o início da colheita, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). | 71 |
| Figura 3.12: Firmeza (kg), total de sólidos solúveis (°Brix), pH e acidez titulável (g 100g Pf-1) para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05)..... | 72 |
| Figura 3.13: Firmeza (kg), total de sólidos solúveis (°Brix), pH e acidez titulável (g 100g Pf-1), 22, 29 e 35 dias após o início da colheita, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A)..... | 73 |
| Figura 3.14: Percentagem do número total de frutos, para os quatro níveis de maturação, Verde/Rosado, Rosado/Verde, Rosado/Vermelho e Vermelho, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05)..... | 74 |
| Figura 3.15: Percentagem do número total de frutos, para dois grupos de maturação, Verde e Vermelho, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05). | 74 |
| Figura 3.16: Lucro acumulado m ⁻² , durante o período da colheita (20/8 a 25/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). | 76 |
| Figura 3.17: Nível de ataque segundo a escala de Bridge e Page (1980) nos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não | |

| | |
|--|----|
| enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05)..... | 77 |
| Figura 3.18: Número de galhas e massas de ovos de NGR por 3 g de raiz nos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05)..... | 78 |
| Figura 3.19: Fecundidade das fêmeas (número de ovos \times massas de ovos ⁻¹) nas raízes dos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p <0,05)..... | 78 |
| Figura 3.20: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de janeiro de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – Coração de boi c/fungo..... | 79 |
| Figura 3.21: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de fevereiro de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – Coração de boi c/fungo..... | 79 |
| Figura 3.22: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de março de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo..... | 80 |
| Figura 3.23: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de abril de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo..... | 80 |
| Figura 3.24: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de maio de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo..... | 80 |

| | |
|---|----|
| Figura 3.25: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de junho de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo..... | 80 |
| Figura 3.26: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de julho de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo..... | 81 |
| Figura 3.27: Utilização de grupos de compostos no mês de janeiro de 2019, após 144h de incubação nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). | 84 |
| Figura 3.28: Utilização de grupos de compostos no mês de julho de 2019, após 144h de incubação, nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). | 85 |
| Figura 3.29: Utilização de grupos de compostos no mês de janeiro e julho de 2019, após 144h de incubação, nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$)..... | 85 |

LISITA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1.1: Doenças do tomateiro provocadas por Fungos e Oomicetes..... | 11 |
| Quadro 1.2: Doenças do tomateiro provocadas por Bactérias..... | 13 |
| Quadro 1.3: Doenças do tomateiro provocadas por Vírus..... | 14 |
| Quadro 1.4: Principais pragas do tomateiro | 16 |
| Quadro 1.5: Substâncias ativas de nematodocidas químicos homologados em Portugal* .. | 26 |
| Quadro 2.1: Tratamentos utilizados no ensaio, respetivos códigos e forma de condução ... | 46 |
| Quadro 2.2: Principais características das cultivares de cada tratamento utilizadas no ensaio | 48 |
| Quadro 2.3: Lista dos sensores de temperatura do ensaio e local correspondente | 49 |
| Quadro 2.4: Sequência temporal das práticas culturais realizadas durante o ensaio..... | 50 |
| Quadro 2.5: Tratamentos utilizados no ensaio, respetivos códigos e forma de condução ... | 59 |
| Quadro 3.1: Temperatura média, valor da temperatura máxima e mínima (°C) do ar, no exterior e dentro da estufa onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, e temperatura média do solo, no exterior e dentro da estufa sem e com cobertura de filme de polietileno | 65 |
| Quadro 3.2: Variação do preço do tomate no Mercado da Região de Entre Douro e Minho (EDM) nas semanas de produção do ensaio..... | 75 |
| Quadro 3.3: Lucro obtido por cada tratamento do estudo em €/m ² | 76 |
| Quadro 3.4: AWCD média dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.) às 144h de incubação. Letras diferentes à esquerda do valor com (') , representam valores significativamente diferentes (p < 0,05) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes (p < 0,05) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos)..... | 81 |
| Quadro 3.5: Riqueza de substratos (S), dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com (') , representam valores significativamente diferentes (p < 0,05) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes (p < 0,05) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos)..... | 82 |

Quadro 3.6: Índice de diversidade de Shannon (H) nos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com ('), representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos). 83

Quadro 3.7: Uniformidade de Shannon (E) dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com ('), representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos). 83

1. INTRODUÇÃO

1.1. Agricultura biológica

A qualidade dos produtos hortícolas, a forma como são produzidos e o impacto que a sua produção causa no meio ambiente e na saúde humana é hoje uma preocupação global. Atualmente, pratica-se horticultura aplicando itinerários tecnológicos muito distintos: cultura convencional em solo, de forma mais ou menos intensiva; cultura sem solo e cultura segundo o modo de produção biológico (MPB) (Reis *et al.*, 2005)

O conceito de agricultura biológica é apresentado pela Associação Portuguesa de Agricultura Biológica (Agrobio) como sendo: *um modo de produção que visa produzir alimentos e fibras têxteis de elevada qualidade, saudáveis, ao mesmo tempo que promove práticas sustentáveis e de impacto positivo no ecossistema agrícola. Assim, através do uso adequado de métodos preventivos e culturais, tais como as rotações, os adubos verdes, a compostagem, as consociações e a instalação de sebes vivas, entre outros, fomenta a melhoria da fertilidade do solo e a biodiversidade* (Agrobio, s/data).

Segundo a IFOAM (2005), os quatro princípios da AB são:

- Princípio da Saúde: A Agricultura Biológica deverá manter e melhorar a qualidade dos solos, assim como a saúde das plantas, dos animais, dos seres humanos e do planeta como organismo uno e indivisível;
- Princípio da ecologia: A Agricultura Biológica deverá se basear nos sistemas ecológicos vivos e seus ciclos, trabalhando com eles, imitando-os e contribuindo para a sua sustentabilidade;
- Princípio da justiça: A Agricultura Biológica deverá se basear em relações justas no que diz respeito ao ambiente comum e às oportunidades de vida;
- Princípio da precaução: A Agricultura Biológica deverá ser gerida de uma forma cautelosa e responsável de modo a proteger o ambiente, a saúde e o bem-estar das gerações atuais e daquelas que não de vir.

Este modo de produção tem vindo a ser gradualmente implementado em Portugal e no mundo, substituindo o modo de produção convencional que é um modo de praticar agricultura onde prevalece a busca da maior produtividade através da utilização intensa de adubos, fertilizantes e pesticidas, o que leva a um aumento da produtividade e da eficiência agrícola a curto prazo (Mariani e Henkes, 2015).

A área e o número de produtores em MPB têm evoluído positivamente, sendo que, o último ano que há registo desta informação, foi o ano que apresentou maior área utilizada em MPB, assim como maior número de produtores em MPB em Portugal (Figura 1.1).

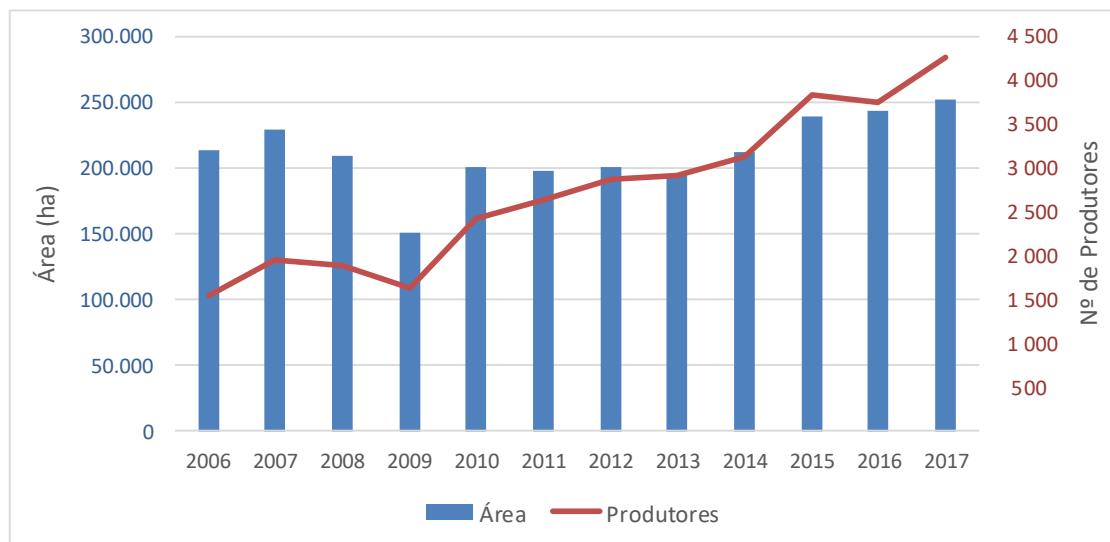


Figura 1.1: Evolução da área (ha) e número de produtores em MPB desde o ano 2006 até ao ano 2017. À esquerda lê-se a área de produção em MPB e á direita lê-se o número de produtores em MPB (DGADR, 2019)

No entanto, a produção hortícola representava, em 2017, a segunda menor percentagem de área de agricultura biológica em Portugal com 1,1%, como se pode observar na Figura 1.2. É possível verificar ainda, que as pastagens são o tipo de cultura que detém mais área em MPB em Portugal continental, apresentado uma percentagem de 58,1%, seguindo-se os frutos secos com 9,7% da área total.

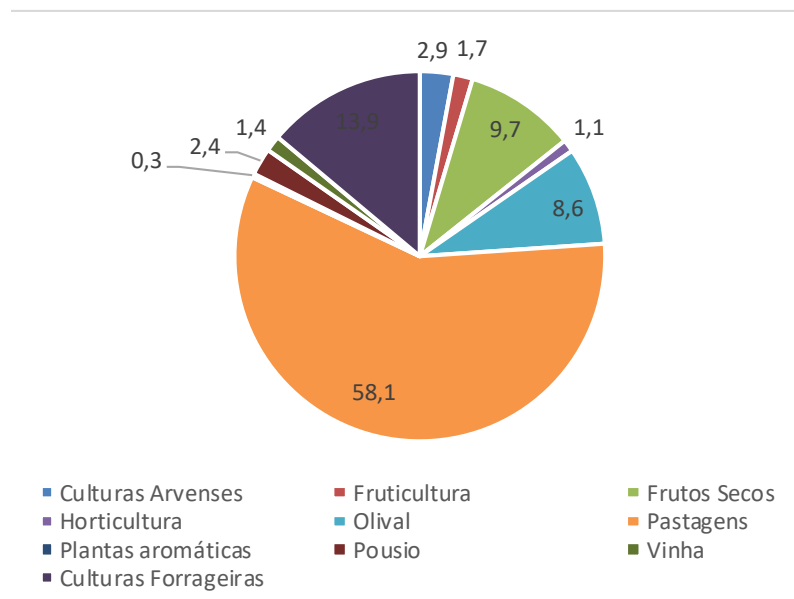


Figura 1.2: Distribuição da área em MPB por tipo de cultura, em Portugal continental, em 2017. (DGADR, 2019)

Muitos produtores estão atualmente a converter o seu modo de produção para produção biológica por várias razões, como: os produtos agrícolas biológicos vendem-se por um preço mais elevado do que os de produção convencional, reduz os custos de elementos essenciais para a produção, melhora a saúde do solo, reduz o impacto ambiental e melhora o funcionamento do ecossistema agrícola (Naika *et al.*, 2006).

Para os produtores que convertam o seu modo de produção para modo de produção biológica, é indispensável que consultem e recorram a associações como a Agrobio - Associação Portuguesa de Agricultura Biológica, para esclarecer dúvidas e informar-se um pouco mais sobre todas as temáticas que a Agricultura biológica engloba. Além da Agrobio, existem associações europeias e mundiais de agricultura biológica como a IFOAM - Organics International, FIBL - Research Institute of Organic Agriculture, entre outras. Também é fundamental para estes produtores, frequentar palestras, fóruns e centros de exposição, como feiras agrícolas e nestas destaca-se a BIOFACH – The Trade Fair For Organic Food, que é a maior feira de produtos biológicos do mundo.

Sendo um tomate um produto hortícola altamente consumido e dos mais importantes a nível nacional e europeu, é extremamente importante que se aumente o número de produtores e a área de produção em Modo de Produção Biológica. Hoje em dia, ainda existem agricultores que usam de forma indiscriminada pesticidas e adubos de síntese em produção de tomate, não tendo noção do quão prejudicial essa ação pode ser, quer para o ambiente, quer para o

Homem. Neste sentido, decorrem, ativa e constantemente, investigações para encontrar soluções alternativas para várias problemáticas presentes na produção biológica de tomate e outras culturas hortícolas, com o objetivo de facilitar e incentivar, cada vez mais este modo de produção.

1.2. Cultura do tomateiro

1.2.1. A planta

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma planta herbácea pertence à família Solanaceae, subfamília Solanoideae e anteriormente classificada como pertencente ao género *Lycopersicon* (Taylor, 1986; Gould, 1992; Rubatzzky e Yamaguchi, 1997). Contudo, a classificação taxonómica do tomateiro já foi bastante debatida, uma vez que, 15 anos após Lineu atribuir o nome *Solanum lycopersicum* ao tomateiro, Philip Miller, renomeou-o, chamando-o *Lycopersicon esculentum* (Taylor, 1986). No entanto, atualmente, com base em resultados obtidos a partir de estudos filogenéticos, utilizando sequências de DNA (Spooner *et al.*, 2005) e estudos mais aprofundados de morfologia e de distribuição das plantas, existe uma ampla aceitação entre profissionais da taxonomia e melhoramento genético da nomenclatura *S. lycopersicum* (Warnock, 1988; Peralta e Spooner, 2001).

Relativamente à sua origem, existe uma concordância entre a maioria dos estudos em que, é afirmado que as espécies selvagens do tomateiro são originárias da região dos Andes, região esta que abrange parte do Chile, Colômbia, Equador, Bolívia e Peru (Sims, 1980 citado por Costa e Heuvelink, 2005). Apesar da forma ancestral do tomateiro ter crescido na zona do Peru e Equador, a primeira domesticação parece ter ocorrido no México (Harvey *et al.*, 2002).

Quanto à sua morfologia, o sistema radicular é constituído pela raiz principal, raízes secundárias e raízes adventícias. No interior da raiz principal estão presentes três partes distintas: a epiderme, o córtex e o cilindro vascular (Lapuerta, 1995). A epiderme está especializada na absorção de água e nutrientes e geralmente apresenta extensões tubulares de células epidérmicas denominadas pelos absorventes. Debaixo da epiderme está o córtex, que, em corte transversal, é um anel constituído por uma camada de 3 a 4 células parenquimáticas. No cilindro vascular estão presentes o xilema - conjunto de vasos que transportam os elementos minerais e que formam no centro da raiz um cilindro - e o floema, constituído por vasos que transportam os fotoassimilados. As raízes secundárias surgem através do córtex da raiz principal e as adventícias formam-se principalmente a partir da base do caule em condições favoráveis (Picken *et al.*, 1986).

O caule é redondo e tem 2-4 cm de diâmetro. Apresenta um aspeto piloso e macio quando jovem, que provém da presença de pelos glandulares e não glandulares (têm origem na epiderme) e torna-se fibroso como o passar do tempo. Por baixo da epiderme, encontra-se o córtex, cujas células mais externas se caracterizam pela presença de clorofila, e, por isso, são fotossintéticas. No extremo do caule posiciona-se o meristema apical, sendo este uma zona de divisão celular ativa, onde têm origem os novos gomos foliares e florais. Apresenta uma forma de cúpula e está protegido pelas novas folhas que se vão formando (Picken *et al.*, 1986).

As folhas do tomateiro têm uma inserção alternada, são compostas, imparipinuladas, com 7 a 9 folíolos pubescentes e medem cerca de 11 a 32 cm de comprimento (Seleguini, 2005). Estas estão cobertas de pelos do mesmo tipo que os do caule e são muito aromáticas, sendo que este aroma afasta determinados insetos (Lapuerta, 1995).

1.2.2. O fruto

O tomate é uma baga plurilocular constituído por: pericarpo, tecido placentário e sementes (Lapuerta, 1995). As sementes estão imersas no tecido locular que deriva da placenta do fruto. Durante o processo de amadurecimento, é formada uma polpa gelatinosa por parte deste tecido, que, por sua vez, irá preencher as cavidades loculares do fruto. Normalmente os tomates contêm várias sementes que são lisas e apresentam uma coloração acastanhada. Estas têm um comprimento de 2 a 3 mm e são necessárias 300-350 sementes para completar 1g de peso (Rubatzky e Yamaguchi, 1997).

Na Figura 1.3 está representado um fruto com 2 lóculos, em que é possível observar o pericarpo, constituído por três camadas: epicarpo (epiderme), mesocarpo (polpa firme) e endocarpo. É nesta zona que se encontra a maior concentração de licopeno (Roca, 2009), uma substância carotenóide de cor vermelha muito benéfica para a saúde humana devido ao seu poder antioxidante e à sua capacidade de interagir com radicais livres (Shi *et al.*, 2002).

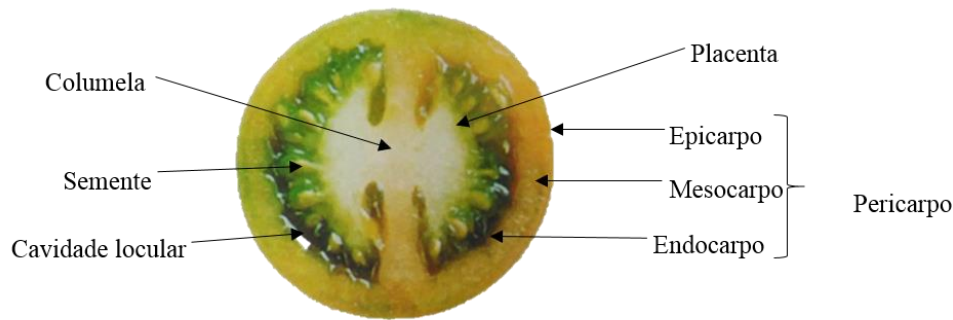


Figura 1.3: Estrutura de um tomate, em corte transversal

1.2.3. Cultivo do tomateiro

Em Portugal, o cultivo de tomate fresco em estufa predomina sobre o cultivo de ar livre, sendo que, no Norte e no Algarve, cerca de 92% e 53% da área de tomate fresco, respetivamente, é de estufa (Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural e Pescas, 2007). Normalmente, a primeira plantação de tomateiro em estufa na região Entre-Douro-e-Minho é feita em meados de fevereiro e abril e a segunda plantação entre maio e junho, permitindo assim, que a colheita se prolongue desde maio até novembro. A cultura, em estufa, é instalada por transplantação com raiz protegida, adquirindo-se as plantas, que podem ser enxertadas ou não enxertadas, em viveiros. O compasso está em geral compreendido entre 70 a 200 cm entrelinhas e 35 a 60 cm entre plantas na linha. Logo após a instalação das plantas deve-se regar abundantemente para minimizar os efeitos da crise de transplantação. Após a crise de transplantação as exigências em água são menores até à primeira inflorescência, sendo que, a partir desse momento, voltam a aumentar até ao seu máximo na formação da quarta inflorescência (Almeida, 2006).

Quanto à poda dos tomateiros, têm sido utilizados vários sistemas de condução, no entanto, destacam-se dois: condução em eixo único, que consiste em eliminar todos os ramos laterais até que a planta atinja uma altura de arame de cerca de 2 m, procedendo-se, de seguida, à despona, de maneira a favorecer o calibre dos frutos e antecipar a produção; e poda a duas hastes em que, se deixa crescer o ramo lateral que se insere imediatamente abaixo da primeira inflorescência e eliminam-se todos os ramos laterais que surgem nos dois braços. Devido à altura que as plantas atingem é necessário fazer tutoragem das mesmas, que normalmente é feita com recurso a fio de *nylon* amarrando-se uma ponta ao arame e a outra ponta é presa no solo, juntamente com a raiz no ato da plantação (Almeida, 2006).

A polinização favorece a produtividade e qualidade dos frutos. Em ambiente de estufa a polinização é mínima, pelo que, é necessário induzi-la. Um método bastante eficaz e dos mais utilizados é a introdução de colmeias de abelhões (*Bombus terrestris*) no interior da estufa, sendo estas colocadas quando surge o primeiro cacho e à razão de 1 colmeia por cada 1000 m² (Almeida, 2006).

Relativamente à colheita do tomate, é feita manualmente de forma escalonada. Os frutos podem ser colhidos com ou sem cálice, em vários estados de amadurecimento, isto é, dependendo das exigências do mercado, o tomate tanto pode ser colhido verde-maturo como completamente maduro (Almeida, 2006).

O tomate é um fruto climatérico cujo amadurecimento se inicia com o aumento da atividade respiratória, provocando transformações nas suas características físicas e químicas, entre elas a perda de clorofila, síntese de carotenóides e amolecimento dos tecidos (Hobson e Grierson, 1993). É um fruto bastante perecível e as técnicas de conservação na pós-colheita podem contribuir para minimizar perdas durante o processo de armazenamento (Camargo *et al.*, 2007). A aceitação do tomate no mercado é condicionada pela sua aparência e sabor. Isto leva a que, na avaliação da qualidade, devam ser considerados os atributos físicos, sensoriais e a sua composição química. Estas propriedades são importantes para satisfazer as exigências do consumidor, contudo, também são fulcrais no que diz respeito à seleção da genética de novas cultivares e seleção de práticas otimizadoras de produção e adequadas no maneio pós-colheita (Chitarra e Chitarra, 1990 citado por Modolon *et al.*, 2012).

1.2.4. Importância económica da cultura

Segundo a FAOSTAT (2019), em 2017, a produção de tomate em todo mundo foi de 182.301.395 toneladas, distribuída por 4.848.384 hectares. Ainda nesse ano, os 3 países com maior produção de tomate à escala global foram, respetivamente, a China, a Índia e a Turquia, sendo que Portugal ocupa a 15^a posição neste ranking (Figura 1.4) (FAOSTAT, 2019).

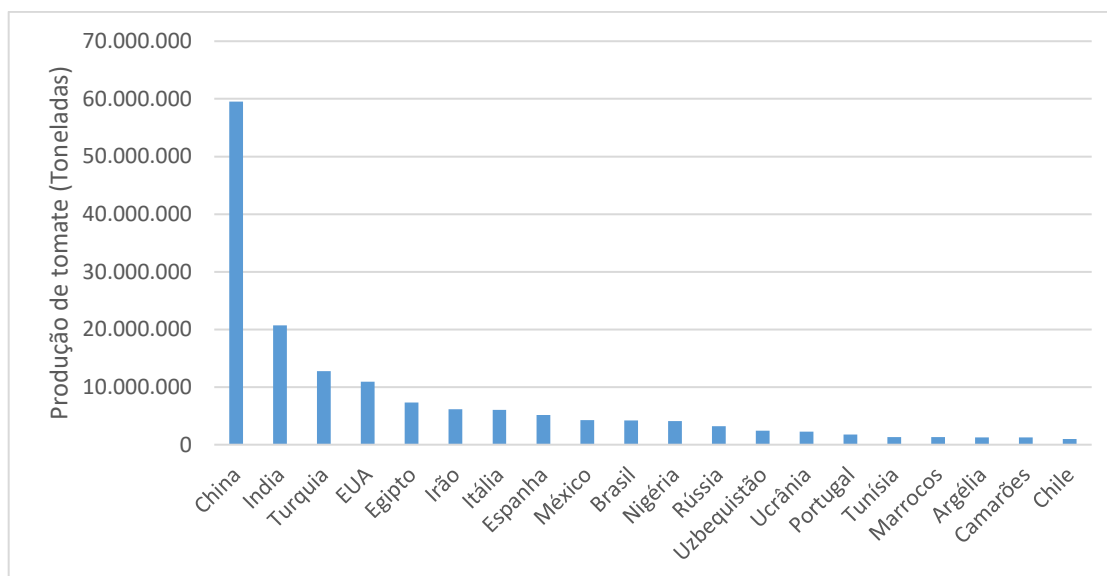


Figura 1.4: Principais países produtores de tomate no mundo em 2017 (adaptado de FAOSTAT, 2019)

Em Portugal, a produção de tomate tem vindo a aumentar nos últimos anos, quer em área, quer em peso, sendo que, 2017 foi o ano em que se plantou e produziu mais tomate com valores correspondentes a 20.870 hectares plantados e 1.747.630 toneladas de fruto (Figura 1.5). Na mesma figura é possível constatar que a produção de tomate para indústria é muito superior à produção de tomate para consumo em fresco, quer em peso, quer em área plantada. Dentro da categoria dos produtos hortícolas para consumo em fresco, o tomate foi, em 2017, a cultura hortícola com maior produção, ultrapassando as 97 mil toneladas, estando na segunda posição a cenoura (92 mil toneladas), seguida pela couve-repolho e a abóbora (ambos com produções de aproximadamente 75 mil toneladas) (INE, 2018).

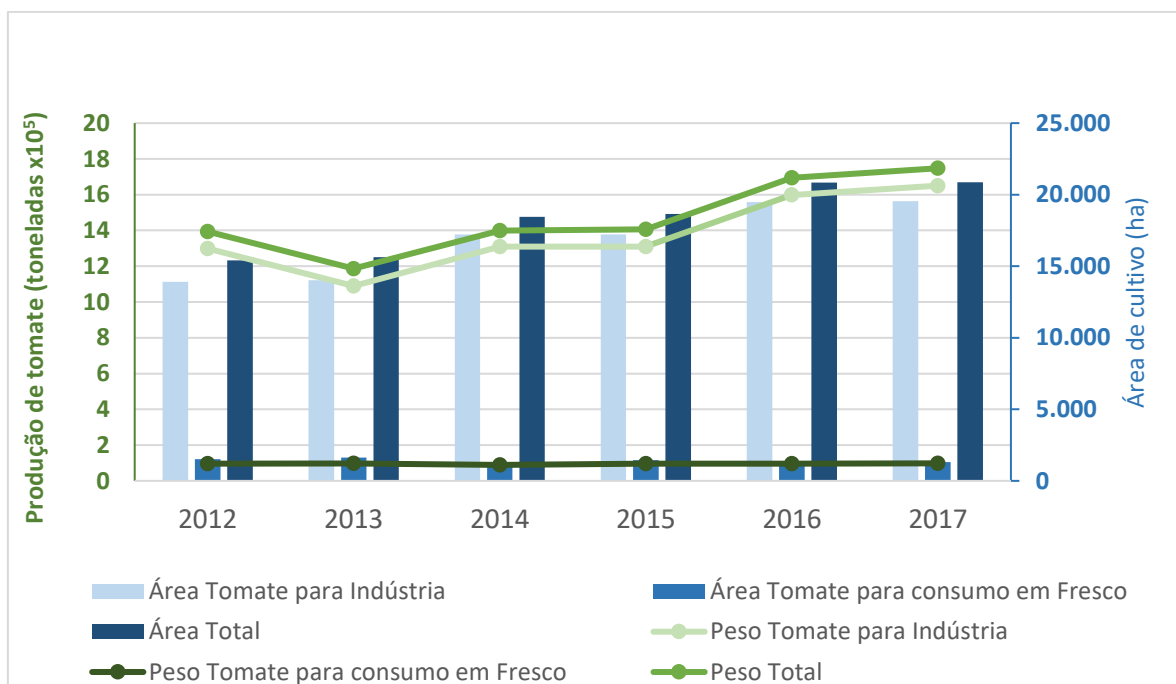


Figura 1.5: Evolução da produção de tomate para indústria e para consumo em fresco em Portugal (adaptado de FAOSTAT, 2019) em termos de peso e de área cultivada, entre 2012 e 2017. À esquerda lê-se o peso de tomate (toneladas x 10⁵) e á direita lê-se a área de produção de tomate (hectares)

Na Europa, Portugal ocupa a 5^a posição no que diz respeito à produção de tomate, tendo uma balança comercial bastante estável e positiva ao longo dos últimos anos, isto é, exporta mais do que aquilo que importa. O ano de 2015 foi o ano em que Portugal apresentou o melhor balanço quer em milhões de euros, quer em peso, isto é, a diferença entre as exportações e a importações foi a maior (Figura 1.6).

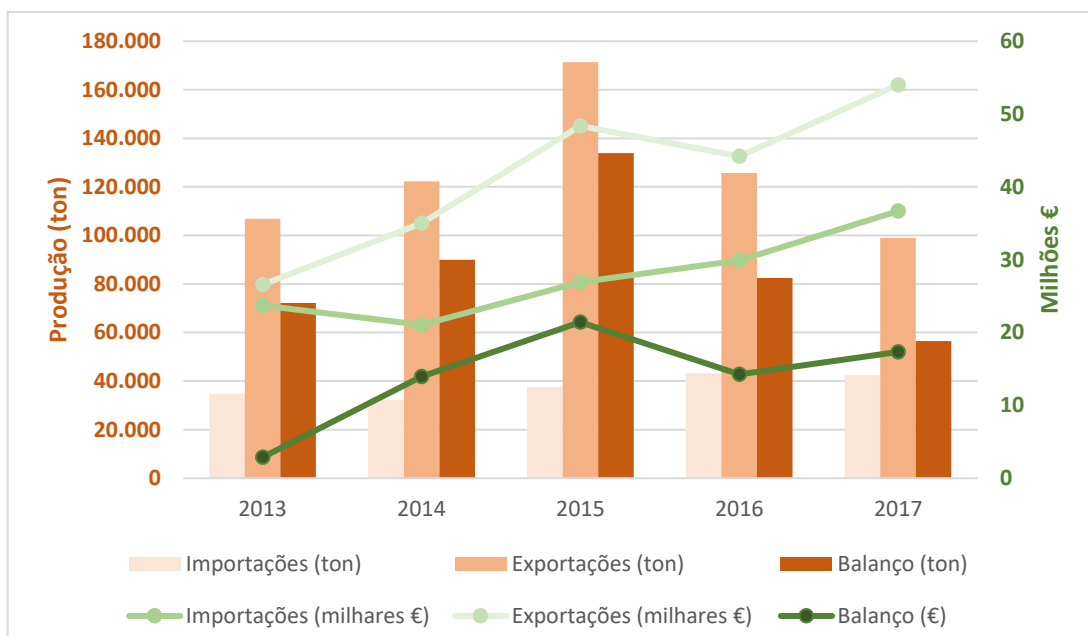


Figura 1.6: Balança comercial do tomate em Portugal. À esquerda lê-se a produção de tomate em toneladas e à direita lê-se o valor monetário em milhões de euros. (adaptado de Eurostat, 2019)

1.2.5. Pragas e doenças

Segundo Costa e Henz (2007), as doenças das plantas são anormalidades causadas por uma grande variedade de microrganismos, estando entre eles: bactérias, fungos, oomicetes, nemátodes, vírus, viróides e micoplasmas. As doenças podem ser também de natureza fisiológica, cuja causa provém da falta ou excesso de fatores essenciais para o crescimento das plantas, tais como nutrientes, água e luz.

Uma praga é um organismo animal e não microscópico que causa dano aos seres humanos, aos seus animais domesticados, culturas de alimentos ou bens materiais (Hill, 1997). Por outras palavras, quando os organismos animais competem com o ser humano por recursos ou as suas atividades interferem com os interesses dos mesmos, tornam-se pragas.

O tomateiro é uma planta que pode ser afetada por um vasto leque de pragas e doenças que causam perdas severas na produção de tomate (Filho e Inoue-Nagata, 2015). As principais doenças que afetam a cultura do tomateiro estão discriminadas nos quadros 1.1, 1.2 e 1.3, com exceção dos nemátodes-das-galhas-radiculares (NGR), uma vez que serão descritos pormenorizadamente no capítulo 1.2. As principais pragas desta cultura são apresentadas no quadro 1.4. São também apresentados nestes quadros os meios de proteção da cultura utilizados em agricultura convencional contra o ataque destes organismos.

Quadro 1.1: Doenças do tomateiro provocadas por Fungos e Oomicetes

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de proteção da cultura |
|--------------------------|---|---|---|
| Alternariose | <i>Alternaria dauci</i> sp. <i>solani</i> | As fases em que o tomateiro é mais sensível a esta doença são a planta jovem e o início do crescimento dos frutos. A base do caule começa a escurecer e aparecem manchas alongadas com centro cinzento e anéis concêntricos. Nas folhas, surgem manchas escuras cujo tamanho varia, aumentando em círculos concêntricos e rodeadas por um halo clorótico. Nos frutos, começam a aparecer manchas negras bem delimitadas que têm o seu início em redor da axila do cálice. Com o passar do tempo dá-se a destruição dos tecidos e aparecimento de um bolo negro (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | <p>Cultural: promover o arejamento das estufas, efetuar plantações pouco densas, efetuar rotações culturais, utilizar a técnica de solarização do solo (Abrantes <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Química: utilização de fitofármacos homologados e escolha correta do produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i>, 2007).</p> |
| Podridão Cinzenta | <i>Botrytis cinerea</i> | Esta doença afeta todas as partes da planta. Os tecidos infetados por esta doença cobrem-se de um mofo cinzento característico. No colo da planta formam-se podridões castanhas e húmidas. Nos folíolos parecem manchas em anéis concêntricos mais escuros. Nos caules, as infeções originam lesões alongadas escuras em depressão que podem espalhar-se e causar uma podridão mole a partir do ponto de infeção. Os frutos podem ser atingidos a partir das sépalas ou de feridas diversas, sendo as podridões que aparecem nos mesmos, húmidas e moles (Maurício e Nunes, 2001). | <p>Cultural: evitar humidades excessivas, evitar rega por aspersão, sobretudo ao fim do dia, evitar plantações muito densas, eliminar detritos vegetais infetados, evitar plantas demasiado vigorosas, controlando as adubações azotadas (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Química: utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Genética: utilizar cultivares resistentes (Maurício e Nunes, 2001).</p> |
| Oídio | <i>Leveillula taurica</i> | Na página superior das folhas infetadas desenvolvem-se manchas amareladas de forma irregular, podendo aparecer na página inferior micélio acinzentado. Infeções severas causam a morte das folhas e, por consequência, podem surgir frutos queimados e plantas murchas. As partes atingidas por esta doença escurecem e, posteriormente, dessecam e rasgam-se facilmente. Normalmente não ocorrem lesões no caule nem nos frutos (Maurício e Nunes, 2001). | <p>Cultural: evitar humidades excessivas, utilizar estufas com bom arejamento, evitar adubações azotadas excessivas, eliminar restos das culturas, evitar plantações muito densas, evitar rega por aspersão principalmente ao fim do dia (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Química: os fungicidas não são obrigatoriamente necessários para o controlo, podendo-se fazer várias aplicações no início da incidência da doença. Se o ataque for muito severo deve-se utilizar</p> |

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de proteção da cultura |
|---------------------------|---------------------------------|---|---|
| | | | produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Míldio | <i>Phytophthora infestans</i> | Os primeiros sintomas, geralmente, manifestam-se nas margens foliares e caule. Surgem nas folhas grandes manchas irregulares, de aspeto oleoso, verde-escuro, que rapidamente adquirem uma coloração acastanhada escura e consistência estaladiça. Nos frutos verdes esta doença manifesta-se por manchas castanhas acinzentadas que se espalham por toda a superfície. Numa fase mais avançada da doença, os frutos apodrecem completamente e fica coberto com um revestimento esbranquiçado e penugento (Flawn, 1987; Maurício e Nunes, 2001; Godinho <i>et al.</i> , 2006; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultural: evitar a proximidade de campos de batateira, destruir detritos da cultura, efetuar plantações pouco densas, evitar humidade excessiva, fazer tratamento de sementes e utilizar plantas sãs, praticar rotações de culturas (Maurício e Nunes, 2001). Genética: utilizar cultivares resistentes (Maurício e Nunes, 2001). Química: utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Fusariose vascular | <i>Fusarium oxysporum</i> | Nas folhas, esta doença manifesta-se pelo amarelecimento ao longo das margens de folhas mais velhas e posteriormente murchidão. No córtex desenvolvem-se lesões castanhas secas. Na superfície do caule podem-se desenvolver lesões necróticas a 10-30 cm acima da linha do solo. Os frutos apresentam um desenvolvimento muito reduzido e amadurecem ainda pequenos (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultural: usar plantas sãs, limpeza do equipamento agrícola utilizado limitando a disseminação da doença, evitar solos ácidos, eliminar plantas afetadas durante e no fim da cultura, efetuar rotações com gramíneas, utilizar a técnica de solarização do solo (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Genética: utilizar cultivares resistentes (Maurício e Nunes, 2001). |
| Suberose radicular | <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> | <i>P. lycopersici</i> infeta o sistema radicular das plantas infetadas, causando o apodrecimento das raízes menores, lesões castanhas nas raízes de tamanho médio e lesões do tipo encortiçado nas raízes maiores (Pohronezny e Volin, 1997). Esta doença afeta a absorção de nutrientes por parte da raiz, havendo assim quebras na produção (Goodenough e Maw, 1973). O crescimento da planta passa a ser mais lento, podem parecer mais velhas e apresentam sintomas muito idênticos aos da falta de água. Consequentemente, o tamanho dos frutos irá ser reduzido (Matta, 1976). | Cultural: solarização e biofumigação (Moura <i>et al.</i> , 2012), utilização de cultivares resistentes ou plantas enxertadas em porta-enxertos resistentes, realizar amontoa nas plantas infetadas com o objetivo de induzir o crescimento de raízes secundárias, eliminar as plantas e as raízes no final da cultura, desinfetar todos os utensílios agrícolas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |

Quadro 1.2: Doenças do tomateiro provocadas por Bactérias

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de luta |
|--------------------------------|----------------------------------|---|--|
| Mal murcho do tomateiro | <i>Ralstonia solanacearum</i> | O sintoma mais típico desta doença é a murchidão rápida da planta de cima para baixo. As folhas murcham, começando pelo topo da planta, principalmente nas horas mais quentes do dia, podendo ocorrer uma recuperação durante a noite. À medida que o tempo passa, a planta murcha de forma irreversível e morre. Quando esta doença ocorre em condições desfavoráveis para o agente patogénico, a murchidão pode ocorrer apenas em certas partes da planta e as folhas começam por ficar amareladas, sendo muitas vezes, neste caso, confundida com outras doenças vasculares (Lopes e Rossato, 2013). | Cultural: eliminar plantas infetadas, eliminar infestantes, principalmente solanáceas, recorrer a técnicas que evitem a alcalinização do solo, desinfetar alfais e equipamentos agrícolas que tenham estado em contacto com locais onde a doença tenha sido detetada, não regar com água contaminada ou que passe na proximidade de parcelas infestadas, efetuar rotações de culturas que não incluam solanáceas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Cancro bacteriano | <i>Clavibacter michiganensis</i> | Os sintomas do cancro bacteriano normalmente são mais evidentes a partir do início da frutificação. Um dos primeiros sintomas que se observam é o aparecimento de necroses nas bordas das folhas evoluindo para o enrolamento e murchidão destas. Quando o caule é seccionado transversalmente, é possível observar o escurecimento na zona dos vasos. Os frutos apresentam lesões circulares de cor acastanhada e com um halo branco (Lopes, 2017). | Cultural: utilizar sementes certificadas e plantas sãs, eliminar as plantas atacadas, evitar rega por aspersão, no fim da colheita deve-se eliminar os restos das culturas, evitar adubações excessivas, evitar grandes densidades de sementeira, desinfetar alfais e equipamentos agrícolas que tenham estado em contacto com locais onde a doença tenha sido detetada. (Abrantes <i>et al.</i> , 2007; Lopes, 2017). Química: utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Medula-negra | <i>Pseudomonas corrugata</i> | As plantas começam por apresentar cloroses podendo murchar e morrer, no entanto, se a infeção não for severa, a planta pode continuar a produzir. O sintoma mais característico desta doença é observado no caule e para isso é necessário fazer um corte longitudinal do mesmo, que apresenta uma descoloração castanha na medula. Quando há infeção na inserção da folha com o caule, a folha apresenta coloração amarela e, após o desenvolvimento do agente patogénico, todo o tecido necrótico, murcha e seca (Marcuzzo e Becker, 2016). | Cultural: utilizar estufas com bom arejamento, efetuar a plantação em linhas simples e com um compasso adequado à época do ano, utilizar sementes e plantas sãs, evitar a humidade excessiva do solo, desinfetar alfaias, utensílios agrícolas e luvas de proteção com uma solução d lixívia, destruir plantas infetas e/ou mortas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de luta |
|----------------------------|--|---|---|
| | | | Química: utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Ponteado bacteriano | <i>Pseudomonas syringae pv. tomato</i> | O ponteado bacteriano infeta todos os órgãos da parte aérea da planta. Os primeiros sintomas observam-se nas folhas localizadas mais abaixo na planta, onde se notam manchas arredondadas de 2 a 3 mm de coloração escura. Quando a infeção ocorre nos pecíolos ou pedúnculos, a lesão é alongada e apresenta coloração bastante escura. Quando o pedúnculo das flores é atacado, pode ocorrer a queda das mesmas. Nos frutos, são observadas lesões pretas, normalmente com diâmetro menor que 1mm, ligeiramente elevadas e superficiais. Os frutos que são atacados no início do desenvolvimento, têm grande probabilidade de ficarem deformados (Marcuzzo e Becker, 2016). | Culturais: utilizar estufas com bom arejamento, utilizar sementes e plantas sãs, desinfetar alfaías, utensílios agrícolas e luvas de proteção com uma solução d lixívia, destruir plantas infetas e/ou mortas, eliminar infestantes nas parcela e bordaduras, efetuar rotações de culturas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Química: utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |

Quadro 1.3: Doenças do tomateiro provocadas por Vírus

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de luta |
|----------------------------------|---|---|--|
| Bronzeamento do tomateiro | <i>Tomato spotted wilt virus (TSWV)</i> | A sintomatologia do TSWV nem sempre é evidente. Tipicamente, os primeiros sintomas desta doença caracterizam-se pela clorose das folhas jovens, que adquirem posteriormente coloração castanho – dourada com brilho metálico (bronzamento). Pode também ocorrer crescimento assimétrico do caule. Nos frutos maduros aparecem manchas cloróticas frequentemente com anel concêntrico (Maurício e Nunes, 2001; Mateus <i>et al.</i> , 2006; Ramalhete e Cortez, 2007). | Cultural: utilizar plântulas isentas de vírus e tripses, eliminar infestantes no interior e exterior das estufas, realizar rotação de culturas utilizando culturas que não sejam hospedeiras do vírus, colocar redes antitripses nas entradas e aberturas laterais das estufas e viveiros, mobilizar o solo e efetuar a solarização antes da plantação da cultura, utilizar armadilhas cromotrópicas, utilizar plantas indicadoras da presença do vírus (petúnia e faveira; Mateus <i>et al.</i> , 2006; Maurício e Nunes, 2001; Ramalhete e Cortez, 2007). Química: utilizar inseticidas homologados e aconselhados em proteção integrada, logo que se suspeite da presença do vírus e de tripses. No final da cultura, antes de arrancar as |

| Doença | Agente Patogénico | Sintomas | Meios de luta |
|-------------------------------------|--|--|--|
| | | | plantas, tratar com inseticida de modo a proteger a cultura seguinte (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Frisado amarelo do tomateiro | <i>Tomato yellow leaf curl virus</i> (TYLCV) | As plantas apresentam um crescimento lento e fraco. Se o ataque for precoce, as plantas podem ficar ananizadas e não frutificar. As folhas apresentam folíolos pequenos, frisado e enrolados para cima. Dá-se o abortamento de um grande número de flores e os frutos são pequenos com coloração pálida e muitas vezes sem valor comercial (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultura: utilizar plântulas isentas de vírus e moscas brancas, plantar em épocas de menor infestação de mosca branca, colocar redes de exclusão de malha apropriada nas entradas e aberturas laterais das estufas e viveiros, realização de inspeções minuciosas às folhas, intervaladas de poucos dias, utilizar placas cromotrópicas amarelas para monotorização do vetor (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Química: tratar com produtos homologados logo que se suspeite da presença da mosca branca, durante as primeiras seis semanas após a instalação das culturas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Amarelo do tomateiro | <i>Tomato chlorosis virus</i> (ToCV) | Os sintomas desta doença induzem muitas vezes o agricultor em erro uma vez que se caracterizam pelo amarelecimento e envelhecimento precoce das plantas, sintomatologia esta associada a desequilíbrios fisiológicos e a deficiências nutricionais. Nas folhas aparecem manchas cloróticas irregulares tronando-as espessas e quebradiças. Nos frutos apenas se observa o atraso da maturação (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultural: utilizar plântulas isentas de vírus e moscas brancas, plantar em épocas de menor infestação de mosca branca, colocar redes de exclusão de malha apropriada nas entradas e aberturas laterais das estufas e viveiros, realização de inspeções minuciosas às folhas, intervaladas de poucos dias, utilizar placas cromotrópicas amarelas para monotorização do vetor (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Química: tratar com produtos homologados logo que se suspeite da presença da mosca branca, durante as primeiras seis semanas após a instalação das culturas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |

Quadro 1.4: Principais pragas do tomateiro

| Praga | Família | Sintomas | Meios de luta |
|--|---------------|--|---|
| Aranhinho vermelho (<i>Tetranychus urticae</i>) | Tetranychidae | Os ataques do aranhinho vermelho, são mais graves quando acontecem nos primeiros estados fenológicos da planta. As folhas começam a apresentar uma coloração amarelada havendo algumas zonas necróticas. As nervuras mais grossas permanecem intactas, no entanto, pode haver perdas de produção, uma vez que, há menor taxa de fotossíntese, secagem e queda das folhas (Berlinger, 1986; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultural: eliminar infestantes e restos de culturas, evitar adubações azotadas excessivas, antes da plantação deve-se tratar o solo da estufa, efetuar rotações de culturas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Química: tratar com acaricidas específicos quando os ácaros aparecem nas suas formas móveis, selecionar a substância ativa consoante o modo de ação e o estado de desenvolvimento da praga, realizar tratamentos localizados quando o foco de infestação está bem delimitado, utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados e escolher corretamente o produto de acordo com a sua substância ativa (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Biológica: utilizar o ácaro <i>Phytoseiulus persimilis</i> em largadas quando estes ou outros auxiliares não são suficientes para controlar a praga (Maurício e Nunes, 2001). |
| Afídeos (<i>Aphis gossypii</i> ; <i>Myzus persicae</i> ; <i>Macrosiphum euphorbiae</i>) | Aphididae | As folhas apresentam um fraco desenvolvimento, amarelecem e enrolam sobre a página inferior, sendo que o seu interior serve de proteção aos afídeos. Ataques muito severos podem afetar drasticamente a produção ou até causar a morte das plantas infestadas. A atividade desta praga leva, por vezes, ao aparecimento de fumagina que pode provocar uma diminuição da fotossíntese, afetando, conseqüentemente, o desenvolvimento da planta. Os danos diretos dos afídeos são reduzidos, no entanto, estes são vetores de alguns vírus altamente prejudiciais (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007; Moura <i>et al.</i> , 2014). | Cultural: aplicar nas entradas da estufa, assim como em todas as partes abertas, rede de exclusão de insetos e eliminar infestantes e restos de culturas anteriores (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Biológica: utilizar de inimigos naturais – Parasitóides: <i>Aphidius colemani</i> . Predadores: <i>Chrysoperla carnea</i> ; <i>Aphidoletes aphidimyza</i> ; <i>Harmonia axyridis</i> ; <i>Coccinella septempunctata</i> e larvas da família <i>Syrphidae</i> (Maurício e Nunes, 2001). Biotécnica: utilizar armadilhas cromotrópicas amarelas Química: ter em conta os insetos auxiliares e polinizadores no momento da tomada de decisão, efetuar tratamento quando aparecem os primeiros focos de infestação, utilizar apenas produtos homologados e alternando-os de acordo com os diferentes modos de ação (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Larva Mineira (<i>Liriomyza huidobrensis</i> ; | Agromyzidae | A larva mineira alimenta-se do parênquima foliar, dando origem a minas em forma de serpentina nas folhas (Moura <i>et al.</i> , 2014). Picadas ou ponteados presentes nas folhas também são sintomas desta praga. Quando o | Cultural: realizar rotação de culturas, eliminar os restos da cultura anterior, mobilização do solo mais profunda, solarização, colocação de redes de exclusão em todas as entradas e aberturas da estufa (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |

| Praga | Família | Sintomas | Meios de luta |
|--|-------------|---|--|
| <i>Liriomyza bryoniae</i> ; <i>Liriomyza trifolii</i> | | ataque é muito severo, as folhas começam a apresentar necroses, secando e caindo de forma precoce. As galerias, picadas de alimentação e orifícios de saídas das larvas, representam pontos de entrada de agentes patogênicos (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007; Moura <i>et al.</i> , 2014). | Biológica: utilizar inimigos naturais – Endoparasita: <i>Dacnusa sibirica</i> . Ectoparasita: <i>Diglyphus isaea</i> (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Biotécnica: utilizar armadilhas cromotrópicas amarelas (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Química: na tomada de decisão, ter em conta insetos polinizadores e fauna auxiliar presente na estufa, utilizar apenas produtos homologados e alternando-os de acordo com os diferentes modos de ação (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Mosca Branca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> ; <i>Bemisia tabaci</i>) | Aleyrodidae | Aparecimento de fumagina, nas folhas, flores e frutos associado à secreção de melada. Nas folhas, dá-se o aparecimento de cloroses provocadas por larvas e adultos. Quando o ataque é muito intenso, pode haver problemas de desidratação e paragem de crescimento, havendo consequências para a produção. Os frutos sofrem irregularidades de na coloração, assim como, perturbações fisiológicas na maturação. (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). | Cultural: eliminação das infestantes hospedeiras, limpeza de restos da cultura, se possível, fazer a plantação longe de culturas hospedeiras, efetuar rotações culturais, instalar a cultura em épocas com menor risco de ataque da praga, colocação de redes de exclusão em todas as entradas e aberturas da estufa, remover e destruir as folhas basais infestadas com larvas (Maurício e Nunes, 2001; Abrantes <i>et al.</i> , 2007). Biológica: utilização de inimigos naturais - Parasitóides: himenópteros da família <i>Aphelinidae</i> dos géneros <i>Eretmocerus</i> e <i>Encarsia</i> . Predadores: <i>dicyphus cerastii</i> , ácaros da família <i>Phytoseiidae</i> dos géneros <i>Amblyseius</i> e <i>Typhlodromus</i> , insetos neurópteros da família <i>Chrysopidae</i> do género <i>Chysopa</i> , coleópteros da família <i>Coccinellidae</i> dos géneros <i>Brumus</i> e <i>Serangium</i> , heterópteros <i>Anthocoris nemorum</i> e <i>Geocoris punctipes</i> , larvas de sirfídeos (Maurício e Nunes, 2001). Biotécnica: utilizar armadilhas cromotrópicas amarelas Química: na tomada de decisão, ter em conta insetos polinizadores e fauna auxiliar presente na estufa, utilizar apenas produtos homologados e alternando-os de acordo com os diferentes modos de ação (Abrantes <i>et al.</i> , 2007). |
| Tuta (<i>Tuta absoluta</i>) | Gelechiidae | Os danos desta praga notam-se nas folhas e nos frutos e são causados pelas larvas. Nas folhas formam minas e alimentam-se do interior destas, podendo destruí-las completamente. A larva da tuta penetra os frutos (ainda não maduros) junto ao cálice e observam-se pequenos orifícios de entrada alimentando-se do mesófilo, | Cultural: eliminar dos restos das culturas anteriores, realizar rotação de culturas, eliminar infestantes e evitar instalar cultura perto de culturas da mesma família (Freire, 2015). Biológico: utilizar inimigos da cultura como o parasita <i>Trichogramma pretiosum</i> , associado à aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Silva <i>et al.</i> , 2006). |

| Praga | Família | Sintomas | Meios de luta |
|-------|---------|--|--|
| | | deixando a epiderme intacta. Quando as infestações são fortes, esta praga pode destruir toda a cultura (Silva <i>et al.</i> , 2006; Freire, 2015). | Química: utilizar apenas produtos homologados para a praga e cultura em causa, aplicar os produtos após a deteção da praga, alternar substâncias ativas entre diferentes produtos homologados (Silva <i>et al.</i> , 2006; Freire, 2015). |

A Agricultura Biológica prioriza a prevenção e, a prevenção de danos causados por pragas, doenças e infestantes, deve-se focar essencialmente na proteção dos predadores naturais (auxiliares das culturas), na escolha das espécies e variedades, na rotação das culturas, nas técnicas de cultivo e em processos térmicos, sendo que uma correta gestão da cultura é crucial. Sempre que a proteção das plantas contra pragas e doenças não seja possível através de medidas preventivas, adotam-se meios de luta química, biológica e biotécnica, em que apenas se podem utilizar produtos fitofarmacêuticos homologados em Portugal e cujas substâncias ativas se encontrem permitidas, em agricultura no Modo de Produção Biológico (DGADR, 2017).

1.3. Nemátodes-das-galhas-radiculares (*Meloidogyne* spp.)

Existem mais de 4100 espécies de nemátodes fitoparasitas descritos (Decraemer e Hunt, 2006) que conjuntamente representam uma restrição importante à segurança alimentar global. Os danos causados por nemátodes fitoparasitas foram estimados em 80 mil milhões de dólares americanos por ano (Nicol *et al.*, 2011). No entanto, este número pode não ser real, uma vez que, muitos produtores, principalmente em países menos desenvolvidos, desconhecem estes microrganismos.

Um dos nemátodes fitoparasitas mais importantes a nível mundial é o nemátode-das-galhas-radiculares (*Meloidogyne* spp.) (NGR) (Jones *et al.*, 2013). Os NGR são animais que constituem uma grave doença para várias culturas hortícolas e entre elas está o tomateiro (Nicol *et al.*, 2004). Como o seu nome sugere, estes nemátodes induzem a formação de galhas nas raízes de diversas plantas (Abrantes *et al.*, 2007). Estes seres são animais endoparasitas sedentários que se encontram distribuídos por todo o mundo, sendo mais abundantes em zonas com clima tropical, subtropical e temperado. Esta doença é responsável por grandes prejuízos na agricultura, não só pelo seu efeito patogénico e pela grande diversidade de culturas hospedeiras, mas também pela dificuldade do combate à mesma (Trudgill e Blok, 2001).

1.3.1. Distribuição e importância económica na cultura do tomateiro

Os NGR são encontrados em vários habitats e regiões do globo (Conceição *et al.*, 2012; Inácio *et al.*, 2018) e apresentam uma grande importância económica, uma vez que, causam reduções muito significativas na quantidade e qualidade de várias culturas hortícolas, frutícolas e plantas ornamentais, atacando raízes e tubérculos (Oka *et al.*, 2000; Conceição

et al., 2012). Estes danos e as perdas de produção causadas por nemátodes são, normalmente, maiores em regiões de clima tropical do que em regiões de clima temperado, uma vez que, há maior diversidade de espécies de nemátodes e outros agentes fitopatogénicos e as condições ambientais são mais favoráveis para colonização, desenvolvimento, reprodução e dispersão dos mesmos (De Waele e Elsen, 2007).

Em Portugal, até ao momento, foram identificadas oito espécies de nemátodes do género *Meloidogyne*: *M. arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. hapla*, *M. hispanica*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. luci* e *M. lusitanica*, sendo que as mais comuns são *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* (Inácio *et al.*, 2018).

Meloidogyne spp, dentro de todos os géneros de nemátodes, representam a maior ameaça para as culturas hortícolas, inclusive o tomateiro (Aydinli e Mennan, 2016). Quatro espécies deste género (*M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. mali* e *M. enterolobii*) são consideradas organismos de quarentena pela EPPO - *European and Mediterranean Plant Protection Organization*, organização esta responsável pela cooperação e harmonização na proteção de plantas na região europeia e mediterrânea (Moens *et al.*, 2009; Wesemael *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2013; Inácio *et al.*, 2018). A EPPO elaborou uma lista que é atualizada anualmente, onde identifica organismos, entre eles, bactérias, fitoplasmas, fungos, vírus, insetos, nemátodes, gastrópodes e plantas, extremamente perigosos para as culturas, classificando-os como organismos de quarentena. Esta organização internacional recomenda que os seus países membros regulem as pragas listadas pela mesma, como pragas de quarentena (EPPO, 2019).

Existem vários estudos que comprovam os danos elevados que os NGR provocam às culturas hortícolas. Sikora e Fernandez (2005), realizaram um estudo onde testaram várias culturas e chegaram à conclusão de que as perdas específicas variaram entre 17% a 20% em beringela, 18% a 33% para o melão e 24% a 38% para o tomate. Em Portugal, na região do Algarve, são conhecidas perdas de até 100% devidas ao ataque de NGR em estufas de produção de tomate em fresco (Sofia Costa, comunicação pessoal).

Salazar-Anton e Guzmán-Hernández (2013), concluíram, numa experiência em que determinaram a relação entre densidade inicial e densidade final de *Meloidogyne* spp. na cultura do tomate, que uma densidade de 620 nemátodes / 100 g de solo resulta numa redução dos ganhos económicos, tornando-os inferiores aos custos de produção, resultando assim em prejuízos para o produtor. Já Greco e Di Vito (2009) citado por Jones *et al.*, 2013, consideram

que, o ponto em que as perdas de produção tornam a produção agrícola não rentável, podem ser tão baixos quanto 1 ovo / 100 cm³ de solo. Também Charegani *et al.* (2012) realizaram um estudo no Irão, em que inocularam diferentes concentrações de *M. incognita* e *M. javanica* em tomate, pepino, pimenta, cedro e manjeriço, chegaram à conclusão de que 4 ovos e J2 de *M. incognita* ou *M. javanica* por g de solo, reduziram o comprimento da parte aérea dos tomateiros assim como os seus pesos frescos e seco.

Hema e Khanna (2018), estimaram a severidade dos danos, em termos de perdas de produção, dos NGR em plantas de tomateiro, através de um estudo feito num campo de ensaio durante 2016 e 2017, chegando à conclusão de que em média, as perdas rondaram os 35,2 e 37,4% respetivamente. Na Turquia, foram relatadas perdas de produção correspondentes a 80% em campos de produção de tomate para indústria (Kaşkavalcı, 2007). No nordeste de Espanha registaram-se, para uma densidade de 4750 nemátodes juvenis / 250 cm³ de solo, perdas de produção de 61% em estufas de produção de tomate (Verdejo-Lucas *et al.*, 1994).

São várias as vezes que os agricultores têm perdas elevadas devido ao desconhecimento da existência destes seres no seu solo, o que leva os mesmos a não implementar uma gestão eficaz com técnicas culturais preventivas contra esta doença. Assim, devem ser tomadas medidas de consciencialização, bem como, de gestão dos NGR para minimizar perdas económicas dos agricultores (Hema e Khanna, 2018).

1.3.2. Ciclo da doença e patogenicidade

O ciclo de vida dos NGR contém seis estádios de desenvolvimento e completa-se em 22-30 dias, sendo altamente influenciado pela temperatura do solo durante este período de tempo (Moens *et al.*, 2009).

Inicia-se com a postura dos ovos pela fêmea, à superfície da raiz, numa massa de consistência gelatinosa designada de massa de ovos, que mantém os ovos juntos e protege-os de condições ambientais extremas e dos predadores (Figura 1.7) (Moens *et al.*, 2009).



Figura 1.7 - Radícula de tomateiro com massas de ovos tingidas a vermelho

O desenvolvimento do ovo começa dentro de algumas horas após a postura, originando-se após o desenvolvimento embrionário, um nemátode do primeiro estágio juvenil (J1) que permanece enrolado no seu interior. O J1 sofre uma muda ainda dentro do ovo (Figura 1.8), originando o 2º estágio juvenil (J2) que eclode (Figura 1.9). Após a eclosão, o nemátode J2 apresenta mobilidade e resistência a condições adversas, deslocando-se no solo até encontrar a raiz de uma planta hospedeira, sendo este atraído por fitoquímicos libertados pelas raízes (Triantaphyllou, 1973; Bird & Opperman, 1998).



Figura 1.8: Nemátode J2 dentro do ovo



Figura 1.9: Nemátode J2 no momento da eclosão

Este estágio é uma das fases mais importantes no ciclo de vida dos NGR e na sua inter-relação com o hospedeiro. A sua sobrevivência, o tempo de duração da sua geração e a sua capacidade de infetar o hospedeiro, podem ser afetadas por qualquer fator que influencie este processo (Conceição *et al.*, 2012), por exemplo, a atividade dos nemátodes no solo depende da humidade, isto é, vivem, migram e invadem raízes, tornando-se metabolicamente inativos

quando o solo está seco (Triantaphyllou, 1973). Chegando à raiz, o J2 migra até à região onde o tecido vascular se encontra diferenciado e torna-se sedentário. Através do estilete, libertam um conjunto de secreções no interior das células radiculares, levando a um aumento do tamanho das células (hipertrofia) e à intensa multiplicação celular (hiperplasia), dando origem às “células gigantes” e levando à formação de galhas (Trudgill e Blok, 2001). Após se começar a alimentar, o nemátode juvenil J2 torna-se sedentário e aumenta de tamanho. No mesmo local, ocorrem mais 3 mudas, dando origem, respetivamente, aos jovens do terceiro estágio (J3), quarto estágio (J4) e à forma adulta. Sendo sexualmente indiferenciados enquanto J2, o sexo destes define-se entretanto. É favorecida a diferenciação de fêmeas quando há disponibilidade de alimento, uma vez que a função reprodutiva implica um maior dispêndio de energia. Pelo contrário, forma-se um maior número de machos quando a disponibilidade de alimento é reduzida (Eisenback e Triantaphyllou, 1991).

O macho de *Meloidogyne* spp. torna-se vermiforme durante a terceira muda, permanecendo assim até adulto. O seu comprimento varia entre 1 100 a 2000 μm e apresenta lábios distintos e estiletos fortemente desenvolvidos (Mitkowski e Abawi, 2011). Estes tornam-se móveis e migram para o solo. O metabolismo do seu corpo permite-lhes que respondam a estímulos ambientais e se movam até uma fêmea para se reproduzirem (Moens *et al.*, 2009). Algumas espécies de *Meloidogyne* spp. reproduzem-se por partenogénese e conseguem formar ovos viáveis sem que sejam fecundados, não sendo os machos necessários para completar o ciclo de vida (Mitkowski e Abawi, 2011).

As fêmeas dos NGR são sedentárias, isto é, ao instalarem-se no sítio de alimentação, estas permanecem no interior das raízes de forma permanente, alimentando-se das “células-gigantes”. Têm forma globosa e o seu diâmetro varia entre 400 a 1000 μm (Figura 1.10). Em consequência do processo de alimentação, aumentam de tamanho e rompem a epiderme da raiz (Figura 1.11). Posteriormente começam a postura de ovos à superfície da raiz, reiniciando-se assim o ciclo de vida (Figura 1.12) dos NGR (Moens *et al.*, 2009; Mitkowski e Abawi, 2011).



Figura 1.10: Fêmea adulta do género *Meloidogyne* destacada da galha



Figura 1.11: Fêmea adulta do género *Meloidogyne* inserida numa galha de uma raiz de tomateiro

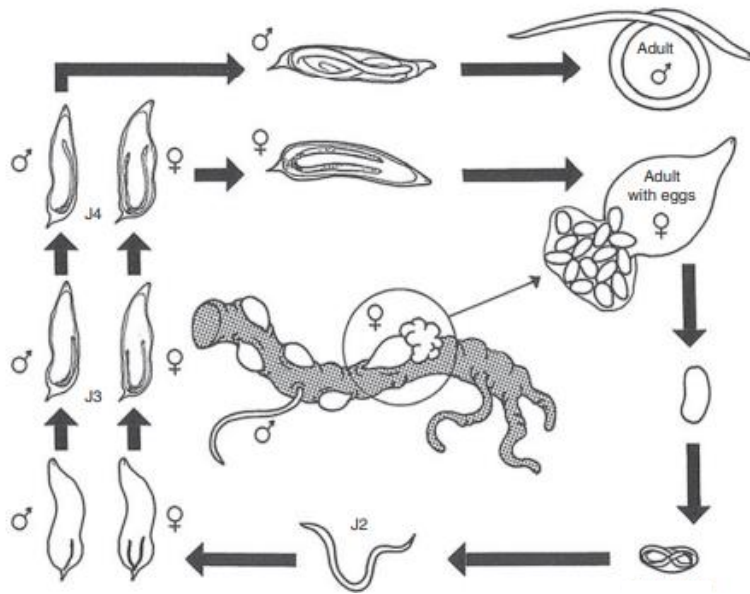


Figura 1.12: Esquema do ciclo de vida dos NGR (Fonte: Adaptado de Moens *et al.*, 2009)

1.3.3. Efeitos no crescimento e na fisiologia da planta hospedeira

Os efeitos e o nível de danos causados pelos NGR dependem de vários fatores, como a densidade populacional, virulência da espécie e resistência da planta hospedeira. Além destes, existem outros fatores externos que podem influenciar a gravidade do ataque dos NGR: clima, disponibilidade de água, condições do solo, fertilidade do solo e presença de outras pragas e doenças (Coyne *et al.*, 2007).

Os NGR interferem na atividade da planta logo após penetrarem a raiz e se começarem a alimentar. O aumento na atividade metabólica nas células gigantes provoca a mobilização de produtos fotossintéticos dos rebentos para as raízes (Hofmann e Grundler, 2007), induzindo a formação de galhas e desregulando o seu funcionamento no que diz respeito à absorção de nutrientes e água (Coyne *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2013; Costa, 2015).

O aparecimento de galhas na raiz é o sintoma mais característico dos NGR que, por sua vez, se reflete no crescimento da planta, provocando a redução na qualidade e quantidade dos frutos e tornando-a mais vulnerável à ação de outros agentes patogénicos (Moens *et al.*, 2009). Por exemplo, têm sido relatadas algumas relações entre *Meloidogyne* spp. e *Fusarium oxysporum*, assim como, interações com *Rhizoctonia solani* e *Thielaviopsis basicola* (Back *et al.*, 2002; Castillo *et al.*, 2003).

Os sintomas que se podem observar na parte aérea da planta incluem a atrofia do crescimento, murchidão e descoloração das folhas (Jones *et al.*, 2013; Kepenekci *et al.*, 2018). No entanto, estes não são sintomas específicos sendo facilmente confundidos com sintomas provocados por outros fatores bióticos e abióticos como, a falta de água no solo ou a carência de nutrientes (Coyne *et al.*, 2007).

1.3.4. Meios de proteção da cultura contra o ataque de NGR

Para controlar esta doença são utilizados diferentes tipos de luta: luta legislativa, luta química, luta cultural e luta biológica (Moens *et al.*, 2009; Wesemael *et al.*, 2011; Seide *et al.*, 2015).

1.3.4.1. Luta legislativa

A melhor maneira de combater os NGR é a prevenção. Nesse sentido, de forma a evitar a introdução e o aumento da disseminação dos nemátodes economicamente importantes noutros locais do globo, foram criadas medidas legislativas. Algumas espécies de nemátodes do género *Meloidogyne* estão classificadas como organismos de quarentena, o que obriga ao cumprimento de algumas regras específicas no que diz respeito ao transporte de plantas e à sua comercialização. As quatro principais espécies de NGR não são reguladas, uma vez que, estas já estão distribuídas globalmente, contudo, *M. chitwoodi* e *M. fallax*, *M. mali* e *M. enterolobii* são considerados organismos de quarentena (Moens *et al.*, 2009; Wesemael *et al.*, 2011; Diretiva 2000/29 / CE da CE; EPPO, 2019). Devido a esta medida, muitas vezes

é evitado o transporte destas duas espécies para outras regiões do globo, através de inspeções realizadas antes da sua comercialização (Coyne *et al.*, 2009).

1.3.4.2. Luta química

A luta química, embora seja a mais eficaz, é cada vez menos utilizada nível internacional. A crescente preocupação com os resíduos de pesticidas na cadeia alimentar, riscos para a saúde humana, impacto adverso no meio ambiente e a sua persistência no mesmo (Haseeb e Butool, 1996; Akhtar, 1997; Wesemael *et al.*, 2011), levaram à proibição do brometo de metilo na Europa, assim como, de outros compostos nocivos que eram utilizados para fumigar o solo (Wesemael *et al.*, 2011; Nicol *et al.*, 2011) No entanto, em Portugal ainda é permitido o uso de alguns nematodocidas químicos dos quais, alguns apresentam substâncias ativas nocivas para o meio ambiente, estando as mesmas discriminadas no quadro 1.5.

Quadro 1.5: Substâncias ativas de nematodocidas químicos homologados em Portugal*

| <u>Substância ativa</u> | <u>Perigos</u> | <u>Cuidados recomendados</u> | <u>Modo de ação</u> |
|----------------------------|--|---|--------------------------|
| Dazomete** | | Não contaminar as águas | Atua por fumigação |
| Emamectina benzoato | Muito tóxico para organismos aquáticos. | Não contaminar as águas; não aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água. | Nematodocida preventivo |
| Fenamifos** | Muito perigoso para abelhas; muito perigoso para organismos aquáticos; muito perigoso para aves; muito perigoso para fauna selvagem. | Não contaminar as águas; não aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água; impedir o acesso de animais às áreas tratadas durante, pelo menos, 6 semanas. | Atua por contacto |
| Fluopirame** | Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros | | Nematodocida e fungicida |
| Metame-sódio** | Perigoso para organismos aquáticos. | Não contaminar as águas; não aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água | Atua por fumigação |
| Oxamil** | Muito perigoso para abelhas; perigoso para organismos aquáticos; muito perigoso para aves. | Não contaminar as águas; não aplicar em terrenos agrícolas adjacentes a cursos de água; impedir o acesso de animais às áreas tratadas durante, pelo menos, 14 dias. | Atua por contacto |

* Adaptado de DGAV, 2019

** Homologado para a cultura do tomateiro

1.3.4.3. Luta cultural

Relativamente à luta cultural, existem vários métodos para gerir o ataque dos nemátodes. Um deles é a prática da rotação de culturas, em que se utilizam plantas resistentes, consociação de culturas e plantas com a capacidade de atrair ou repelir nemátodes, através da sua utilização como adubo verde ou em biofumigação (Akhtar, 1997). Além disso, têm sido relatadas plantas cujos extratos e/ou exsudatos têm um efeito nematodocida ou nematostático, provocando a morte dos nemátodes, inibindo a eclosão dos J2 ou impedindo a penetração ou desenvolvimento do nemátode na planta (Hackney e Dickerson, 1975; Galhano *et al.*, 1997),

A inundação do solo e posterior pousio a nu, também já foi testada e reduziu a densidade populacional dos NGR, porém, a duração ideal das inundações dependia da temperatura do ar (Rhoades, 1982). A solarização e biofumigação são outras técnicas que se têm mostrado eficazes no combate a esta doença (Baptista *et al.*, 2006; Kaşkavalcı, 2007; Kokalis-Burelle *et al.*, 2016).

A solarização consiste num método de desinfestação do solo em que, nos meses mais quentes do ano, antes da plantação, se rega o solo até à capacidade de campo e cobre-se o mesmo com filme de polietileno transparente (Katan e DeVay, 1991). Esta cobertura provoca um aumento de temperatura do solo drasticamente, causando a morte a vários organismos patogénicos (Katan & DeVay, 1991; Baptista *et al.*, 2006). A biofumigação consiste na incorporação de matéria orgânica no solo, como resíduos de brássicas, que durante a sua decomposição libertam substâncias tóxicas para os inimigos das culturas, reduzindo a sua viabilidade no solo (Baptista *et al.*, 2006; Mourão, 2007). Estas duas técnicas são muitas vezes utilizadas ao mesmo tempo, uma vez que, combinadas, melhoram o processo de desinfeção do solo e minimizam o stress causado à atividade biológica do solo (Mourão, 2007).

A fertilização e nutrição podem também contribuir para o controlo de *Meloidogyne*. Segundo Ritzinger e Fancelli (2006), a aplicação de adubos azotados, ricos em fósforo e potássio, têm apresentado respostas positivas na diminuição das populações de NGR, sendo o número de galhas reduzido, assim como, no aumento do crescimento da planta.

Havendo um desequilíbrio nutricional, o vigor e as reações de defesa da planta podem ser influenciadas, reduzindo a resistência do hospedeiro (Bedendo, 2011). Pelo contrário, plantas nutricionalmente equilibradas conseguem tolerar mais a ação dos nemátodes

fitoparasitas, sendo que, a fertilização e a nutrição podem também aumentar a resistência da planta, dificultando a penetração e o desenvolvimento dos nemátodes (Zambolim *et al.*, 2005).

1.3.4.4. Luta biológica

De acordo com Baker e Cook (1974), a luta biológica envolve a ação de um ou mais organismos, resultando na redução de populações de NGR ou na capacidade dos mesmos se alimentarem ou causar danos à cultura. Segundo os mesmos autores, o controlo biológico pode ocorrer de forma natural, pela manipulação do ambiente ou pela introdução de um ou mais organismos antagonistas.

Existem certas características que devem ser tidas em conta aquando a escolha de organismos como agentes de controlo de NGR, entre elas estão: não ser um agente patogénico para as plantas, sobreviver no solo em condições extremas ou desfavoráveis mesmo sem a presença do hospedeiro, capacidade de reduzir a densidade populacional dos NGR, boa capacidade de disseminação no solo, facilidade de produção e viabilidade económica, compatibilidade com fertilizantes e outras práticas culturais e manutenção da capacidade de infetar o hospedeiro durante o armazenamento (Ferraz *et al.*, 2010 citado por Carvalho, 2017).

Neste momento são estudados vários inimigos naturais de NGR, nomeadamente fungos e bactérias, que se mostram bastante promissores no controlo destes nemátodes (Seide *et al.*, 2015). O fungo *Purpureocillium lilacinum*, que parasita os ovos dos nemátodes, reduziu a população de *M. javanica* e *M. incognita* num estudo realizado por Goswami *et al.* em 2006.

Outro fungo que também tem mostrado bons resultados no controlo de *Meloidogyne* spp. é *Trichoderma harzianum*. Este fungo já foi alvo de vários estudos em que se mostrou eficaz no controlo dos NGR (Sharon *et al.*, 2001).

Segundo Stirling (1985) a bactéria que mais frequentemente é encontrada parasitando nemátodes do género *Meloidogyne* é *Pasteuria penetrans*. As fêmeas infetadas com esta bactéria têm a sua fecundidade reduzida. Além disso, a *P. penetrans* reduz a capacidade de infeção dos jovens de segundo estágio, por aderirem à cutícula e reduzirem a sua mobilidade (Davies *et al.*, 1988; Chen *et al.*, 1996).

Também Xia *et al.* (2011), testaram, *in vitro*, várias estirpes de *Bacillus subtilis* (OKB105, 69, B3, FZB42) e chegaram à conclusão de que a estirpe OKB105 foi a estirpe que

apresentou maior potencial no controlo de *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* e *M. arenaria*.

Bacillus firmus é também uma bactéria eficaz no controlo de NGR, que representa a substância ativa de alguns produtos fitofarmacêuticos homologados para MPB e para a cultura do tomateiro em Portugal (SIFITO, 2020).

Pochonia chlamydosporia

Um fungo promissor no controlo de NRG e que tem vindo a apresentar resultados positivos é *Pochonia chlamydosporia*. Este é um fungo nematófago que não depende da presença de nemátodes para se alimentar e sobreviver, podendo atuar como saprófita na ausência do hospedeiro (Kerry, 2001), e produzindo clamidósporos, que são estruturas de resistência e contêm no seu interior substâncias de reserva que lhes permitem manter-se viáveis durante um elevado período de tempo e, conseqüentemente, sobreviver mais facilmente em condições adversas assegurando a persistência do fungo no solo (Abrantes, *et al.*, 2002).

Segundo De Leij *et al.* (1993), o fungo *P. chlamydosporia* é um organismo aeróbio e por isso encontra-se nas camadas mais superficiais do solo, sendo então o oxigénio um fator essencial para o seu crescimento. Os mesmos autores verificaram também que o crescimento deste fungo não provoca efeitos diretos nas raízes das plantas, sendo que não produzem estragos, ficando confinado à rizosfera e camadas superficiais das raízes. Este fungo coloniza melhor a rizosfera do que o solo sem presença de raízes, sendo mais abundante nas raízes infetadas por nemátodes do que em raízes saudáveis (De Leij *et al.*, 1993). As massas de ovos dos nemátodes-das-galhas-radiculares que se encontram no interior das galhas, dificilmente são infetadas por *P. chlamydosporia*, uma vez que este fungo está confinado à superfície das raízes. Assim, o controlo das populações de nemátodes é mais eficaz quando as massas de ovos estão expostas na rizosfera (Bourne *et al.*, 1994). Daqui resulta que este fungo é mais eficaz quando a densidade inicial do nemátode é baixa, ou quando as plantas são maus hospedeiros, na medida em que, os nemátodes formarão, sobretudo, galhas pequenas e massas de ovos à superfície da raiz. Em plantas muito suscetíveis a NGR ou na presença de elevadas densidades populacionais do nemátode, são formadas galhas muito grandes em que as massas de ovos ficam inseridas nos tecidos radiculares, dificultando o parasitismo por parte do fungo *P. chlamydosporia* (De Leij *et al.*, 1992).

A infeção dos ovos inicia-se a partir do momento em que o micélio vegetativo do fungo entra em contacto com a parede do ovo do nemátode. As hifas que aderem aos ovos dos NGR,

desenvolvem, terminal ou lateralmente, apressórios de formas e tamanhos variados. No apressório desenvolve-se a hifa de penetração em forma de cunha, que degrada e perfura a parede do ovo, permitindo as hifas crescerem radialmente. A hifa de penetração desenvolve-se a partir de um anel circular que aparece por debaixo do apressório. A penetração é facilitada sobretudo por ação química. O fungo produz e liberta enzimas extracelulares, principalmente proteases do tipo das subtilisinas, que atuam sobre a camada externa do ovo, camada esta de natureza proteica constituída por vitelina. A subtilisina produzida por este fungo constitui um fator determinante da virulência e da especificidade dos diferentes isolados de *P. chlamydosporia*, relativamente a diferentes espécies de nemátodes (Abrantes *et al.*, 2007) (Manzanilla-López *et al.*, 2013).

Sorribas, *et al.* (2003) chegaram à conclusão de que múltiplas aplicações de diferentes isolados de *P. chlamydosporia* reduziram o número e tamanho das galhas, assim como, a população final de ovos de *M. javanica* nas raízes. Também Podestá *et al.* (2013), testaram diferentes combinações de *P. chlamydosporia* com condicionadores de solo (Ribumin®) e rizobactérias (*Gracilibacillus dipsosauri*), em tomateiros plantados em vasos e num ambiente de estufa, chegando à conclusão de que houve uma redução bastante significativa, quer no número de galhas, quer no número de ovos de NGR. Viggiano, *et al.* (2014), testaram a eficácia de *P. chlamydosporia* no combate aos NGR em pepino, em diferentes momentos de inoculação do fungo no solo e concluíram que independentemente do método de aplicação, um aumento da dose de fungo inoculado, reduziu o número de galhas nas raízes, assim como o número de ovos. Já Pasqua *et al.* (2019), combinaram a aplicação de *P. chlamydosporia* com subprodutos sólidos da indústria do vinho, com o objetivo de verificar a eficácia no combate aos NGR numa estufa de produção de tomate. Embora *in vitro* os subprodutos vitivinícolas tenham reduzido o crescimento micelial e a esporulação de *P. chlamydosporia*, os mesmos subprodutos combinados com o fungo aumentaram o crescimento do tomate e reduziram o número de galhas e ovos de *M. javanica* por grama de raiz de tomate nas condições de ambiente de estufa, principalmente quando o fungo foi aplicado a uma taxa de 3500 clamidósporos g⁻¹ de solo. Concluíram assim que, o uso integrado de *P. chlamydosporia* e subprodutos vitivinícolas é capaz de controlar as populações *M. javanica*.

A combinação de fungos e bactérias antagonistas no combate aos NGR também tem sido estudada e mostrado resultados positivos (Podestá *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2016). Num

estudo realizado por Fernandes *et al.*, 2014, onde inocularam separadamente sementes de tomateiro com *Bacillus subtilis*, *P. chlamydosporia*, bem como os dois organismos combinados, constataram o tratamento com *B. subtilis* reduziu em 62,6% o número de ovos de *M. incognita*, quando comparado com as sementes não tratadas, independentemente da aplicação do fungo. A combinação da inoculação de sementes com *B. subtilis* e *P. chlamydosporia* reduziu em mais de 80% o número de ovos de *M. javanica* em comparação com a adoção de apenas um dos tratamentos isoladamente.

Os avanços científicos das últimas décadas levaram ao aparecimento de um grande número de produtos fitofarmacêuticos de controlo biológico no mercado, sendo que, alguns deles contêm bactérias *Bacillus firmus* e *Pasteuria penetrans*, e o fungo *Purpureocillium lilacinus* (Lamovšek *et al.*, 2013). Além destes, existe um produto baseado em *P. chlamydosporia* cujo nome comercial é POCHAR (ainda não autorizado para venda em Portugal), que mostrou resultados promissores no estudo realizado por Sellito *et al.* (2016) em que comprovaram a eficácia deste produto no controlo de NGR em tomate e batata.

1.4. Enxertia em culturas hortícolas

1.4.1. Conceito e objetivos da enxertia de hortícolas

A técnica da enxertia consiste em unir duas partes de tecido vegetal de plantas vivas compatíveis, que levam ao crescimento e desenvolvimento de uma única planta, sendo o conceito de compatibilidade definido como a capacidade de duas plantas diferentes, unidas pela enxertia, funcionarem satisfatoriamente como uma única planta (González, 1999). Por outras palavras, a enxertia assenta no uso de uma planta com atributos desejáveis para substituir o sistema radicular de uma cultivar de interesse económico. O novo sistema radicular é chamado de porta-enxerto e a parte superior ou cultivar de interesse é o enxerto (Gaion *et al.*, 2017).

Embora a enxertia em fruteiras seja uma técnica com milhares de anos, a plantação de hortícolas enxertadas apareceu apenas no final da década de 1920 no Japão. Koshiro Tateishi publicou um artigo numa revista periódica de pesquisa científica (1927) indicando que a enxertia herbácea pode ser uma tecnologia revolucionária para a produção futura hortícolas e incentivando os cientistas a desenvolverem tecnologias para que esta se torne uma prática comum entre os agricultores. Neste artigo, Tateishi (1927) relatou que um pequeno produtor de melancia chamado Ukichi Takenaka, em Hyogo, Japão, enxertou melancia em abóbora e

conseguiu resolver facilmente os problemas causados por *Fusarium oxysporum*. Com base no sucesso de Takenaka, Tateishi organizou várias experiências para testar o enxerto de melancia, onde comparou alguns métodos de enxertia concluindo que o enxerto por fenda era o mais eficaz. Tateishi também estudou algumas questões relativamente ao aborto precoce das flores de plantas enxertadas no campo, bem como o impacto de enxerto na qualidade de frutos de melancia. Desde esta primeira experiência, a área cultivada com plantas herbáceas enxertadas tem aumentado cada vez mais, assim como, o número de espécies em que se utiliza esta técnica (Lee, 1994).

Na horticultura a enxertia é utilizada principalmente nas famílias Cucurbitaceae e Solanaceae (Mourão e Brito, 2015) e o principal objetivo que se pretende alcançar com a aplicação desta técnica, é criar ou aumentar a resistência das plantas a determinadas doenças do solo e, assim, possibilitar o cultivo de certas espécies em áreas contaminadas por agentes patogénicos de origem edáfica (Peil, 2003). A seleção de porta-enxertos já permitiu aumentar a resistência de algumas espécies hortícolas a doenças graves provocadas por *Fusarium* (Nisini *et al.*, 2002; Pavlou *et al.*, 2002), *Verticillium* (Paplomatas *et al.*, 2002; Bletsos *et al.*, 2003), *Phytophthora* (Domenech *et al.* 2010), nemátodes-das-galhas-radiculares (*Meloidogyne* spp.) (Rivard *et al.*, 2010; Rumbos *et al.*, 2011), entre outros.

A capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas pode também ser melhorada através desta técnica, o que permite uma menor aplicação de fertilizantes minerais, bem como uma maior tolerância à salinidade e ainda diminuir os sintomas de stresse de nutrientes (Flores *et al.*, 2010; Savvas *et al.*, 2010; Savvas *et al.*, 2011; Schwarz *et al.*, 2013; Mourão e Brito, 2015)

A enxertia também é utilizada para conferir às plantas habilidades em relação a determinadas condições edafoclimáticas, isto é, promover a resistência a baixas temperaturas, resistência à seca ou excesso de humidade; aumentar o vigor das plantas, entre outros (Bie *et al.*, 2017).

1.4.2. Enxertia de hortícolas na Europa e em Portugal

A enxertia herbácea começou a ser utilizada na Europa pelos horticultores holandeses em 1947, tendo sido primeiramente aplicada em solanáceas e cucurbitáceas (González, 1999). Foi utilizada de forma a melhorar eficazmente a resistência a doenças radiculares e aumentar a capacidade da planta em ciclos de longa produção (Rodrigues, 2009). Contudo, o desenvolvimento de novas técnicas, melhoramento de novos porta-enxertos mais resistentes

a doenças e a promoção deste tipo de enxertia pela indústria de sementes, levou a que a enxertia de hortícolas fosse disseminada com sucesso para outros países da Europa (Lee e Oda, 2003). Em Espanha, a utilização de plantas enxertadas começou na década de 1980 em melancia e na década de 1990 em tomate, sendo inicialmente utilizados porta-enxertos sem resistências conhecidas a doenças de origem edáfica (Mourão e Brito, 2015).

Em Portugal, os primeiros ensaios de enxertia a nível de empresas de produção de plantas realizaram-se em 1999 em tomateiros e, mais tarde, em melancia e pepino (Rodrigues, 2009). Contudo, segundo o mesmo autor, só em 2007 se iniciou a produção de tomate baseada em plantas enxertadas. Desde esse ano, a procura de plantas enxertadas para culturas protegidas tem aumentado (Mourão e Brito, 2017), sendo que, a área de cultivo de tomate enxertado para consumo fresco e para indústria, foi cerca de 13.000 ha, representando 1,1 milhões de toneladas. A maioria destas plantas são importadas de Espanha, no entanto, a produção de plantas enxertadas em Portugal tem aumentado nos últimos anos. Em 2009, plantaram-se aproximadamente 170 ha correspondentes a 1.200.000 plantas de tomateiro em estufas portuguesas (FLF, 2010). Além do tomateiro, a área cultivada com plantas enxertadas tem vindo a aumentar noutras culturas como: melancia, pepino, pimento, melão e feijão-verde (Mourão e Brito, 2017).

1.4.3. Efeitos da enxertia na qualidade e produtividade do tomate

Segundo Bai e Lindhout (2007), a qualidade da fruta é definida como uma combinação de estímulos visuais como tamanho, forma e cor, e propriedades sensoriais, como teor em açúcares, acidez e aroma.

Alguns investigadores têm realizado estudos no sentido de descobrir os efeitos da enxertia na qualidade dos frutos do tomateiro. Estes efeitos, na maioria dos parâmetros de qualidade do tomate, têm-se mostrado muito variáveis e fortemente influenciados pela combinação enxerto/porta-enxerto. Além disso, o efeito desta combinação interage com outros fatores como: clima, prática cultural, disposição de água e nutrientes, stress das plantas e duração do mesmo, entre outros (Riga, 2015).

Em Espanha, foram testadas várias cultivares de tomate (indústria e consumo em fresco) em diferentes porta-enxertos e concluíram que a enxertia é uma prática eficaz para melhorar a qualidade do fruto sob condições adequadas de crescimento e salinidade (Flores *et al.*, em 2010). No entanto, Turhan *et al.* (2011), com o objetivo de verificarem os efeitos da enxertia

de tomate, testaram três cultivares (Yeni Talya, Swanson e Beril) em dois porta-enxertos (Beaufort e Arnold) e demonstraram que a Matéria Seca (MS), sólidos solúveis totais, teor total de açúcar e vitamina C, foram menores nas plantas enxertadas, mas ocorreu uma melhoria significativa na produtividade das plantas (massa e número de frutos por planta). Contudo, estes resultados não se verificaram num estudo que decorreu no Brasil, em que se avaliou o crescimento e o desenvolvimento das plantas e a qualidade dos frutos de tomateiros cv. Platinum, enxertadas e não enxertadas, não tendo ocorrido alterações no desenvolvimento das plantas nem na qualidade de frutos (Sirtoli *et al.*, 2011).

Num estudo realizado por Di Giola *et al.* (2010), em 2007 e 2008, no sul de Itália, plantaram-se, em estufa, tomateiros da cv. Cuore di Bue não enxertados e enxertados em dois porta-enxertos (Beaufort e Maxifort), a fim de avaliar os efeitos no crescimento vegetativo, produção comercializável, qualidade do fruto e propriedades sensoriais do tomate. Os autores concluíram que a produção aumentou de 20 a 25% nas plantas enxertadas nos dois anos. No entanto, o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável não foram significativamente afetados, enquanto que o teor em vitamina C, em ambos os anos, diminuiu 14-20% nos frutos das plantas enxertadas nos dois porta-enxertos, sendo que os perfis sensoriais dos frutos não foram alterados. Já, quando a qualidade dos frutos de tomateiros enxertados e não enxertados foi testada através de um painel de avaliação, a enxertia das plantas resultou numa diminuição significativa na aceitabilidade no teste sensorial e não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos enxertados e não enxertados, na análise química dos parâmetros de qualidade (Barret *et al.*, 2012).

Khah *et al.* (2006) compararam a produção e a qualidade dos frutos de plantas de tomateiro da cultivar Big Red, enxertadas em Heman e Primavera, enxertadas na mesma cultivar e não enxertadas, em estufa e ao ar livre. Os autores constataram que as plantas enxertadas foram mais vigorosas e tiveram produções mais elevadas do que as não enxertadas, tanto em estufa, como ao ar livre, e a qualidade dos frutos não foi afetada pela técnica de enxertia. Estes resultados foram ao encontro dos resultados obtidos por ZhenDe *et al.* (2012), quando estudaram os efeitos de diferentes porta-enxertos na produtividade dos tomateiros, assim como na qualidade dos frutos, tendo observado que, comparadas às plantas não enxertadas, a produção dos tomateiros enxertados foi 15,4% a 19,4% maior. Constataram também que a técnica de enxertia não influenciou a proteína solúvel, os sólidos solúveis e o teor de ácido titulável nos tomates, no entanto os teores de licopeno e nitratos foram, na sua maioria,

inferiores aos frutos de tomateiros não enxertados. Os autores concluíram que os porta-enxertos estudados têm muito pouca influência na qualidade do tomate, contudo apresentam um grande potencial no que diz respeito às melhorias de produção. A caracterização físico-química de frutos de tomateiro também foi comparada entre plantas enxertadas e plantas não enxertadas por Cardoso *et al.* (2006), que obteve resultados similares aos anteriormente descritos, não havendo alteração das características de qualidade dos frutos de tomate, com exceção do pH.

Mourão *et al.* (2017), testaram a produtividade e a qualidade dos frutos em tomateiros enxertados (cv. Vinicio em porta-enxerto Multifort), conduzidos em 2, 3 e 4 hastes por planta, num estudo realizado no noroeste de Portugal. Os autores verificaram que a produtividade foi significativamente superior para as plantas de tomateiro conduzidas com 2 hastes (26,5 kg/m²), comparativamente com plantas de 3 e 4 hastes (19,5 kg/m²), o que poderá estar relacionado com uma maior competição por água e nutrientes entre as hastes da mesma planta, bem como por limitações do sistema radicular das plantas com 3-4 hastes. Verificaram também que os parâmetros de qualidade dos frutos como firmeza (1,0 kg/cm²), teor em sólidos solúveis (5,1°Brix), acidez total (1,0 g / 100 g de peso fresco), pH (4,4) e matéria seca (4,9%) não foram influenciados pelos sistemas de condução. Por fim, os autores concluíram que a maior produtividade das plantas conduzidas em 2 hastes compensou os custos mais elevados da plantação de plantas enxertadas.

Existem vários estudos que entram em conflito sobre as alterações na qualidade dos frutos provocados pela enxertia e se os efeitos desta técnica são ou não vantajosos. Os diferentes métodos de produção, tipo de combinações de enxerto/porta-enxertos usadas, etc., podem explicar, em parte, as diferenças nos resultados relatados pelos autores. No entanto, o entendimento completo dos efeitos da enxertia na qualidade vegetal está longe de ser concluído (Rouphael *et al.*, 2010).

1.4.4. Enxertia como meio de proteção de *Meloidogyne* spp.

Todo o trabalho de pesquisa em busca de um porta-enxerto resistente aos NGR tem sido intenso. Porém, até ao momento, não se conseguiu encontrar um porta-enxerto de tomateiro totalmente resistente a estes nemátodes, sendo que, os atualmente utilizados são classificados como tolerantes ou de resistência intermédia, o que é, em geral, significado de plantas hospedeiras que permitem a infeção e multiplicação dos NGR sem que haja prejuízos significativos à produção (Costa, 2015). Isto é, as plantas hospedeiras mais suscetíveis

permitem que os NGR em estado juvenil entrem nas raízes, se reproduzam e produzam um maior número de galhas radiculares e com maior tamanho (Karssen e Moens, 2006), enquanto que as cultivares tolerantes, têm a capacidade de reduzir os níveis de reprodução dos nemátodes e reduzir os prejuízos provocados.

Muitos dos porta-enxertos utilizados na produção de tomate nos dias de hoje, têm origem em cruzamentos entre tomateiros domesticados (*Solanum lycopersicum*) com tomateiros selvagens (*Solanum habrochaites*), que têm mecanismos de resistência naturais contra NGR. Um desses mecanismos de defesa baseia-se no gene Mi, gene este que confere resistências a NGR, obtido de um tomateiro selvagem (Williamson, 1998) e introduzido em alguns porta-enxertos (Costa, 2015). Contudo, o gene Mi só é eficiente contra algumas espécies de nemátodes, e a ineficácia desse gene a altas temperaturas (a partir de 28° C) constitui um problema em solos de produção infetados (Williamson, 1998; Dropkin, 1969). O estudo de López-Pérez *et al.* (2006), em que foram plantados tomateiros não enxertados de cultivares suscetíveis a NGR e tomateiros enxertados em cultivares, com o gene Mi, resistentes a esta doença, em vasos inoculados, com diferentes densidades populacionais de *Meloidogyne incognita*, em estufa, confirmou que a presença do gene Mi nos porta-enxertos não resulta necessariamente em resistência aos NGR ou a baixos níveis de nemátodes no solo pós-plantação.

No entanto, existem alguns estudos que comprovam a eficácia de alguns porta-enxertos na redução do número de galhas nas raízes e perdas de produção dos tomateiros. Por exemplo, Barret *et al.* (2012) desenvolveram um estudo em que o principal objetivo foi testar a resistência de dois porta-enxertos de tomateiro (Survivor e Multifort) e o seu efeito na produção. Os autores chegaram à conclusão de que as plantas enxertadas apresentaram menos 80,8% de galhas nas raízes do que nas plantas não enxertadas, sendo que o porta-enxerto Survivor mostrou-se ainda mais resistente do que o Multifort. Também as cv. resistentes a NGR Celebrity, Big Beef e Jetsetter foram enxertadas com as cv. suscetíveis Tropimech e Power, com o objetivo de perceber a sua capacidade de aumentar o rendimento da planta na presença de *Meloidogyne incognita*. Os autores verificaram que, em plantas enxertadas, os níveis populacionais de nemátodes foram menores do que em plantas não enxertadas ou enxertadas na mesma cultivar e a produção dos tomateiros (número e peso de frutos) foi maior em plantas enxertadas (Owusu *et al.*, 2016).

A utilização combinada de alguns métodos alternativos com tomateiros enxertados em cultivares resistentes, também ajuda a aumentar a eficiência no controlo dos NGR em solos fortemente infetados, assim como, contribui para colmatar o problema da perda de resistência dos porta-enxertos que contêm o gene Mi, quando a temperatura do solo ultrapassa os 28° C (Kapkavalci *et al.*, 2009). Os mesmos autores testaram os efeitos de alguns métodos alternativos de controlo de NGR (biofumigação, consociações com plantas atrativas, enxertia, solarização e nematocidas biológicos contra *Meloidogyne incognita*) numa produção biológica de tomate, que foi avaliada em dois ciclos sucessivos de crescimento curto (outono de 2007 e primavera de 2008) em estufa não aquecida. Os resultados deste estudo mostraram que a biofumigação com brócolos, aplicada juntamente com a técnica de enxertia, é um método bastante eficiente contra *M. incognita* na produção de tomate em agricultura biológica.

Na maioria dos estudos realizados acerca deste tema verifica-se que, embora a enxertia não impeça a reprodução dos nemátodes, é uma técnica que demonstra eficácia no controlo de NGR, assim como, porta-enxertos com sistemas radiculares vigorosos podem mostrar-se tolerantes aos danos causados pelo NGR, não afetando muito a produção dos tomateiros. Além disso poderão ser úteis para limitar os aumentos nas densidades populacionais de nemátodes, além de reduzirem a incidência de doenças e danos às plantas (Verdejo-Lucas e Sorribas, 2008). A redução da infeção inicial dos nemátodes e a tolerância do sistema radicular vigoroso conseguida pela enxertia poderá impedir a formação de grandes galhas e aumentar a exposição das massas de ovos na rizosfera. Estas condições poderão, pelo apontado acima, potenciar a ação do fungo *P. chlamydosporia*. A ação do fungo sobre os ovos poderá, por sua vez, vir colmatar a reprodução dos NGR, que não é impedida pelos porta-enxertos (Abrantes, *et al.*, 2002).

Relativamente ao custo das plantas enxertadas, o preço das mesmas é mais elevado do que as plantas não enxertadas, no entanto, esta diferença de custos, pode ser compensada com o aumento da produtividade dos tomateiros enxertados em porta-enxertos resistentes ou parcialmente resistentes e pela poupança na compra de pesticidas (Besri, 2003).

Além da enxertia poder ser compensatória para o produtor no que diz respeito aos custos económicos, também permite elevadas reduções nos custos ambientais, como por exemplo, na redução da utilização de produtos fitofarmacêuticos químicos de síntese. Sendo a agricultura biológica um modo de produção que respeita ao máximo os ecossistemas e o

ambiente, as práticas utilizadas neste modo de produção visam o menor impacto e a mínima intervenção possível no equilíbrio dos ecossistemas. Nesse sentido, a enxertia, sendo uma técnica permitida e bastante utilizada, quer em MPB, quer na agricultura convencional, permitiria, se bem sucedida, a redução, não só dos custos económicos para os produtores, mas também dos impactos ambientais. Deve-se isto à sua preferência em relação à utilização de produtos químicos de síntese (em agricultura convencional) e a adoção de outras técnicas prejudiciais aos ecossistemas agrícolas, resultando assim, num balanço altamente positivo.

1.5. Comunidade microbiológica do solo

O solo é constituído por material orgânico e inorgânico e habitado por inúmeras espécies, formando um ecossistema. Os microrganismos do solo são representados por cinco grandes grupos: bactérias, fungos, algas, protozoários e nemátodes. Apesar de ocuparem apenas 5% do espaço poroso do solo, a diversidade e a quantidade dos microrganismos é bastante elevada, sendo as bactérias e os fungos responsáveis por cerca de 90% da atividade microbiana do solo (Andreola e Fernandes, 2007).

Os microrganismos do solo estão envolvidos em vários processos de grande interesse agronómico, especialmente no que se refere à agricultura biológica. Dentro destes processos destaca-se a decomposição da matéria orgânica, incluindo as transformações bioquímicas específicas como a nitrificação e desnitrificação, a fixação biológica do azoto, a ação antagonista contra os organismos fitopatogénicos, a produção de substâncias promotoras do crescimento das plantas, entre outros. Desta forma, é possível constatar que os microrganismos desempenham um papel fundamental no solo como reguladores de nutrientes, através da decomposição da matéria orgânica e do ciclo dos nutrientes, atuando como fonte e destino de nutrientes para o crescimento das plantas (Andreola e Fernandes, 2007).

1.5.1. Caracterização da diversidade de comunidades microbiológicas do solo

A caracterização da diversidade microbiana dos solos, bem como do seu papel na manutenção da estabilidade dos ecossistemas, pode contribuir para o desenvolvimento de sistemas agrícolas mais sustentáveis e para a diminuição da degradação dos ecossistemas naturais (Lambais *et al.*, 2005).

Segundo Øvreås (2000), a caracterização da diversidade microbiana nos solos é importante para: aumentar o conhecimento da diversidade de recursos genéticos numa comunidade,

entender padrões da distribuição dos organismos, ampliar o conhecimento do papel funcional da diversidade microbiana, identificar diferenças na diversidade associadas a distúrbios causados por práticas de gestão de culturas, entender a regulação da biodiversidade e em que medida o funcionamento e a sustentabilidade do ecossistema dependem da manutenção de um nível específico de diversidade microbiana.

A avaliação da diversidade e do comportamento de comunidades microbiológicas do solo recorre a vários métodos como o “Perfil fisiológico de comunidades microbianas” obtido pela utilização de MicroPlacas - Biolog™.

O perfil fisiológico de comunidades microbianas (PFCM) é determinado pela capacidade dessas comunidades utilizarem diferentes fontes de carbono *in vitro*. A comparação entre os PFCMs, sob diferentes condições, pode mostrar com eficácia alterações na capacidade metabólica da comunidade e na sua diversidade funcional (Garland & Mills, 1991; Zak *et al.*, 1994; Garland, 1996). Inicialmente esta metodologia foi desenvolvida utilizando microplacas Biolog™ que contêm 95 substratos de carbono e o corante azul de tetrazólio (usado para indicar a atividade microbiana), utilizadas sobretudo para caracterização taxonômica de bactérias patogênicas (Garland & Mills, 1991). O resultado da utilização desta metodologia é um perfil qualitativo fisiológico das potenciais funções metabólicas exercidas pela porção cultivável da comunidade microbiana. As diferenças nos perfis podem então ser analisadas por métodos de estatística (Arias *et al.*, 2005).

Mais tarde foram desenvolvidas microplacas Ecoplate Biolog™ (Figura 1.13) que contém três repetições de 31 substratos de carbono diferentes para a análise de comunidades microbianas, além de três controles de água (Figura 1.14) (Choi & Dobbs, 1999). As Ecoplate são mais apropriadas para estudos de ecologia microbiológica, uma vez que contém fontes de carbono habitualmente presentes no solo.

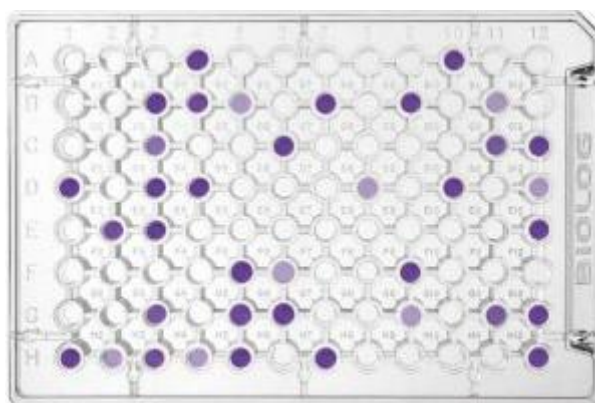


Figura 1.13: Placa Ecoplate - Biolog™ contendo 31 fontes de carbono diferentes. Cada fonte de carbono será consumida e o tetrazólio presente em cada poço será reduzido, conferindo cor púrpura de diferente intensidade de acordo com o consumo da fonte de carbono em cada poço (Fonte: Biolog, 2019)

| | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|--------------------------------------|--|---------------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|---------------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|---------------------------|
| A1 Water | A2 β -Methyl-D-Glucoside | A3 D-Galactonic Acid γ -Lactone | A4 L-Arginine | A1 Water | A2 β -Methyl-D-Glucoside | A3 D-Galactonic Acid γ -Lactone | A4 L-Arginine | A1 Water | A2 β -Methyl-D-Glucoside | A3 D-Galactonic Acid γ -Lactone | A4 L-Arginine |
| B1 Pyruvic Acid Methyl Ester | B2 D-Xylose | B3 D-Galacturonic Acid | B4 L-Asparagine | B1 Pyruvic Acid Methyl Ester | B2 D-Xylose | B3 D-Galacturonic Acid | B4 L-Asparagine | B1 Pyruvic Acid Methyl Ester | B2 D-Xylose | B3 D-Galacturonic Acid | B4 L-Asparagine |
| C1 Tween 40 | C2 i-Erythritol | C3 2-Hydroxy Benzoic Acid | C4 L-Phenylalanine | C1 Tween 40 | C2 i-Erythritol | C3 2-Hydroxy Benzoic Acid | C4 L-Phenylalanine | C1 Tween 40 | C2 i-Erythritol | C3 2-Hydroxy Benzoic Acid | C4 L-Phenylalanine |
| D1 Tween 80 | D2 D-Mannitol | D3 4-Hydroxy Benzoic Acid | D4 L-Serine | D1 Tween 80 | D2 D-Mannitol | D3 4-Hydroxy Benzoic Acid | D4 L-Serine | D1 Tween 80 | D2 D-Mannitol | D3 4-Hydroxy Benzoic Acid | D4 L-Serine |
| E1 α -Cyclodextrin | E2 N-Acetyl-D-Glucosamine | E3 γ -Hydroxybutyric Acid | E4 L-Threonine | E1 α -Cyclodextrin | E2 N-Acetyl-D-Glucosamine | E3 γ -Hydroxybutyric Acid | E4 L-Threonine | E1 α -Cyclodextrin | E2 N-Acetyl-D-Glucosamine | E3 γ -Hydroxybutyric Acid | E4 L-Threonine |
| F1 Glycogen | F2 D-Glucosaminic Acid | F3 Itaconic Acid | F4 Glycyl-L-Glutamic Acid | F1 Glycogen | F2 D-Glucosaminic Acid | F3 Itaconic Acid | F4 Glycyl-L-Glutamic Acid | F1 Glycogen | F2 D-Glucosaminic Acid | F3 Itaconic Acid | F4 Glycyl-L-Glutamic Acid |
| G1 D-Cellobiose | G2 Glucose-1-Phosphate | G3 α -Ketobutyric Acid | G4 Phenylethylamine | G1 D-Cellobiose | G2 Glucose-1-Phosphate | G3 α -Ketobutyric Acid | G4 Phenylethylamine | G1 D-Cellobiose | G2 Glucose-1-Phosphate | G3 α -Ketobutyric Acid | G4 Phenylethylamine |
| H1 α -D-Lactose | H2 D,L- α -Glycerol Phosphate | H3 D-Malic Acid | H4 Putrescine | H1 α -D-Lactose | H2 D,L- α -Glycerol Phosphate | H3 D-Malic Acid | H4 Putrescine | H1 α -D-Lactose | H2 D,L- α -Glycerol Phosphate | H3 D-Malic Acid | H4 Putrescine |

Figura 1.14: Fontes de Carbono em microplaca as Ecoplate – Biolog™ (Biolog, 2007)

O método baseia-se na inoculação dos poços da microplaca, com uma suspensão de uma amostra de solo, que contém os microrganismos de interesse. Depois de inoculadas, as Ecoplate são incubadas em condições controladas de temperatura por períodos variáveis de tempo, para que ocorra o aumento de respiração nos poços onde as células podem utilizar a fonte de carbono e/ou crescer. Caso o microrganismo utilize a fonte de carbono disponível e, assim, ocorra respiração, ocorre a redução do indicador redox tetrazólio, aparecendo uma cor púrpura. Por outro lado, os poços com resultado negativo e o controlo negativo (sem fonte de carbono) permanecem incolores. A atividade microbiológica é monitorizada pela

redução desse mesmo corante e registrada por meio de espectrofotometria a 590 nm. (Lambais *et al.*, 2005; Biolog, 2007).

1.5.2. Importância da comunidade microbiológica do solo em agricultura biológica

Além da fauna e das raízes das plantas, os microrganismos do solo são a parte viva da matéria orgânica existente nesta matriz. Alguns destes podem ser utilizados como bioindicadores na medida em que, estão intimamente relacionados com o funcionamento do solo, mantendo uma estreita relação com os componentes físicos e químicos (Lobato, 2015).

A diversidade de microrganismos, atividade enzimática, taxa de respiração e biomassa microbiana, são alguns indicadores sensíveis que podem ser utilizados na monitorização de alterações ambientais decorrentes da atividade agrícola (Ferreira *et al.*, 2010; Epelde *et al.*, 2014). Estes indicadores, para além de serem proveitosos para a monitorização, também podem ser utilizados para orientar o planeamento e a avaliação das práticas de manejo utilizadas para as culturas e para o solo (Ferreira *et al.*, 2017).

Até há pouco tempo, na agricultura convencional, as técnicas de produção, incluindo as utilizadas na mobilização e proteção do solo, não consideravam os microrganismos, com exceção daqueles em que se conheciam relações de simbiose com as plantas (Andreola e Fernandes, 2007). Contudo, atualmente, já se observa uma tendência no sentido de utilizar cada vez mais a adubação orgânica, adubação verde, rotação de culturas, entre outras práticas, com o intuito de melhorar cada vez mais o ambiente do solo, a fim de, estabelecer e manter um equilíbrio entre as populações e a diversidade de organismos do solo (Andreola e Fernandes, 2007). Estas técnicas são a base da agricultura biológica, que sempre tiveram como objetivo respeitar e manter o equilíbrio das comunidades microbiológicas do solo, tendo trazido, ao longo do tempo, vantagens para o próprio agricultor.

As práticas culturais que afetam o solo e as culturas interferem diretamente na estrutura da comunidade microbiológica do solo, assim como, na sua atividade. Tendo em conta que a agricultura biológica está intimamente dependente da reciclagem dos nutrientes da matéria orgânica, e que a comunidade microbiológica do solo desempenha um papel fundamental nesse processo, pode-se afirmar que a criação de condições favoráveis à mesma é essencial para este tipo de agricultura (Andreola e Fernandes, 2007).

Os sistemas de produção mais sustentáveis remetem para sistemas mais complexos, onde todos os fatores, bióticos e abióticos, bem como as interações entre eles, têm de ser

considerados. A descoberta e o entendimento destas interações, principalmente as que envolvam a comunidade microbiológica do solo e o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem a maximização dos seus benefícios a favor da agricultura sustentável, representa um dos maiores desafios da Ciência Agronómica (Andreola e Fernandes, 2007).

1.6. Objetivos do trabalho

A cultura do tomate apresenta uma grande relevância no setor hortofrutícola português, sendo este país o 5º maior produtor de tomate da Europa. No entanto os NGR (*Meloidogyne* spp.), são uma doença grave responsável por grandes quebras de produção. As populações destes nemátodes são tradicionalmente controladas através da aplicação de nematodocidas fumigantes que têm vindo a ser banidos na Europa devido à sua toxicidade, não estando disponíveis meios de proteção das culturas com a eficiência desejável. No entanto, outras práticas agrícolas menos intensivas permitem conferir às plantas alguma tolerância ou resistência a esta doença. A enxertia tem sido descrita como uma técnica eficaz no controlo de NGR na medida em que alguns porta-enxertos têm mostrado tolerância ou resistência a *Meloidogyne* spp., diminuindo assim as perdas de produção provocadas por esta doença.

Assim, com este trabalho, pretende-se relacionar a técnica da enxertia com a produtividade e a qualidade dos frutos de tomate. Este estudo direciona-se também para o melhor entendimento e avaliação da reação hospedeira de quatro porta-enxertos comerciais de tomateiro a *Meloidogyne* spp., tendo-se realizado um ensaio numa estufa de produção comercial naturalmente infestada com esta doença. Pretende-se ainda avaliar a reprodução dos NGR e os danos causados nas plantas dos diferentes tratamentos. Por fim, num ensaio complementar, pretendeu-se avaliar o efeito da inoculação do fungo *Pochonia Chlamydosporia*, utilizado como controlo biológico contra os NGR, na comunidade microbiana do solo.

Este estudo está integrado no Projeto COCOON - “Combined sustainable strategies for root-knot nematode management in protected crops” (POCI/01/0145/FEDER/ 016611-PTDC/AGR-PRO/3438/2014), coordenado pela Doutora M. Clara Vieira dos Santos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Ensaio da Estela

Neste ensaio foram testados diferentes porta-enxertos de tomateiro com o objetivo de perceber os efeitos que os mesmo têm no ataque dos nemátodes, na produção e qualidade dos tomates.

2.1.1. Localização do ensaio e condições edafo-climáticas

O ensaio decorreu em 2018 numa estufa de produção de tomate (Figura 2.1), pertencente ao produtor Joaquim Fontes, localizada no ponto de coordenadas 41°27'19.6"N 8°45'34.0"W, no lugar de Rio Alto, na Freguesia da Estela, do concelho de Póvoa do Varzim. Esta estufa estava naturalmente infestada por nemátodes-das-galhas-radiculares, que foram identificados como pertencendo à espécie *Meloidogyne incognita*. Estando este terreno muito próximo do mar, encontra-se a uma altitude de apenas 17 metros. No total, esta exploração tem uma área de 1,23 ha sendo, aproximadamente, 4800 m² são de estufas e 7500 m² ao ar livre.

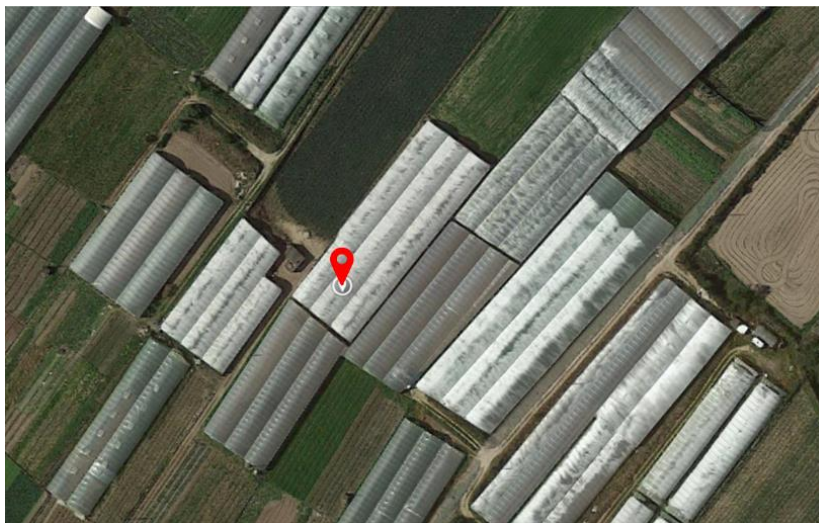


Figura 2.1: Localização da estufa de produção de tomate onde foi instalado o ensaio da Estela (Imagem aérea retirada de Google Maps)

A estufa em questão tinha uma área total de aproximadamente 2000 m² e estava dividida em 3 setores. Como se pode observar na Figura 2.1, o ensaio foi instalado no setor 3 entre plantas de tomateiro da cultivar Anairis enxertadas em Embajador geridas pelo produtor. As plantas do ensaio foram devidamente identificadas com fita de sinalização, assim como os talhões, com spray branco no filme de polietileno preto usado para o controlo de plantas infestantes.

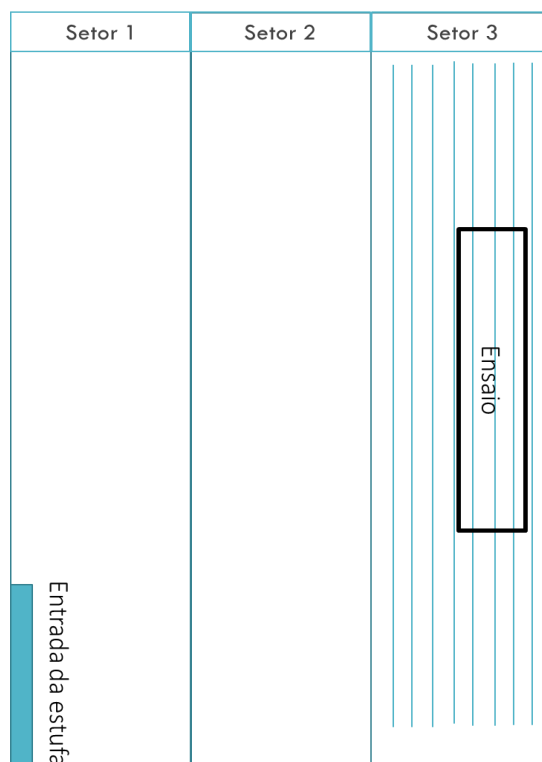


Figura 2.2: Esquema da estufa localizada na Estela, onde decorreu o ensaio

Relativamente ao clima da zona onde foi instalado o ensaio, Póvoa de Varzim, está condicionado por um aspeto fundamental, sendo ele a proximidade ao Oceano Atlântico. É visível a influência atlântica nas temperaturas amenas, na existência de uma humidade relativa elevada e chuvas abundantes. As elevações notadas no terreno do concelho, representam uma barreira para os ventos oceânicos húmidos. Contudo, a componente mediterrânea do clima ainda se faz sentir por uma diminuição acentuada e mesmo interrupção, em alguns anos, da precipitação nos meses de verão (CMPVZ, 2015).

Quanto aos solos da freguesia da Estela, estes são predominantemente arenossolos háplicos. Estes solos têm uma textura mais grosseira que a franco-arenosa até profundidade de pelo menos 100 cm. Apenas apresentam o horizonte de diagnóstico A ócrico, sem propriedades ferralíticas nem gleicas e são não calcários (CMPVZ, 2015).

Estes solos caracterizam-se por apresentarem a toalha freática muito próxima da superfície e são beneficiados pela incorporação maciça de matéria orgânica (argaços e/ou estrumes). Apresentam um boa drenagem e baixa capacidade calorífica e condutividade térmica, o que faz com que na Primavera, estes solos se tornem bastante favoráveis a várias culturas hortícolas. Em contrapartida, a baixa capacidade de retenção de água e nutrientes, criam a

necessidade de regas e fertilizações mais frequentes e com uma dose mais reduzida (CMPVZ, 2015).

Foram realizadas análises de solo antes do início do ensaio. Os resultados da análise estão representados no Anexo 1.

2.1.2. Instalação do ensaio

A transplantação dos tomateiros ocorreu no dia 7 de junho de 2018. O ensaio foi dividido em 3 repetições de 6 tratamentos distintos (Quadro 2.1). O esquema do ensaio está representado na Figura 2.3.

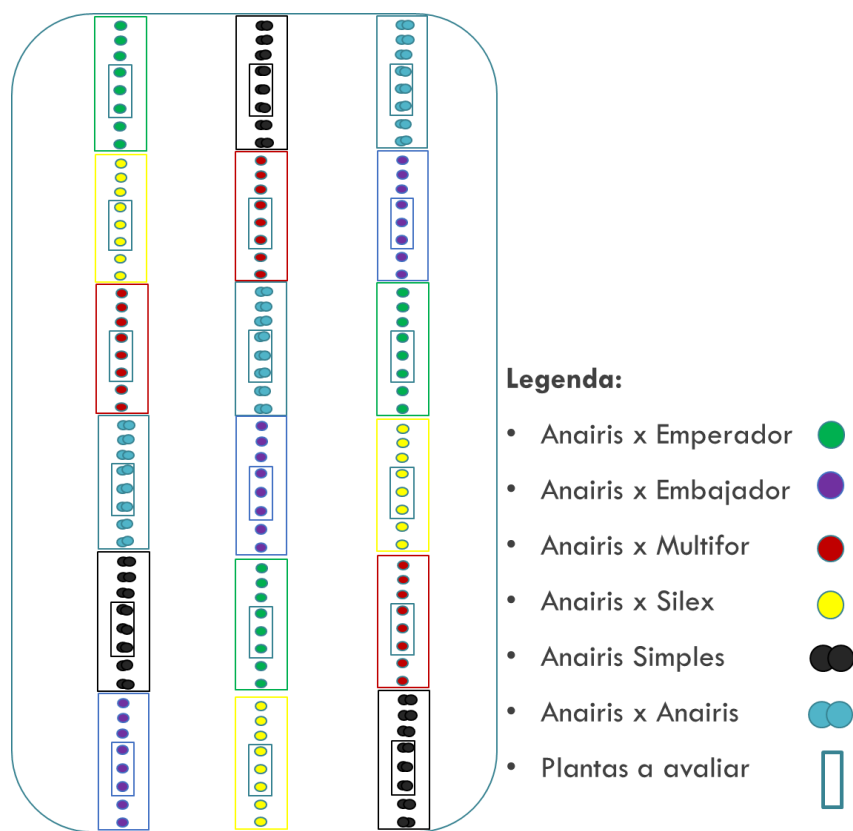


Figura 2.3: Esquema da disposição dos tratamentos do ensaio

Quadro 2.1: Tratamentos utilizados no ensaio, respetivos códigos e forma de condução

| Tratamento | Código | Nº de hastes | Nº de plantas por alvéolo |
|----------------------------|---------------|---------------------|----------------------------------|
| Anairis | A | 1 | 2 |
| Anairis x Anairis | AxA | 1 | 2 |
| Anairis x Silex | AxSi | 2 | 1 |
| Anairis x Emperador | AxEp | 2 | 1 |
| Anairis x Embajador | AxEb | 2 | 1 |
| Anairis x Multifort | AxMt | 2 | 1 |

Os tratamentos Anairis e Anairis x Anairis serviram de controlos, não só para comparar as plantas não enxertadas da cv. Anairis (A) com as plantas enxertadas nos referidos porta-enxertos, mas também para compreender se o processo de enxertia (AxA) tem efeitos a nível fisiológico que possam interferir na compreensão dos efeitos resultantes da utilização dos porta-enxertos.

2.1.3. Densidade e compasso de plantação

Em cada repetição do ensaio foram instalados 6 tratamentos, sendo que, por tratamento plantaram-se 8 plantas. Em cada buraco colocou-se uma planta, exceto nos tratamentos A e AxA, que, por serem conduzidos por apenas 1 haste, se colocaram 2 plantas.

Relativamente ao compasso de plantação, os tomateiros foram plantados com 0,4 m entre plantas e 1,7 m entre linhas (Figura 2.4). No mesmo talhão, as hastes ficaram afastadas entre si 0,5 m, resultando numa densidade de 2,94 hastes m⁻².

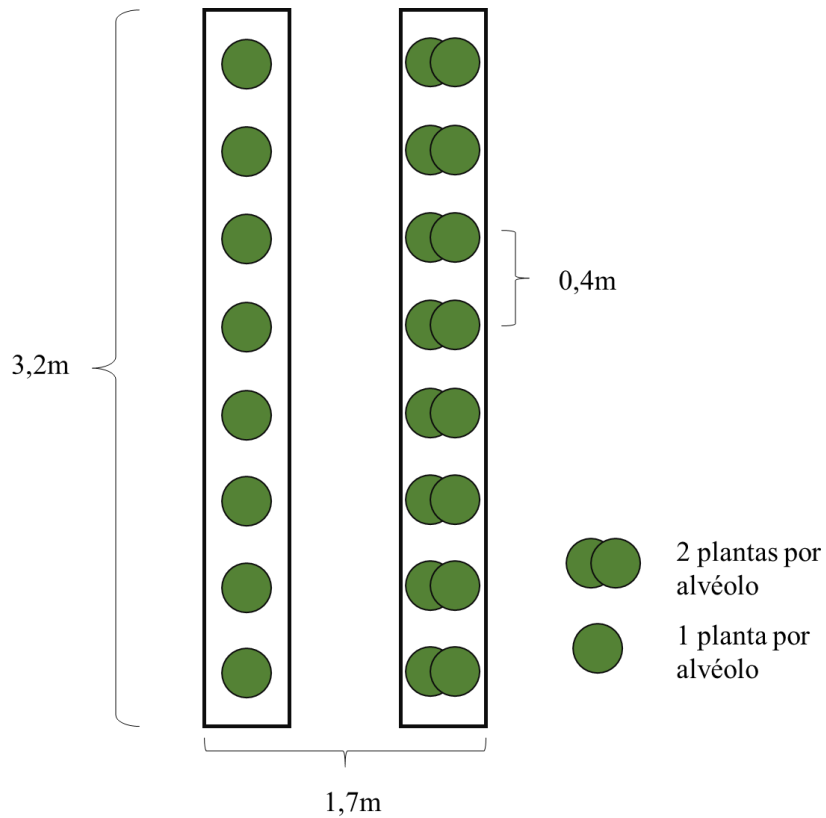


Figura 2.4: Esquema de plantação dos tomateiros. À esquerda representados os tratamentos AxSi, AxEp, AxEb e AxMt, com 1 planta por alvéolo e conduzidos por 2 hastes, e à direita representados os tratamentos A e AxA, com 2 plantas por alvéolo e conduzidos por 1 haste.

2.1.4. Cultivares utilizadas

No Quadro 2.2 estão indicadas as principais características de cada cultivar utilizada como enxerto nos diferentes tratamentos.

Quadro 2.2: Principais características das cultivares de cada tratamento utilizadas no ensaio

| Cultivar | Características | Referência |
|---------------------------------|--|---------------------|
| Embajador RZ F1 (61-080) | <ul style="list-style-type: none"> • Porta-enxerto de vigor médio e bastante regenerativo; • Resistente a <i>Fusarium</i> e com uma resistência reforçada a nemátodes; • Favorece uma elevada produtividade e uniformidade do calibre dos frutos; • Recomendado para enxertar variedades de tomate de calibre grande em ciclos curtos ou médios. | (Rijk zwaan, s/d). |
| Emperador RZ F1 (61-065) | <ul style="list-style-type: none"> • Porta-enxerto de grande vigor e sistema radicular muito forte. Planta muito equilibrada, com boa tolerância ao frio e pouco sensível ao amarelecimento. Não provoca o aumento do tamanho das folhas da variedade, não diminuindo o arejamento; • Ao não provocar o aumento do tamanho das folhas, permite manter a qualidade e aumentar a quantidade da produção; • Especialmente recomendado para manter a qualidade da produção até ao fim do ciclo. | (Rijk zwaan, s/d). |
| Multifort® | <ul style="list-style-type: none"> • Fácil de manusear em várias condições; • Possui um alto vigor que confere um excelente equilíbrio as diferentes variedades; • Alta produtividade e excelente qualidade da fruta; • Excelente nível de resistências. | (Sementibrida, s/d) |
| FT Silex | <ul style="list-style-type: none"> • Porta-enxerto com vigor médio e alta tolerância a nemátodes; • Também confere à planta um porte muito aberto e levemente vegetativo, favorecendo o arejamento e a receção de luz no inverno; • Recomendado para variedades de vigor médio-alto e em transplantes tardios; • Não interfere na qualidade da variedade enxertada. | (Fitó, s/data) |

2.1.5. Leitura e registo de temperatura

Para registar as temperaturas ocorrentes durante o ensaio, foi instalado um Data Logger (DL 2) (Figura 2.5). Os sensores recolheram informação ao minuto que é posteriormente processada para a média por hora. Este aparelho foi posicionado no dia 13 de junho de 2018 e permaneceu no local até ao dia do levantamento do ensaio, registando as temperaturas a que os tomateiros estiveram sujeitos durante o seu ciclo de vida. Os sensores de temperatura

foram colocados no interior e no exterior da estufa. No interior da estufa, foram colocados sensores suspensos e protegidos por um escudo de acrílico, para medir a temperatura do ar dentro da estufa. Também foram colocados sensores no solo a 10 cm de profundidade (Figura 2.6) nas entrelinhas e debaixo do plástico dos camalhões com o objetivo de medir a temperatura junto às raízes. No exterior da estufa foram colocados 2 sensores: um suspenso a 1,5 m do solo, protegido com um escudo de acrílico, e outro a 10 cm de profundidade do solo. No Quadro 2.3 está representado o mapa dos sensores colocados no âmbito do ensaio.

Quadro 2.3: Lista dos sensores de temperatura do ensaio e local correspondente

| Nº do sensor | Local de instalação |
|---------------------|--|
| 2 | Ar dentro da estufa |
| 3 | Ar dentro da estufa |
| 4 | Solo, dentro da estufa, junto às raízes dos tomateiros |
| 8 | Solo, dentro da estufa, junto às raízes dos tomateiros |
| 6 | Solo, dentro da estufa, nas entrelinhas |
| 7 | Solo, dentro da estufa, nas entrelinhas |
| 5 | Solo, exterior da estufa |
| 9 | Ar, exterior da estufa |
| 10 | Ar, exterior da estufa |



Figura 2.5: Data Logger utilizado no ensaio

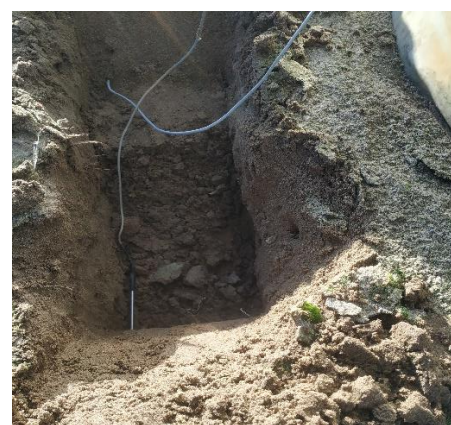


Figura 2.6: instalação dos sensores no solo

2.1.6. Práticas culturais efetuadas

Durante o ensaio foram efetuadas algumas práticas culturais, que estão descritas no Quadro 2.4, e que foram realizadas de maneira a que o ensaio representasse ao máximo a realidade da produção de tomate, isto é, foram postas em prática técnicas normalmente utilizadas pelos produtores, que ajudam no desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, pretendem melhorar a produção e a qualidade dos frutos.

Quadro 2.4: Sequência temporal das práticas culturais realizadas durante o ensaio

| Data | Prática cultural |
|------------|---|
| 07/06/2018 | Transplantação |
| 02/07/2018 | Tutoragem |
| 04/07/2018 | Instalação de abelhões (<i>Bombus Terrestris</i>) |
| 16/07/2018 | 2ª Poda e condução |
| 30/07/2018 | 3ª Poda e condução |
| 13/08/2018 | Condução e desponta |
| 20/08/2018 | Início de colheitas |
| 25/10/2018 | Levantamento do ensaio |

2.1.7. Colheita e avaliação biométrica dos frutos

A primeira colheita comercial do tomate realizou-se no dia 20 de agosto 2018, 75 dias após a plantação (7 de junho de 2018), e a última colheita efetuou-se no dia 25 de outubro, 141 dias depois da plantação. Ao longo destes 66 dias foram realizadas colheitas duas vezes por semana, num total de 20 colheitas, em três plantas por cada repetição de todos os tratamentos (Figura 2.7).

De cada colheita avaliou-se, para cada tomate, o calibre (diâmetro transversal na escala ≤ 56 , 57-66, 67-81, 82-101 e ≥ 102 mm), o peso (Figura 2.8), o grau de maturação (Verde/rosado; Rosado/verde; Rosado/ Vermelho e Vermelho) e os defeitos possíveis de se visualizar, como: fendas e películas cicatrizadas, coloração defeituosa, sujidade (“fuligem” resultante da atividade da mosca branca) e buracos e galerias criadas por larvas de *Tuta absoluta*.



Figura 2.7: Colheita e separação dos frutos por tratamento e repetição



Figura 2.8: À esquerda a balança utilizada para pesar os frutos e à direita, a régua de calibração usada para medir o calibre de cada fruto

2.1.8. Avaliação qualitativa dos frutos

A avaliação da qualidade dos frutos foi realizada em quatro das 20 colheitas de tomate, nomeadamente nos dias 11, 18 e 24 de setembro e 8 de outubro, ou seja 22, 29, 35 e 49 dias após o início da colheita. Para a determinação da MS, tal como para a firmeza, teor em sólidos solúveis, pH e acidez titulável, foram escolhidos aleatoriamente 3-4 frutos de cada repetição dos tratamentos considerados, para, no mesmo dia, serem submetidos aos testes em laboratório descritos de seguida.

Analisaram-se seis parâmetros de qualidade dos frutos, sendo eles, o grau de maturação (cor), a consistência da polpa, o pH, o grau Brix, a acidez titulável e a percentagem de matéria seca, tendo sido os testes realizados no laboratório da Escola Superior Agrária de Ponte de Lima.

Para a avaliação da maturação, utilizou-se um colorímetro associado ao programa informático Lovibond RT100, realizando-se 3 leituras por cada fruto em zonas distintas (Figura 2.9).

A consistência da polpa mediu-se através da força necessária para penetrar a mesma expressa em kg. Para avaliar este parâmetro utilizou-se um penetrómetro (TR Snc), realizando-se 2 leituras por fruto, estimando-se assim a média de cada tratamento. (Figura 2.10).

Após a realização das análises descritas anteriormente, passou-se às análises que implicam a destruição completa do fruto (Figura 2.11).

A percentagem de matéria seca analisou-se através da pesagem de 1/8 de cada fruto em fresco e a pesagem do mesmo pedaço de fruto após secagem a 62°C durante 7 dias.

Com as restantes partes de cada fruto, fez-se sumo para proceder à leitura °Brix através do refratómetro “Pen Pro – Atago”.

Por fim, determinou-se o pH através de um potenciómetro (TITROLINE-EASY, da Fisher Scientific) e posteriormente a acidez titulável. Para isso, misturou-se 5 ml de amostra de sumo, 25 ml de água destilada e um indicador ácido-base (fenolftaleína 1%, incolor em meio ácido e rosa em meio básico), sendo registada a quantidade de NaOH 0,1 N necessária para neutralizar o pH da amostra (Figura 2.12).



Figura 2.9: Medição do grau de maturação com recurso a um colorímetro



Figura 2.10: Medição da consistência da polpa utilizando um penetrómetro



Figura 2.11: Análises que implicam a destruição do fruto - elaboração do sumo e preparação do fruto para pesar em fresco e posteriormente a MS



Figura 2.12: Análise da acidez titulável do sumo de tomate

2.1.9. Levantamento do ensaio e preparação das raízes

O levantamento do ensaio decorreu no dia 25 de outubro de 2018, assim como, a última colheita de frutos. Após a colheita, procedeu-se à separação da parte aérea da planta da sua parte subterrânea, cortando-se na zona do colo com recurso a uma tesoura de poda. De seguida, com a ajuda de uma enxada, soltou-se a terra à volta da raiz de cada planta e recolheu-se as mesmas, rotulando-as e identificando-as com fita adesiva branca.

As raízes foram transportadas para a Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, onde foram devidamente preparadas. Para isso, lavou-se cada raiz separadamente e secou-se as mesmas com toalhas. De seguida, avaliou-se os danos causados por NGR com base na escala de Bridge e Page (1980) (Anexo 2). Após esta avaliação cortaram-se as raízes em pedaços de 2 a 3 cm de comprimento, misturou-se e recolheu-se uma amostra aleatória de várias zonas, colocando-a num frasco de plástico de 60 ml devidamente identificado. Os frascos foram guardados no frigorífico a uma temperatura de 5°C até ao seu processamento.

2.1.10. Contagem de galhas e massas de ovos

A contagem de galhas e massas de ovos teve início logo após a preparação das raízes para tal, com o objetivo de conservar ao máximo as galhas e as massas de ovos, não as danificando para não interferir na contagem final.

Para proceder à contagem foi necessário conferir coloração às massas de ovos com Floxina B (Hartman, 1982). Para isso lavou-se melhor as raízes para libertar partículas de solo que tenham restado, retirando-se o excesso de água e secando-as. De seguida pesou-se 3g de amostra de raiz para processar. Adicionou-se uma solução de Floxina B 0,0015 %, cobrindo as raízes por completo e deixando atuar por cerca de 20 minutos. Depois do tempo de atuação, retirou-se as raízes da solução corante e passou-se as mesmas por água. Posteriormente, procedeu-se à contagem das galhas e massas de ovos à superfície da raiz, coradas de vermelho (Figura 2.13) através de uma lupa binocular (10x).

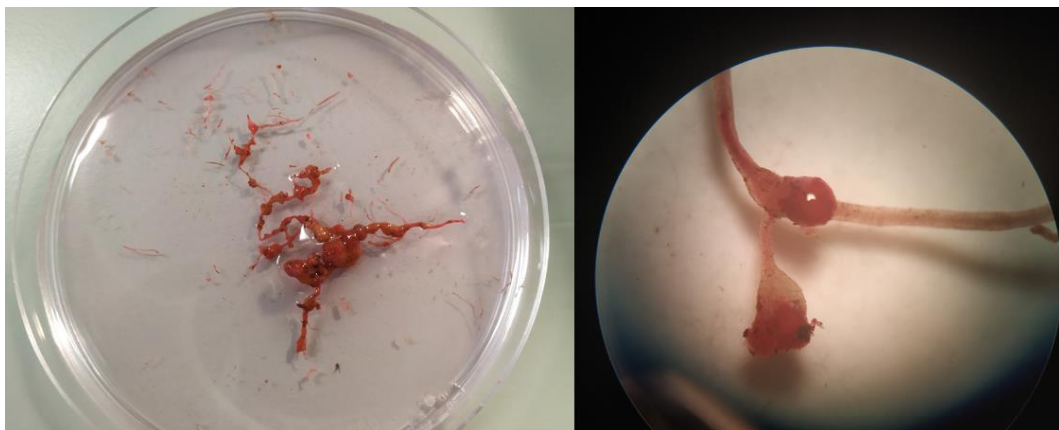


Figura 2.13: À esquerda, uma placa de Petri com água e uma amostra de 3g de raiz tingida pronta para ser processada na lupa. À direita duas galhas com duas massas de ovos, vistas à lupa (10x), tingidas a vermelho pela floxina B.

2.1.11. Extração e contagem de ovos

Para a extração de ovos utilizou-se o método descrito por Hussey e Barker (1973). Preparou-se uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, colocou-se as raízes cortadas num frasco de *Schott* de 500 ml de capacidade, adicionou-se 200 ml da solução de hipoclorito de sódio, rolhou-se o frasco e agitou-se vigorosamente durante dois minutos. Seguidamente, transferiu-se o conteúdo do frasco para um conjunto de crivos metálicos (Figura 2.14), o superior de 75 μm (recolhe detritos e pedaços de raiz) e o inferior de 20 μm (onde ficam retidos os ovos). Após a crivagem (Figura 2.15), passou-se bem por água o conteúdo dos crivos para eliminar os restos da solução de hipoclorito de sódio, recolheu-se a suspensão de ovos retida no crivo de 20 μm (Figura 2.16) com um esguicho de água destilada para um copo graduado, ajustando-se o volume da suspensão para um volume conhecido (Figura 2.17). Por fim, procedeu-se à contagem, quantificando-se ao microscópio invertido (ampliação 50x), os ovos e o jovens J2 em 3 amostras de 1 ml da suspensão obtida.

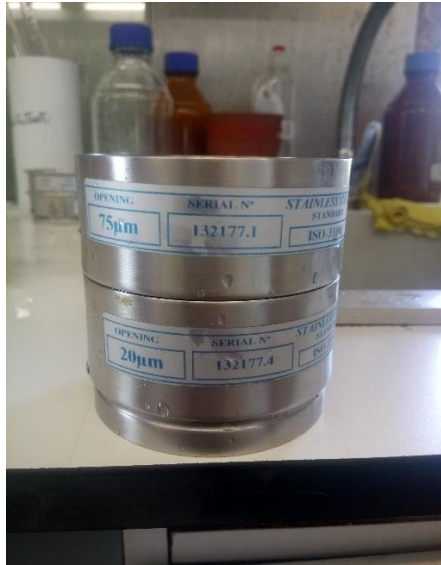


Figura 2.14: Crivos de 75 µm e de 20 µm utilizados para crivar os ovos dos NGR



Figura 2.15: Crivagem dos ovos dos NGR



Figura 2.16: Recolha da suspensão de ovos de NGR para um copo graduado

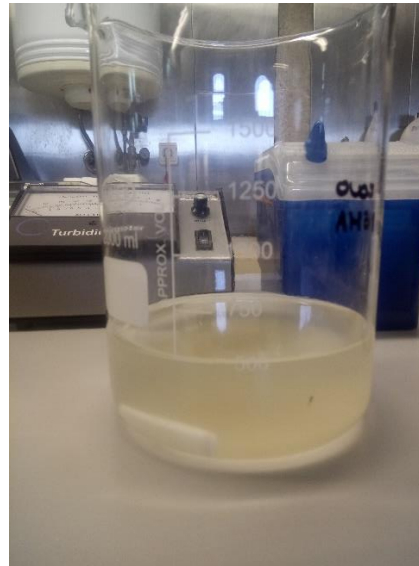


Figura 2.17: Suspensão de ovos de NGR em água destilada resultante

2.2. Ensaio da Apúlia

Para tentar colmatar a reprodução dos NGR nos porta-enxertos, selecionou-se um dos porta-enxertos mais bem sucedidos no ensaio da Freguesia da Estela e realizou-se, em 2019, um novo ensaio na Freguesia da Apúlia, em que foi aplicado o fungo antagonista *Pochonia chlamydosporia*. Este ensaio decorreu no âmbito do mesmo projeto e, neste estudo, o

principal objetivo, foi perceber como a adição de um controlo biológico de NGR afeta a comunidade microbiana do solo.

2.2.1. Localização do ensaio e condições edafoclimáticas

O ensaio em questão foi realizado numa estufa de produção de tomate localizada no ponto de coordenadas 41°28'34.4"N 8°46'09.5"W, na freguesia da Apúlia do concelho de Póvoa de Varzim (Figura 2.18). Assim como a estufa do ensaio da Estela, a estufa deste ensaio estava naturalmente infestada por NGR, que foram identificados como pertencendo à espécie *Meloidogyne incognita*.

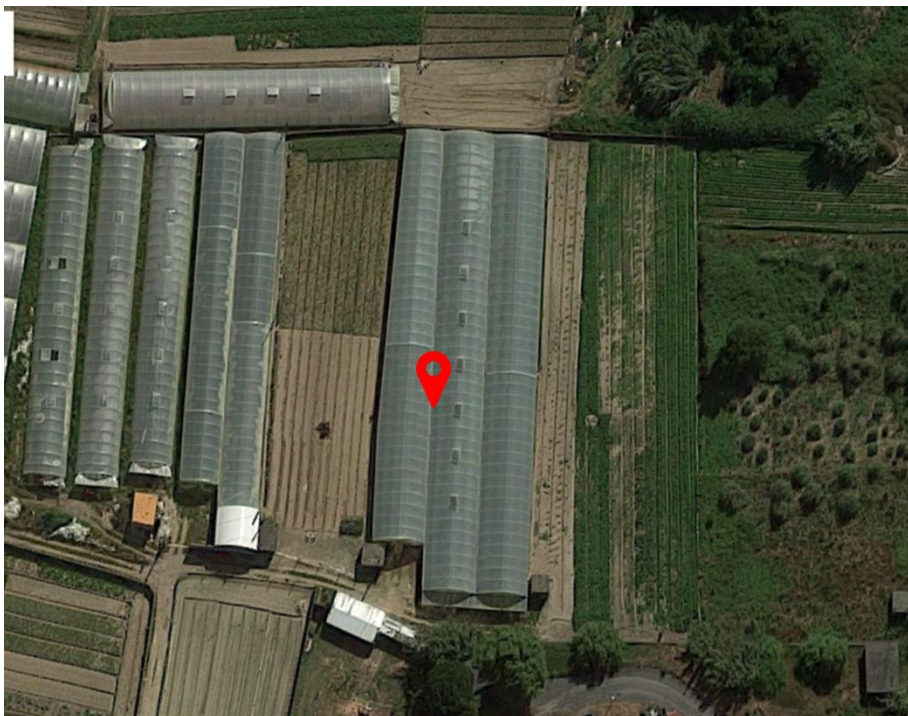


Figura 2.18: Localização da estufa de produção de tomate onde foi instalado o ensaio da Apúlia (Imagem aérea retirada de Google Maps)

A estufa deste ensaio apresentava uma área total de aproximadamente 2500 m² e estava dividida em 3 setores. Como se pode observar na Figura 2.19 o ensaio foi instalado no primeiro setor, à frente da porta e ao lado da janela (pela indicação do produtor, esta era a zona onde tinha mais nemátodes), em três linhas mais centrais, entre tomateiros Coração de Boi enxertado em Embajador geridas pelo produtor. As plantas do ensaio foram devidamente identificadas com fita de sinalização, assim como os talhões, com spray branco no filme de polietileno preto usado para o controlo de plantas infestantes.

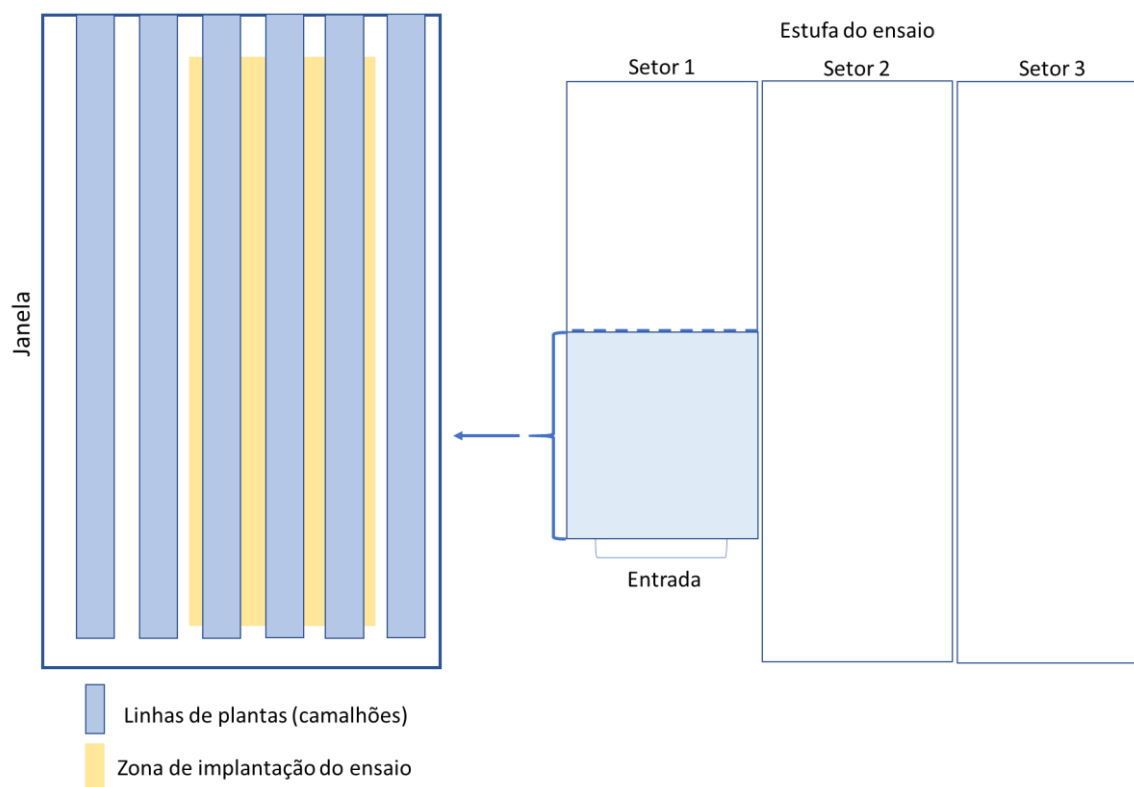


Figura 2.19: Esquema da estufa localizada na Apúlia, onde decorreu o ensaio

As condições climáticas da Apúlia são bastante similares à freguesia da Estela, tendo sido as mesmas descritas no ponto 2.1.1.

Os terrenos de cultivo em Apúlia estendem-se ao longo da faixa costeira sobre uma ampla plataforma regular com inclinação para o oceano atlântico. Mais a este existem dois tipos de solo podzóis (solo arenoso) mais ou menos permeáveis: os hidromórficos com qualidades favoráveis à agricultura e os não hidromórficos onde somente os pinhais conseguem vingar. Contudo, este tipo de solo, com menos aptidão agrícola, é utilizado por agricultores mais carenciados. Através da técnica da “descoberta”, removem as areias até atingir o nível freático e enriquecendo-os com fertilizantes orgânicos. Com o passar dos anos, os solos tendem em estabilizarem-se tornando-se mais férteis. Devido à pluviosidade invernal, são abertos vários regos ou sangradouros por onde se escoam os excessos de água. Mais no interior desta freguesia, os solos são constituídos superficialmente por depósitos arenopelíticos, menos secos e mais ricos em húmus do que os solos desenvolvidos em areias dunares, apresentando estes uma cor escura e uma maior fertilidade (Correia, 2013).

2.2.2. Instalação do ensaio

A transplantação dos tomateiros ocorreu no dia 17 de janeiro de 2019, exceto as plantas do tratamento E, que foram plantadas no dia seguinte pelo produtor. O ensaio foi dividido em 3 repetições de 4 tratamentos distintos (Quadro 2.5). O esquema do ensaio está representado na Figura 2.20. O compasso de plantação foi de 0,4 m entre plantas e 2 m entrelinha, sendo que as 3 plantas centrais foram alvo do estudo, servindo as restantes de guarda.

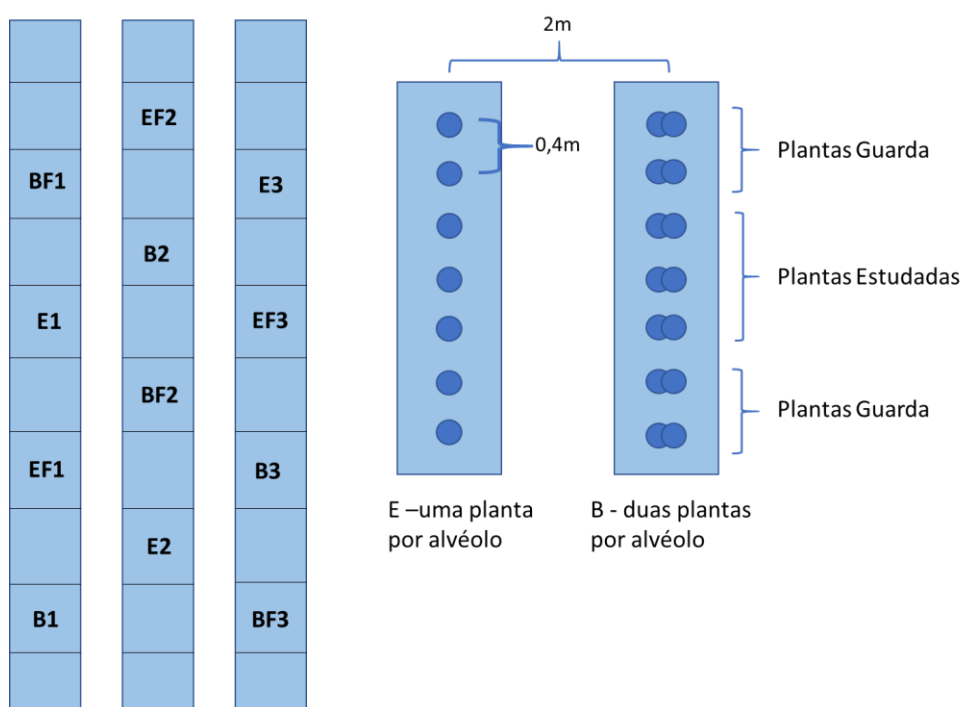


Figura 2.20: Esquema da disposição dos tratamentos do ensaio

Quadro 2.5: Tratamentos utilizados no ensaio, respetivos códigos e forma de condução

| Tratamento | Código | Nº de hastes | Nº de plantas por alvéolo |
|--|--------|--------------|---------------------------|
| Coração de Boi não enxertado | B | 1 | 2 |
| Coração de Boi com Fungo | BF | 1 | 2 |
| Coração de boi enxertado em Embajador | E | 2 | 1 |
| Coração de boi enxertado em Embajador com fungo | EF | 2 | 1 |

2.2.3. Inoculação do fungo no solo

O fungo *Pochonia Chlamydosporia* foi aplicado nos talhões dos tratamentos BF e EF, buraco a buraco, no dia 17 de janeiro da seguinte forma: retirou-se com uma sonda cerca de 300 ml de solo que se transferiu para um saco de plástico, de seguida misturou-se bem no saco o inóculo contendo 150×10^5 clamidósporos do fungo, com esse solo, para homogeneizar melhor a distribuição do fungo na área que ia ser colonizada pela raiz.

Através da recolha mensal de amostras de solo e análise das mesmas em laboratório, foi-se acompanhando ao longo do tempo do ensaio, o estabelecimento do fungo no solo, sendo que, ao terceiro mês, se notou uma baixa colonização deste. De forma a contrariar a baixa colonização do fungo, fez-se uma nova aplicação no dia 19 de março, com a mesma quantidade de clamidósporos por buraco. Nesta altura, as plantas já estavam bem enraizadas e aplicou-se o fungo de forma diferente: abriu-se um rego pouco profundo ao longo do talhão a inocular e a aproximadamente 10 cm dos caules das plantas, despejou-se o fungo tapando e misturando um pouco, tendo-se regado no final.

2.2.4. Fertilização da cultura

A fertilização das plantas foi feita através da rega, sendo que a formulação (ajustada de acordo com as análises da água) dos fertilizantes se encontra Anexo 3.

2.2.5. Recolha de amostras de solo

As amostras de solo foram colhidas mensalmente, desde a transplantação dos tomateiros em 17 de janeiro de 2019, até ao levantamento do ensaio que ocorreu no dia 16 de julho de 2019. De cada talhão, foram colhidas três amostras a uma profundidade de 10-20 cm, na zona da raiz e a pelo menos 20 cm do caule das três plantas centrais do ensaio. Estas três amostras, foram colhidas para um balde e cuidadosamente misturadas, obtendo-se uma amostra composta, de onde se retirou uma subamostra de cerca de 50 ml. As subamostras obtidas de cada talhão foram guardadas em tubos estéreis de 50 ml de capacidade, devidamente identificadas e transportadas no escuro (refrigeradas) até ao laboratório da ESA-IPVC.

2.2.6. Caracterização da comunidade microbiana do solo

Os perfis fisiológicos das comunidades microbianas do solo, e a sua evolução ao longo do tempo do ensaio, foram determinados com o sistema BiologTM através da análise dos padrões de utilização de substratos presentes em microplacas EcoPlate (BiologTM, Hayward,

Califórnia, EUA) como descrito por Garland e Mills (1991). Cada placa tem 96 poços e incluiu três repetições de 31 fontes de carbono diferentes, e três poços sem nenhuma fonte de carbono, que serviu como controle.

2.2.6.1. Preparação das amostras de solo e inoculação das Ecoplates-Biolog™
O protocolo utilizado foi adaptado de Frac *et al.* (2012). Foram pesados 10g de solo utilizando-se espátulas estéreis e colocou-se essa porção de solo num frasco com 90 ml de água estéril. Agitou-se a solução de solo durante 20 minutos num agitador de frascos a 200 rotações/minuto. De seguida, na câmara de fluxo laminar, pipetou-se 1 ml de suspensão de solo para um tubo com 9 ml de água estéril e, depois de agitar no vortex, transferiu-se 2 ml dessa diluição para tubos com 18ml de água estéril. Agitou-se novamente e depositou-se a suspensão no contentor do kit Biolog™. Para cada amostra correspondente aos diferentes tratamentos e repetições do ensaio em estufa, procedeu-se à inoculação de uma microplaca Ecoplate (Figura 2.21) devidamente identificada. Cada poço foi inoculado com 150 µl da suspensão de solo recorrendo-se a uma pipeta multicanal. As microplacas foram incubadas a 25°C e a absorvância de cada poço lida a 590 nm em intervalos de 24 horas, durante um período de 10 dias, usando um leitor de microplacas “Asys UVM 340 Microplate Reader” da empresa Biochrom (Figura 2.22). Os dados obtidos após 144 h de incubação, quando a atividade microbiana estabilizou, foram usados para avaliação dos índices de diversidade e para realização das análises estatísticas.



Figura 2.21: EcoPlate inoculada

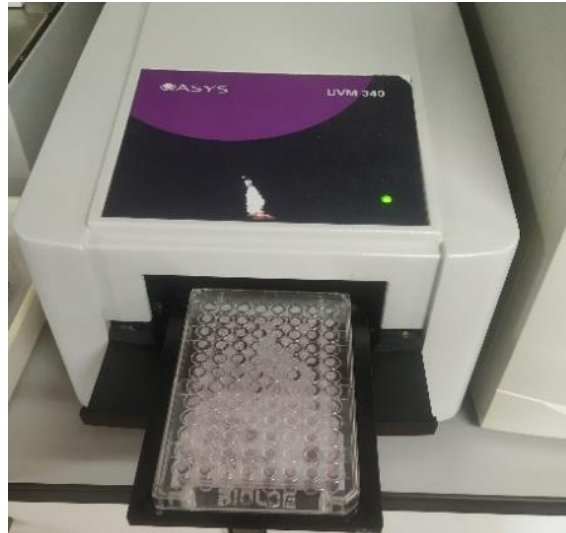


Figura 2.22: Leitor de microplacas utilizado

2.2.6.2. Análise da diversidade metabólica

De maneira a minimizar possíveis efeitos de diferença de inóculo entre as amostras, as leituras obtidas a partir dos poços de controlo (sem adição de qualquer fonte de carbono) foram subtraídas às leituras da absorbância de cada um dos restantes poços, para eliminar a cor de fundo gerada pela presença de substratos de carbono e da suspensão de solo adicionada.

A capacidade de os microrganismos utilizarem diferentes fontes de carbono em comunidades microbiológicas, foi medida pelo valor médio de desenvolvimento da cor “average well color development” - AWCD (Garland e Mills (1991), resultante da oxidação de substratos durante a respiração dos microrganismos. Este indicador foi calculado dividindo a soma de intensidade da cor por 31 (número de substratos utilizados), para cada uma das amostras lidas às 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240h (Choi e Dobbs, 1999).

A fórmula utilizada para o cálculo da AWCD foi: $AWCD = \sum_{i=1}^n (C_i - R) / n$, em que C_i é o valor de absorbância a 590 nm de cada poço, R é o valor da absorbância do poço de controlo e n é o número de poços. Quando $C_i - R$ foi menor que 0 ou negativo, considerou-se que o composto não era utilizado (Classen *et al.*, 2003).

Os índices de diversidade S (riqueza de substratos), H (índice de diversidade de Shannon) e E (uniformidade de Shannon) foram calculados. O valor S refere-se ao número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana e o valor H compreende tanto a riqueza de substratos, como a intensidade com que as fontes de carbono são utilizadas

pela comunidade microbiana do solo, em que $H = \sum P_i \ln P_i$, sendo P_i a razão entre a atividade de um determinado substrato e a soma da atividade de todos os substratos (Keylock, 2005). O índice E mede o equilíbrio de proporções entre substratos, e é utilizado para definir a uniformidade, ou homogeneidade, da distribuição de abundância de substratos utilizados numa comunidade: $E = H / \ln S$, em que H é a diversidade de Shannon e S, a riqueza de substratos (Keylock, 2005).

Para a análise da utilização de compostos de carbono presentes na microplaca Ecoplate, os compostos foram agrupados em 5 grupos, de acordo com o proposto por Weber e Legge, (2009): Aminas e amidas; Polímeros; Hidratos de carbono; Ácidos carboxílicos e acéticos; Aminoácidos. A análise da diversidade metabólica foi feita através da soma da AWCD dos diferentes grupos de compostos para o mês de janeiro e julho de 2019 (início e fim do ensaio, respectivamente) após 144h de incubação.

2.3. Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada com recurso ao software IBM SPSS Statistics® v23 e ao Microsoft Excel®. Realizaram-se comparações de médias mediante o Teste T para amostras independentes e a análise de variância (ANOVA), através da função “General linear model”. Os tratamentos foram comparados pelo teste da diferença mínima significativa (LSD), sendo a significância estatística considerada ao nível de probabilidade de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Condições de temperatura durante o ensaio

O ensaio decorreu desde a plantação, dia 07 de junho de 2018, até à última colheita, dia 25 de outubro, 141 dias depois da plantação. A primeira colheita comercial do tomate realizou-se no dia 20 de agosto 2018, 75 dias após a plantação. A temperatura do ar exterior e dentro da estufa (Figura 3.1), assim como a temperatura do solo no exterior e dentro da estufa, sem e com cobertura de filme de polietileno preto (Figura 3.2), foram registadas entre o dia 13 de junho e o dia 10 de outubro, nomeadamente entre os dias 6 e 126 após a plantação (Figura 3.1 e Figura 3.2).

A temperatura média do ar dentro da estufa foi de 19,8°C, cerca de 1°C acima da temperatura média do exterior (Quadro 3.1) e diminuiu da plantação até ao início da colheita de 21,1°C para 18,0°C durante o período de colheita (Figura 3.1). A temperatura média do solo com cobertura de filme de polietileno preto (21,0°C) foi 0,6°C mais elevada do que a temperatura média do solo no exterior, mas foi inferior em 2,3°C em comparação com a temperatura média do solo no exterior. Da plantação até ao início da colheita a temperatura média do solo com o filme de polietileno foi de 22,5°C e diminuiu para 19,1°C durante o período de colheita (Figura 3.2).

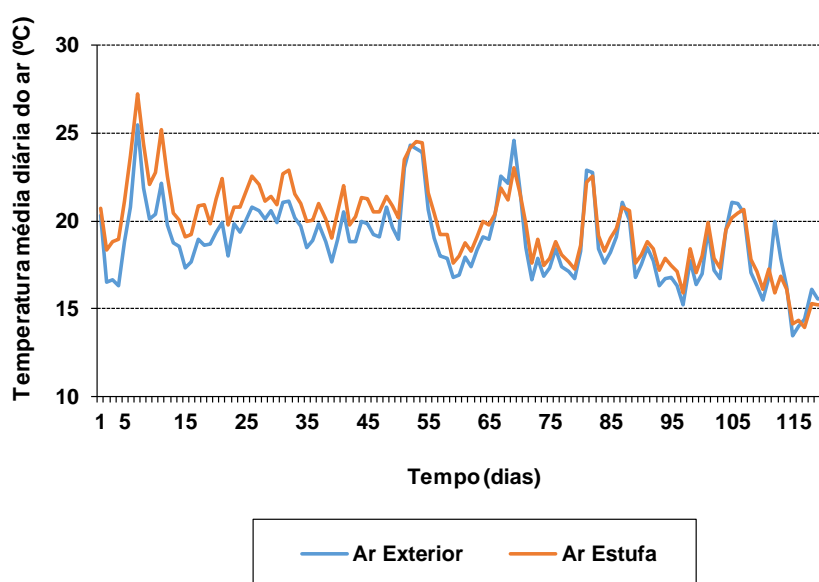


Figura 3.1: Temperatura média diária do ar (°C) no período entre 13 de junho e 10 de outubro de 2018, no exterior e dentro da estufa onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, em Rio Alto, Estela, Póvoa de Varzim.

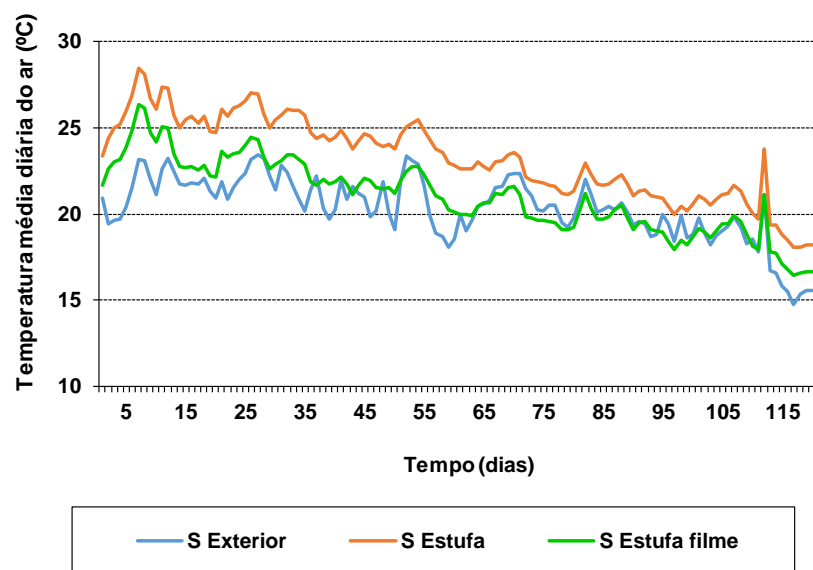


Figura 3.2: Temperatura média diária do solo (°C) no período entre 13 de junho e 10 de outubro de 2018, no exterior e dentro da estufa, sem e com cobertura de filme de polietileno preto, onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, em Rio Alto, Estela, Póvoa de

Quadro 3.1: Temperatura média, valor da temperatura máxima e mínima (°C) do ar, no exterior e dentro da estufa onde decorreu o ensaio com a cultura de tomate, e temperatura média do solo, no exterior e dentro da estufa sem e com cobertura de filme de polietileno

| | Ar exterior | Ar estufa | Solo exterior | Solo estufa | Solo estufa com filme |
|-------------|-------------|-----------|---------------|-------------|-----------------------|
| Temp. média | 18,9 | 19,8 | 20,4 | 23,3 | 21,0 |
| Temp. máx. | 25,5 | 27,3 | 23,5 | 28,5 | 26,4 |
| Temp. min. | 13,5 | 13,9 | 14,7 | 18,0 | 16,4 |

3.2. Produtividade das culturas de tomate

O número total de frutos e a produtividade foram idênticos em todos os tratamentos de plantas enxertadas e não enxertadas, em média, 14,8 kg m⁻² e 61,4 frutos m⁻² (Figura 3.3).

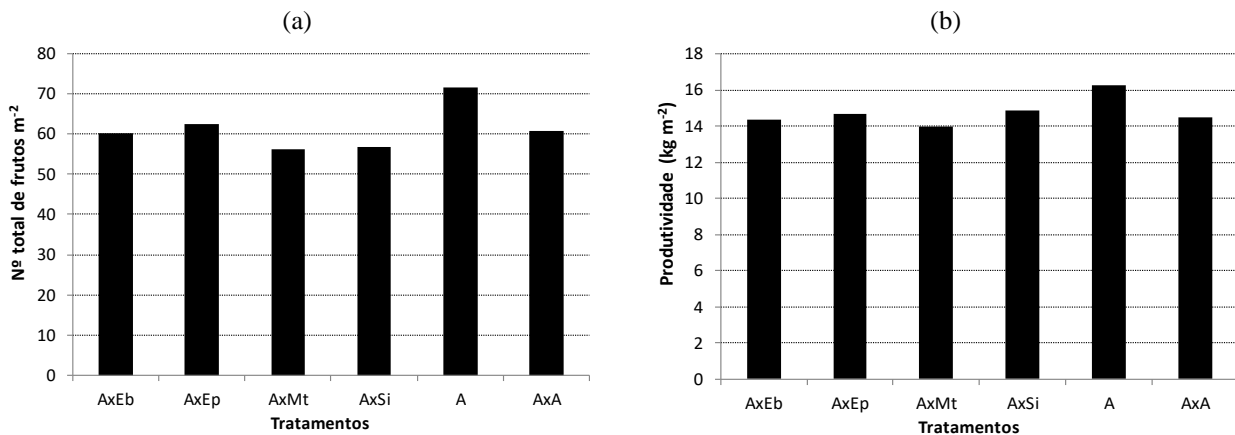


Figura 3.3: (a) Número total de frutos (m⁻²) e (b) produtividade (kg m⁻²) para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

O início da colheita das plantas da cv. *Anairis* não enxertadas ocorreu cerca de uma semana mais cedo do que as plantas enxertadas nos quatro porta enxertos (p.e.) em estudo e cerca de dois dias antes das plantas enxertadas na própria cultivar (cv).

Todas as plantas enxertadas, para além do início da colheita ter sido mais tardio, apresentaram sempre uma tendência de menor produção e menor número de frutos, comparativamente com as plantas não enxertadas, apesar da produtividade final não ter sido significativamente diferente (Figura 3.4 e Figura 3.5).

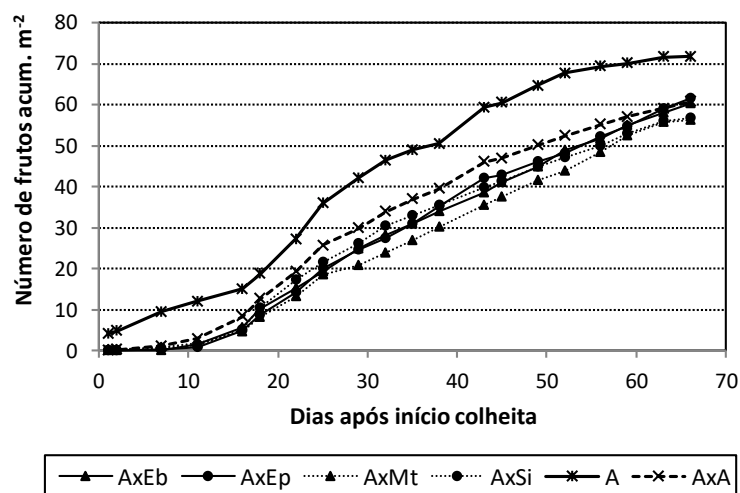


Figura 3.4: Número de frutos acumulados (m⁻²), durante o período da colheita (20/8 a 4/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

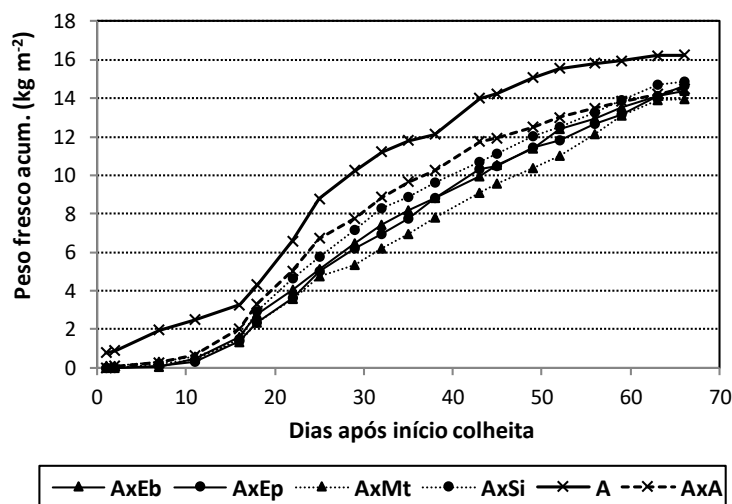


Figura 3.5: Peso fresco acumulado (kg m^{-2}), durante o período da colheita (20/8 a 4/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Sílex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

3.3. Calibre dos frutos

Para a determinação dos calibres foram registados em todas as colheitas os valores do número de frutos (Figura 3.6) e o peso fresco (Figura 3.7) por calibre, considerando-se as seguintes classes de calibres comerciais (≤ 56 , 57-66, 67-81, 82-102 e > 102 mm).

Para todos os calibres o peso dos frutos foi idêntico em todos os tratamentos do ensaio (Figura 3.7). No entanto, o número de frutos dos calibres inferiores, ≤ 66 mm, foi superior nas plantas não enxertadas, auto-enxertadas e enxertadas no p.e. Embajador, em comparação com as plantas enxertadas nos restantes três p.e. (Figura 3.6 a). No calibre intermédio de 67-81 mm, a cv. Anairis não enxertada e enxertada no p.e. Emperador produziram mais frutos do que todos os restantes tratamentos e no calibre 82-102 mm não ocorreram diferenças significativas entre todos os tratamentos do ensaio. O maior número de frutos de maior calibre (> 102 mm) foi obtido nas plantas enxertadas nos p.e. Embajador e Sílex, superior ao verificado nas plantas não enxertadas (Figura 3.7 b).

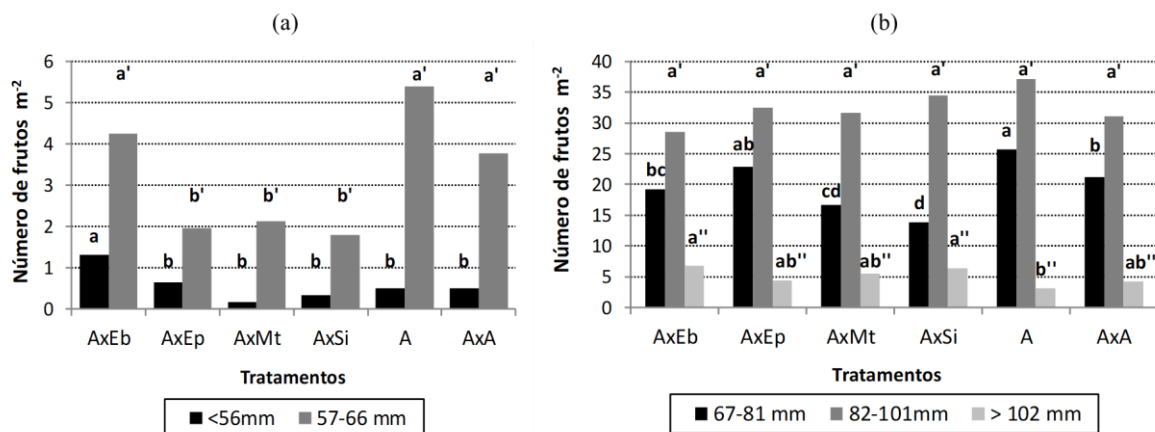


Figura 3.6: Número de frutos de tomate m^{-2} , para frutos com calibre (a) ≤ 56 , 57-66 mm e (b) 67-81, 82-102 e > 102 mm, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

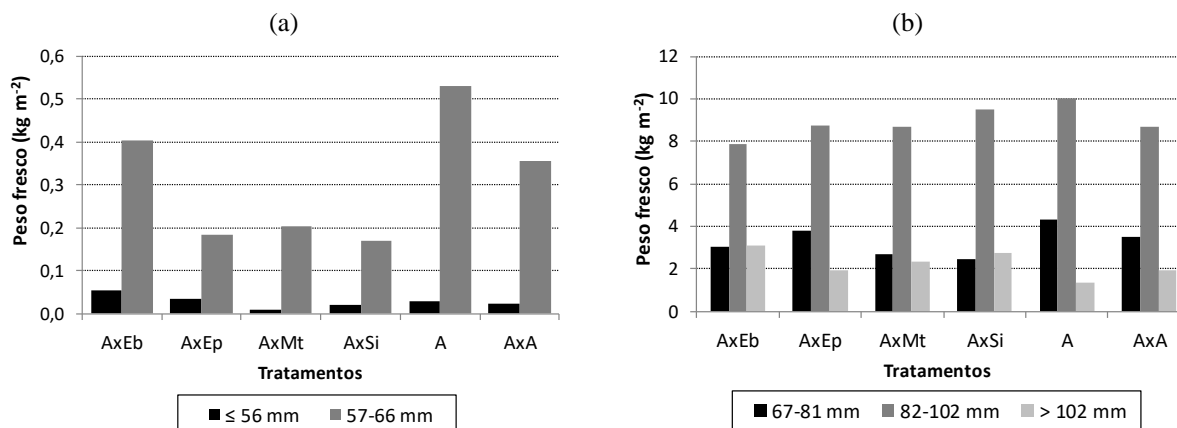


Figura 3.7: Peso fresco do tomate (kg m^{-2}), para frutos com calibre (a) ≤ 56 , 57-66 mm e (b) 67-81, 82-102 e > 102 mm, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

Quando consideramos a percentagem do peso fresco dos frutos para três calibres agrupados, as plantas enxertadas nos três p.e. Emperador, Multifort e Silex foram as que obtiveram uma menor percentagem de peso de frutos de menor calibre, ≤ 66 mm, em comparação com as plantas enxertadas no p.e. Embajador e não enxertadas. No entanto, entre estes dois tratamentos, ocorreram diferenças significativas na percentagem do peso dos frutos de maior calibre (> 102 mm), tendo o p.e. Embajador, assim como o p.e. Silex obtido uma maior percentagem, em comparação com as plantas não enxertadas (Figura 3.8), tal como se tinha verificado no número de frutos deste calibre.

Em todos os tratamentos do ensaio a maior percentagem de frutos apresentaram um calibre compreendido entre 67 e 102 mm, semelhante entre todos os tratamentos à exceção das plantas enxertadas no p.e. Embajador, cuja percentagem foi inferior (75,5%) à das plantas não enxertadas (88,2%) e enxertadas no p.e. Emperador (85,4%) (Figura 3.8).

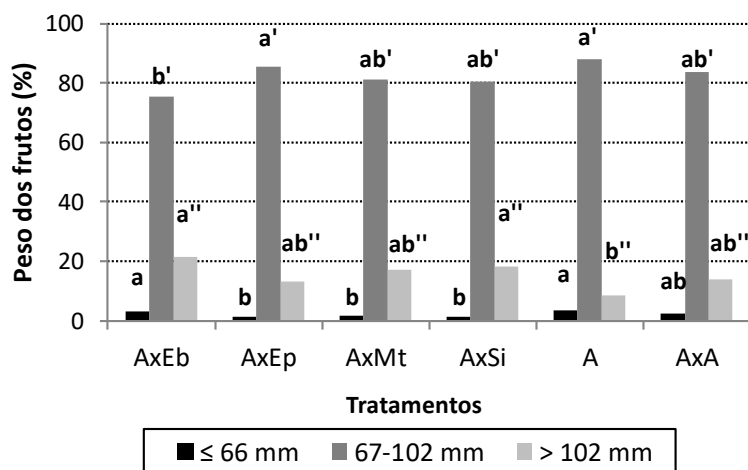


Figura 3.8: Percentagem do peso fresco dos frutos para os calibres ≤ 66 , 67-102 e > 102 mm, para os tratamentos de tomate cv. Anairis, enxertada nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertada na própria cultivar (AxA) e não enxertada (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.4. Defeitos nos frutos

Nos registos de campo foram também contabilizados para as três repetições de todos os tratamentos, o número de frutos sem defeito, com fendas cicatrizadas e com outros defeitos que incluíram fendas, forma irregular, defeitos na coloração, pisaduras, sujidade e sintomas de ataque da *Tuta absoluta*.

A percentagem de frutos sem defeito e com fendas cicatrizadas foi idêntica em todos os tratamentos do ensaio, em média, respetivamente, 91,5% e 4,2% (Figura 3.9). A percentagem dos frutos que apresentaram pelo menos um dos defeitos englobados em ‘outros’, foi significativamente inferior ($p < 0,05$) nas plantas enxertadas nos p.e. Multifort e Silex, em comparação com as plantas da cv. Anairis não enxertada, e idêntica à percentagem obtida com o p.e. Emperador (Figura 3.9).

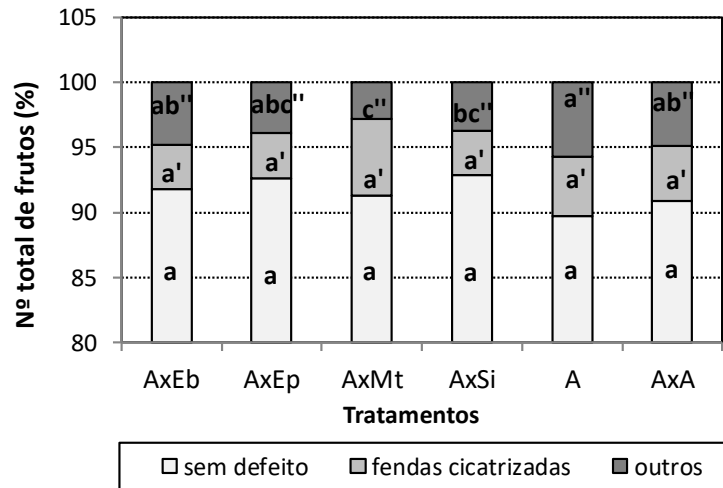


Figura 3.9: Percentagem do número total de frutos sem defeito, com fendas e outros, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.5. Matéria seca dos frutos

A MS dos frutos foi idêntica nas plantas da cv. *Anairis* não enxertada e auto-enxertada, em média 5,5%, e foi superior à MS das plantas enxertadas nos quatro p.e. em estudo ($p < 0,05$), cujos valores foram também semelhantes entre si, em média 4,7% (Figura 3.10). De um modo geral, estas diferenças foram consistentes durante todo o período de colheita considerado, tendo a MS aumentado, em média, de 4,6% para 5,4% (Figura 3.11).

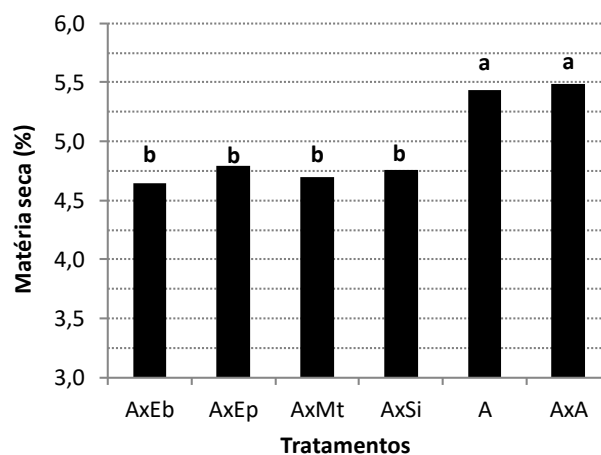


Figura 3.10: Percentagem de MS para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

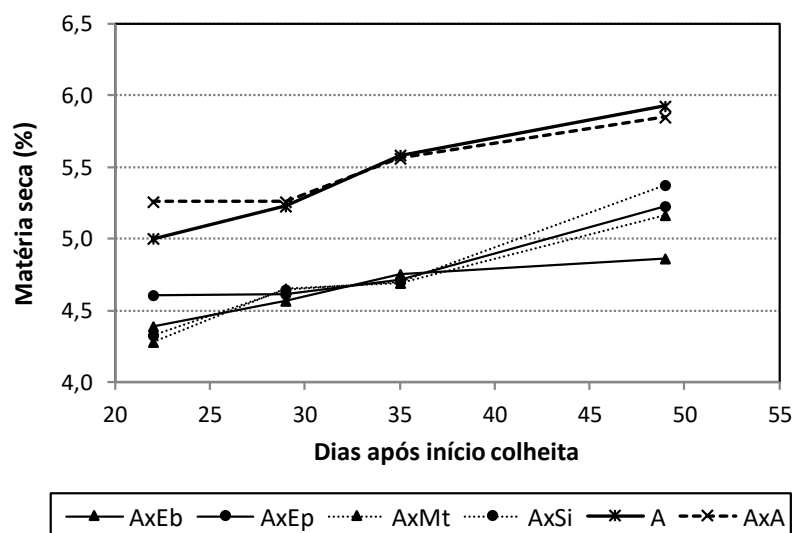


Figura 3.11: Percentagem de MS, 22, 29 e 35 dias após o início da colheita, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

3.6. Firmeza, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos frutos

Não existiram diferenças significativas entre os tratamentos para o valor médio da firmeza dos frutos que foi, em média, de 4,6 kg (Figura 3.12).

A cv. Anairis não enxertada produziu frutos mais doces ($4,8^{\circ}\text{Brix}$) ($p < 0,05$) do que as plantas enxertadas nos p.e. Embajador e Silex (em média $4,2^{\circ}\text{Brix}$), e frutos menos ácidos ($0,41 \text{ g } 100\text{g Pf}^{-1}$) do que as plantas enxertadas no p.e. Emperador ($0,45 \text{ g } 100\text{g Pf}^{-1}$). No entanto, o pH foi superior nas plantas enxertadas no p.e. Silex ($\text{pH}=4,33$), em comparação com os restantes três p.e. (em média $\text{pH}=4,28$), mas foi semelhante ao pH das plantas não enxertadas e auto-enxertadas (Figura 3.12).

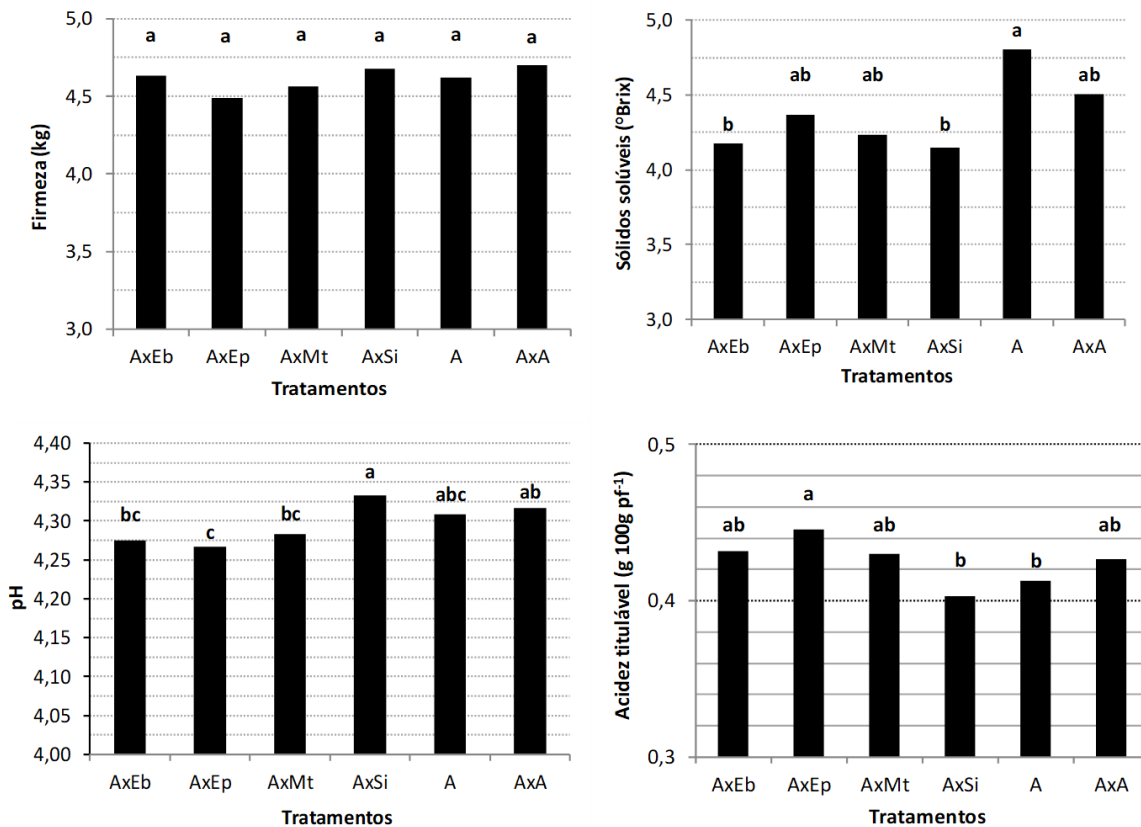


Figura 3.12: Firmeza (kg), total de sólidos solúveis (°Brix), pH e acidez titulável (g 100g Pf-1) para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

A evolução dos diferentes parâmetros de qualidade dos frutos, ao longo do período de colheita, revelou uma tendência de diminuição para a firmeza e pH, ao contrário da MS, e uma tendência sem grandes oscilações para os valores do teor em sólidos solúveis e acidez titulável (Figura 3.13).

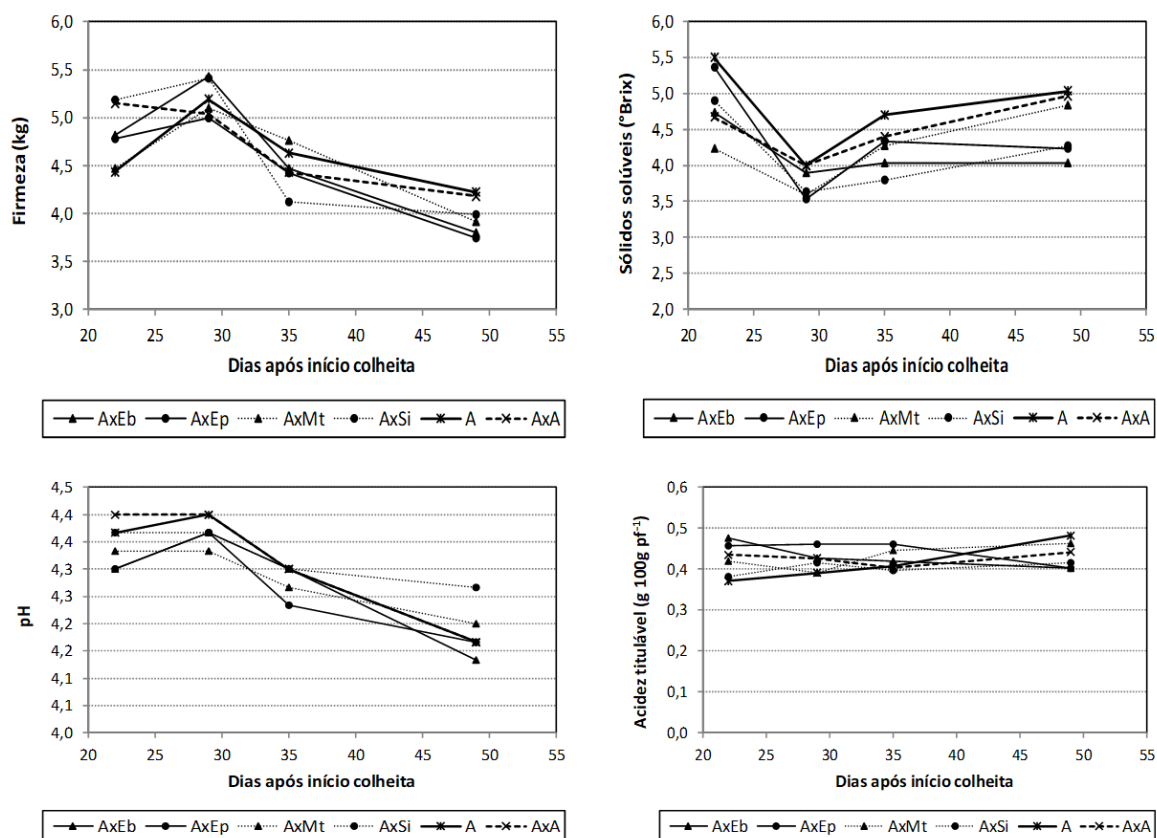


Figura 3.13: Firmeza (kg), total de sólidos solúveis (°Brix), pH e acidez titulável (g 100g Pf⁻¹), 22, 29 e 35 dias após o início da colheita, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

3.7. Grau de maturação dos frutos

A avaliação do grau de maturação do tomate, à colheita, consistiu em quatro colorações: verde/rosado, rosado/verde, rosado/vermelho e vermelho, tendo-se registado o número de frutos e o peso fresco por cada coloração, em todas as repetições de cada tratamento.

Ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) no grau de maturação à colheita, à exceção do rosado/verde. De um modo geral, as plantas da cv. *Anairis* não enxertada e auto-enxertada produziram uma maior percentagem de frutos mais maduros (rosado/vermelho e vermelho) e menos frutos verde/rosado, em comparação com as plantas enxertadas nos quatro p.e. em estudo (Figura 3.14). Na Figura 3.15, agrupou-se as cores associadas aos frutos verdes (verde/rosado e rosado/verde) e as cores associadas a frutos maduros (rosado/vermelho e vermelho) sendo possível constatar que, de facto, as plantas não enxertadas e auto-enxertadas, produziram um maior número de frutos mais maduros do que as plantas enxertadas nos quatro p.e. em estudo.

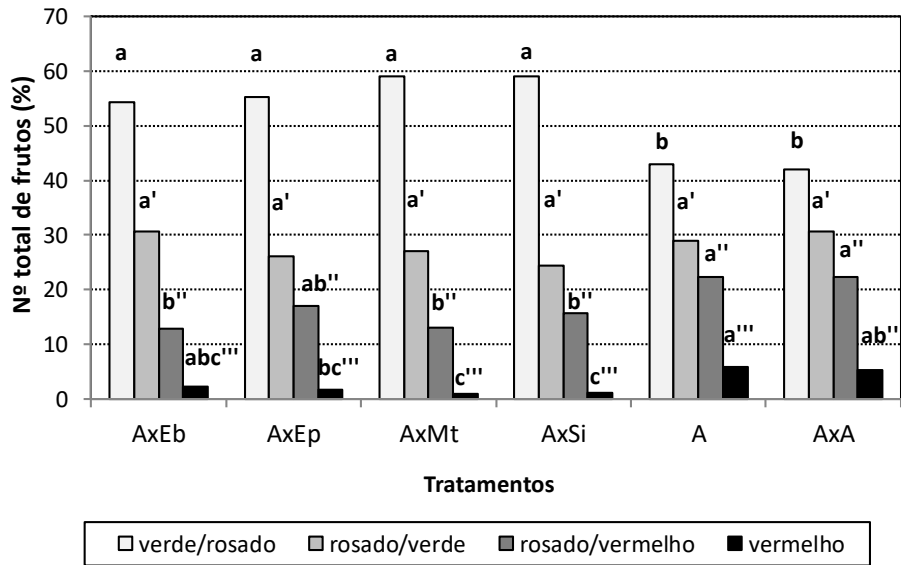


Figura 3.14: Percentagem do número total de frutos, para os quatro níveis de maturação, Verde/Rosado, Rosado/Verde, Rosado/Vermelho e Vermelho, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

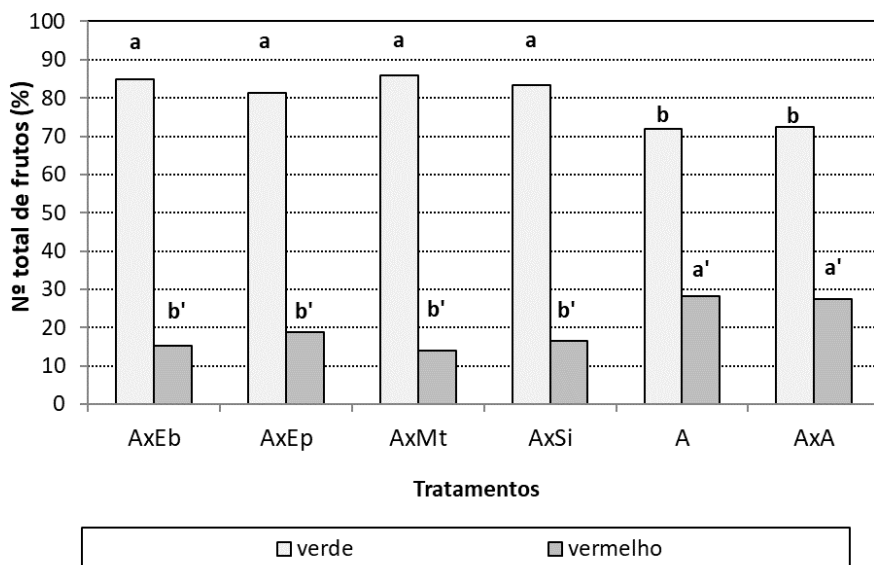


Figura 3.15: Percentagem do número total de frutos, para dois grupos de maturação, Verde e Vermelho, para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.8. Aspetos económicos da produção

Com base nas cotações do tomate, no mercado da Região (EDM), entre os dias 20 de agosto e 4 de outubro de 2018, o tomate sofreu algumas variações indicadas no Quadro 3.2.

Neste mercado, o tomate de calibre > 82 mm teve sempre uma cotação de mais 5 cêntimos do que o tomate de calibre 67-81 mm. As semanas onde se obtiveram os melhores preços foi a primeira (semana 34) e a última (semana 40).

Quadro 3.2: Variação do preço do tomate no Mercado da Região de Entre Douro e Minho (EDM) nas semanas de produção do ensaio.

| Semana | Data (2018) | Tomate Sulcado (Euros/kg) | |
|--------|---------------|---------------------------|---------|
| | | 67-81 mm | > 82 mm |
| 34 | 20/08 a 26/08 | 0,6 | 0,65 |
| 35 | 27/08 a 02/09 | 0,4 | 0,45 |
| 36 | 03/09 a 09/09 | 0,35 | 0,4 |
| 37 | 10/09 a 16/09 | 0,35 | 0,4 |
| 38 | 17/09 a 23/09 | 0,35 | 0,4 |
| 39 | 24/09 a 30/09 | 0,5 | 0,55 |
| 40 | 01/10 a 07/10 | 0,7 | 0,75 |
| 41 | 8/10 a 15/10 | 1 | 1,05 |
| 42 | 16/10 a 23/10 | 0,8 | 0,85 |
| 43 | 24/10 a 30/10 | 0,8 | 0,85 |

Fonte: GPP, 2019

Como se pode observar na Figura 3.16, tendo em conta as oscilações do preço de mercado dos tomates, o lucro bruto que se obteve dos frutos das plantas dos diferentes tratamentos foi bastante similar. Os tratamentos AxEp, AxMt e A foram os que apresentaram em média, menor lucro 8,08€ m⁻², enquanto que os tratamentos AxEp e AxMt apresentaram um lucro médio de 8,32€ m⁻² (Quadro 3.3). Existe uma diferença de 0,24€ m⁻², entre os tratamentos AxEp/AxMt e os tratamentos AxEb/AxSi/A que, na perspetiva do produtor faz toda a diferença no lucro final obtido com esta cultura.

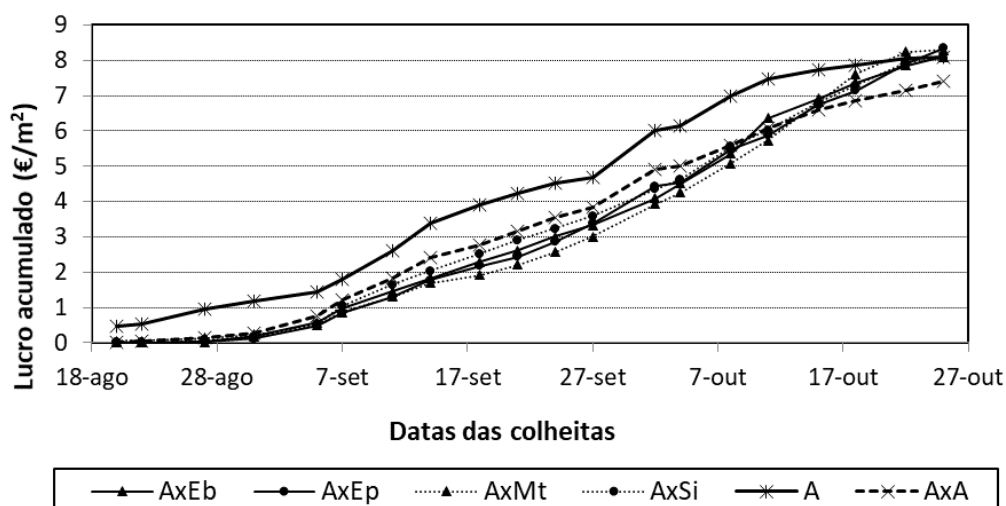


Figura 3.16: Lucro acumulado m^{-2} , durante o período da colheita (20/8 a 25/10/2018), para os tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxEt) e Silex (AxEs), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A).

Quadro 3.3: Lucro obtido por cada tratamento do estudo em $€/m^{-2}$

| Tratamento | Lucro acumulado($€/m^{-2}$) |
|------------|-------------------------------|
| AxEb | 8,09 |
| AxEp | 8,33 |
| AxEt | 8,30 |
| AxEs | 8,07 |
| A | 8,08 |
| AxA | 7,39 |

O custo de plantação com plantas não enxertadas foi de $0,74 € m^{-2}$, enquanto com plantas enxertadas o custo foi de $1,04 € m^{-2}$ (Anexo 4). Esta diferença de $0,3 € m^{-2}$ teria de ser compensada pela maior produtividade das plantas enxertadas, o que não se verificou no presente estudo, tendo havido, em média, uma diferença de apenas $0,12€ m^{-2}$ no lucro acumulado entre os tratamentos de plantas enxertadas e o tratamento de plantas não enxertadas.

3.9. Avaliação de danos e reprodução do nemátode nas raízes das plantas

Como é possível observar na Figura 3.17, os tratamentos de plantas não enxertadas e auto-enxertadas foram os que apresentaram menor nível de ataque segundo a escala de Bridge e Page (1980), sendo este último o menos afetado. Entre tratamentos com porta-enxertos diferentes, não houve diferenças significativas.

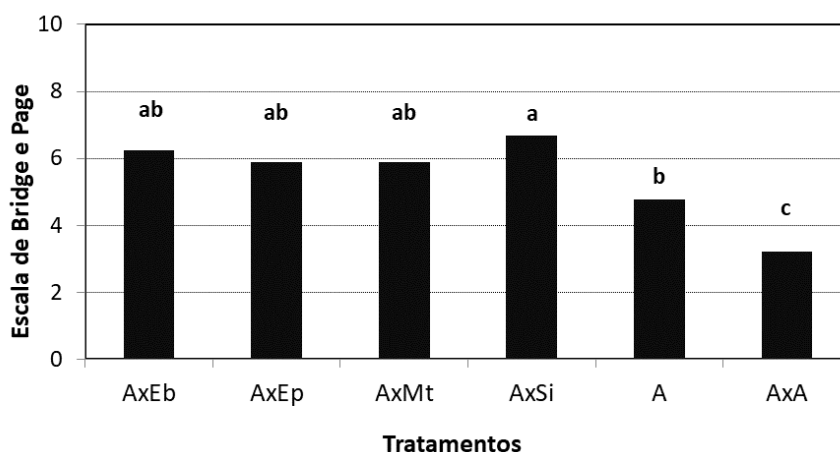


Figura 3.17: Nível de ataque segundo a escala de Bridge e Page (1980) nos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Na Figura 3.18 é possível observar que, o número de galhas, assim como, o número de massas de ovos, foram idênticos nas plantas não enxertadas e nas plantas auto-enxertadas, e foram significativamente inferiores nas plantas enxertadas nos quatro p.e. em estudo ($p < 0,05$), cujos valores foram também semelhantes entre si.

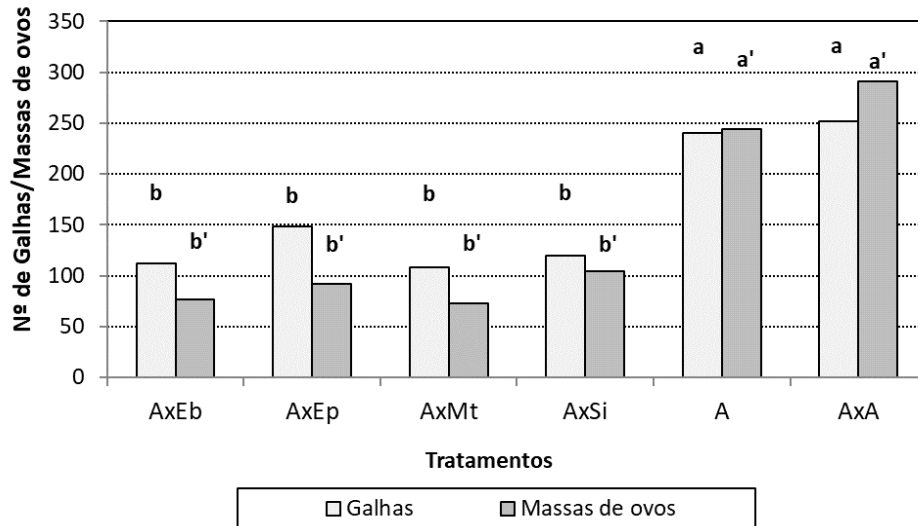


Figura 3.18: Número de galhas e massas de ovos de NGR por 3 g de raiz nos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Em relação à fecundidade das fêmeas, os tratamentos auto-enxertado e não enxertado, foram os que apresentaram menor número de ovos por massa de ovos, no entanto, apenas foram significativamente diferentes do tratamento enxertado AxEb. (Figura 3.19).

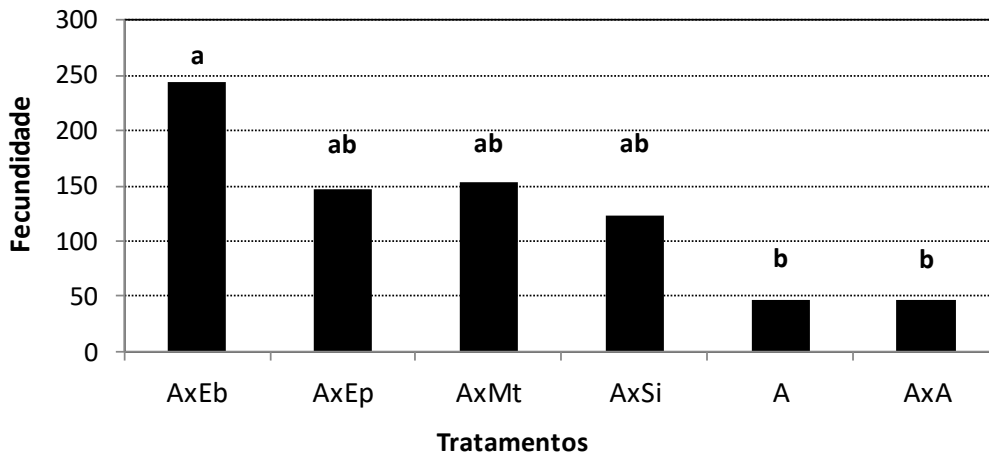


Figura 3.19: Fecundidade das fêmeas (número de ovos \times massas de ovos⁻¹) nas raízes dos tratamentos de plantas de tomate cv. Anairis, enxertadas nos porta enxertos Embajador (AxEb), Emperador (AxEp), Multifort (AxMt) e Silex (AxSi), enxertadas na própria cultivar (AxA) e não enxertadas (A). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.10. Avaliação da comunidade microbiana do solo

3.10.1. Densidade ótica média (AWCD)

A evolução do desenvolvimento médio da cor no poço (average well colour development, AWCD) durante o tempo de incubação das Ecoplates foi analisada nos diferentes tratamentos para todos os meses do ensaio (janeiro a julho de 2019). Os resultados estão representados da Figura 3.20 à Figura 3.26. Os gráficos de evolução da AWCD foram idênticos para as amostras recolhidas em todos os meses, tendo havido um desenvolvimento da cor contínuo até aproximadamente 144h após incubação. Após as 144h de incubação houve uma estabilização do desenvolvimento médio da cor até às 240h.

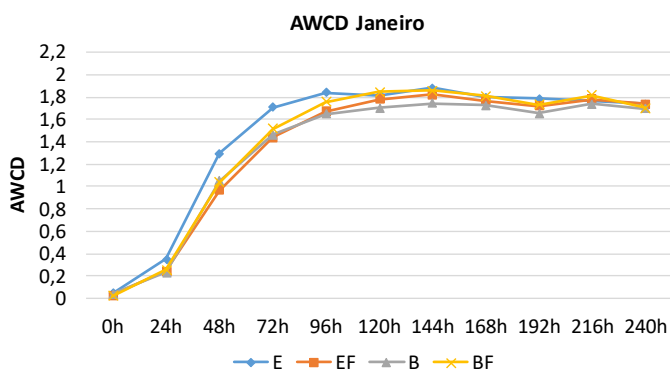


Figura 3.20: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de janeiro de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – Coração de boi c/fungo.

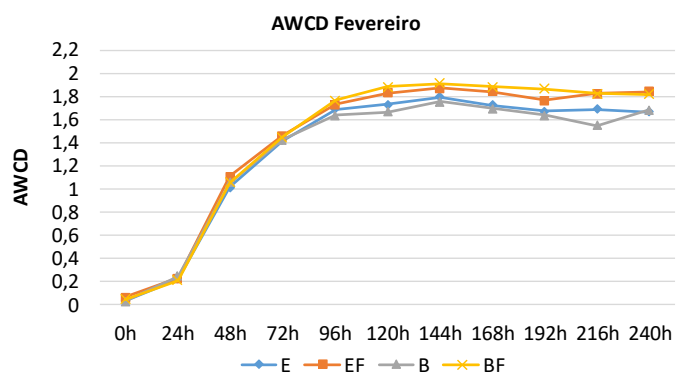


Figura 3.21: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de fevereiro de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – Coração de boi c/fungo.

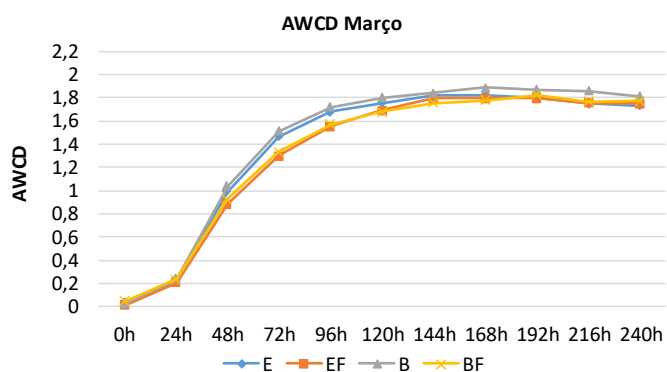


Figura 3.22: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de março de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.

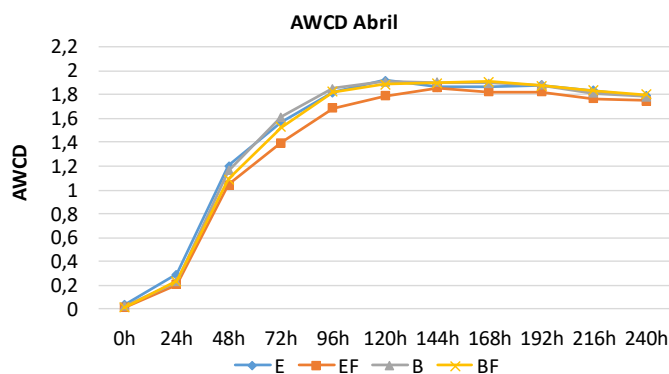


Figura 3.23: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de abril de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.

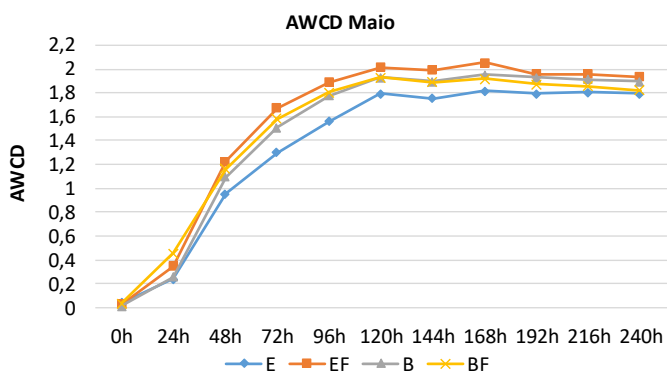


Figura 3.24: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de maio de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.

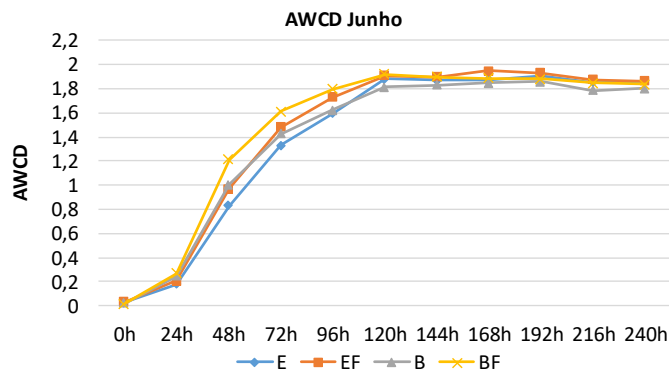


Figura 3.25: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de junho de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.

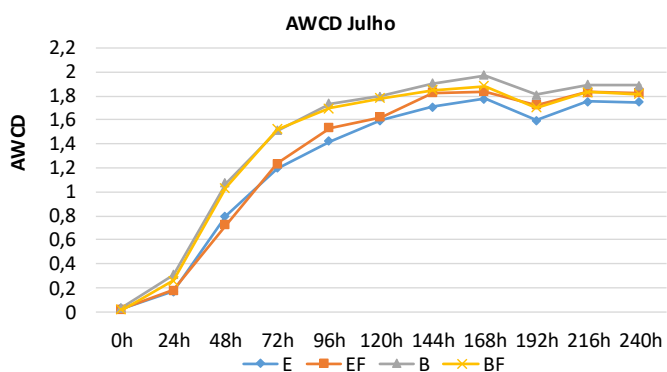


Figura 3.26: AWCD de todas as fontes de carbono durante o tempo de incubação, para o solo recolhido dos diferentes tratamentos no mês de julho de 2019. E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.

Após esta análise, fez-se então o estudo para as 144h de incubação, hora esta em que houve uma estabilização do desenvolvimento da cor, estando os resultados representados no Quadro 3.4. É possível constatar algumas diferenças entre tratamentos no mesmo mês. Em janeiro, a AWCD do tratamento E foi superior à do tratamento B. Em maio, a AWCD do tratamento E foi inferior à AWCD dos restantes tratamentos. No mês de julho, a AWCD do tratamento E, foi inferior à do tratamento B. Nos meses de fevereiro, março, abril e junho, não houve diferenças significativas entre os diferentes tratamentos do ensaio.

Quadro 3.4: AWCD média dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.) às 144h de incubação. Letras diferentes à esquerda do valor com (') , representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos).

| | E | EF | B | BF |
|------------|---|---|----------------------------|---|
| Jan | ^a 1,88 ^a ± 0,083 | ^b 1,82 ^{ab} ± 0,045 | 1,740 ^b ± 0,065 | ^b 1,86 ^{ab} ± 0,029 |
| Fev | ^{ab} 1,80 ± 0,060 | ^{ab} 1,87 ± 0,116 | 1,760 ± 0,126 | ^a 1,91 ± 0,090 |
| Mar | ^{ab} 1,82 ± 0,029 | ^b 1,80 ± 0,096 | 1,840 ± 0,086 | ^{ab} 1,75 ± 0,095 |
| Abr | ^{ab} 1,86 ± 0,093 | ^{ab} 1,86 ± 0,029 | 1,907 ± 0,136 | ^{ab} 1,90 ± 0,041 |
| Mai | ^{ab} 1,75 ^b ± 0,073 | ^a 1,99 ^a ± 0,053 | 1,900 ^a ± 0,037 | ^{ab} 1,89 ^a ± 0,067 |
| Jun | ^{ab} 1,87 ± 0,093 | ^{ab} 1,90 ± 0,098 | 1,833 ± 0,236 | ^{ab} 1,90 ± 0,088 |
| Jul | ^b 1,71 ^b ± 0,110 | ^b 1,82 ^{ab} ± 0,025 | 1,853 ^a ± 0,033 | ^{ab} 1,90 ^a ± 0,048 |

3.10.2. Índices de biodiversidade S, H, E

A riqueza de utilização de substratos pelas comunidades microbianas (S) foi analisada para as 144h de incubação, estando os resultados representados no Quadro 3.5.

No tratamento E, em janeiro e abril a riqueza de utilização de substratos foi superior ao à observada em maio e, no tratamento BF, a riqueza de utilização de substratos em março foi inferior ao registado em fevereiro, abril, junho e julho. Nos tratamentos EF e B, a riqueza de utilização de substratos não foi significativamente diferente ao longo do ensaio.

Relativamente às diferenças entre tratamentos, apenas em maio se registaram diferenças significativas, com maior riqueza de utilização de substratos (S) no tratamento com fungo EF ($31,0 \pm 0,0$) relativamente ao tratamento sem fungo E ($30,0 \pm 0,0$).

Quadro 3.5: Riqueza de substratos (S), dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo.) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com ('), representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos).

| | E | EF | B | BF |
|------------|---|---------------------------|--------------------------|---|
| Jan | ^{a'} 31,0 ± 0,000 | 30,7 ± 0,471 | 29,7 ± 1,2 | ^{ab'} 30,7 ± 0,471 |
| Fev | ^{ab'} 30,7 ± 0,471 | 30,7 ± 0,471 | 30,0 ± 1,414 | ^{a'} 31,0 ± 0,000 |
| Mar | ^{ab'} 30,3 ± 0,471 | 31 ± 0,000 | 31,0 ± 0,0 | ^{b'} 30,3 ± 0,471 |
| Abr | ^{a'} 31,0 ± 0,000 | 30,7 ± 0,471 | 31,0 ± 0,0 | ^{a'} 31,0 ± 0,000 |
| Mai | ^{b'} 30,0 ^b ± 0,000 | 31,0 ^a ± 0,000 | 30,7 ^{ab} ± 0,5 | ^{ab'} 30,7 ^{ab} ± 0,471 |
| Jun | ^{ab'} 30,3 ± 0,471 | 30,7 ± 0,471 | 30,7 ± 0,5 | ^{a'} 31,0 ± 0,000 |
| Jul | ^{ab'} 30,7 ± 0,471 | 30,7 ± 0,471 | 31,0 ± 0,0 | ^{a'} 31,0 ± 0,000 |

O índice de diversidade de Shannon (H), foi analisado após 144h de incubação, estando os resultados discriminados no Quadro 3.6. Pela sua análise é possível verificar que só se registaram diferenças significativas entre tratamentos, nas amostras de solo efetuadas em maio, tendo-se registado valores superiores do índice de diversidade de Shannon no tratamento EF ($3,38 \pm 0,008$) e BF ($3,37 \pm 0,012$) relativamente ao tratamento E ($3,32 \pm 0,0$).

Quadro 3.6: Índice de diversidade de Shannon (H) nos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com ('), representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos).

| | E | EF | B | BF |
|------------|--------------------------------------|---------------------------|---|--|
| Jan | ^a 3,37 ± 0,005 | 3,37 ± 0,012 | ^b 3,32 ± 0,037 | ^{ab} 3,35 ± 0,025 |
| Fev | ^{ab} 3,36 ± 0,0 | 3,35 ± 0,017 | ^b 3,32 ± 0,029 | ^{ab} 3,36 ± 0,008 |
| Mar | ^{ab} 3,35 ± 0,0 | 3,36 ± 0,008 | ^{ab} 3,36 ± 0,026 | ^b 3,34 ± 0,012 |
| Abr | ^a 3,38 ± 0,0 | 3,36 ± 0,012 | ^a 3,38 ± 0,005 | ^{ab} 3,37 ± 0,008 |
| Mai | ^b 3,32 ^b ± 0,0 | 3,38 ^a ± 0,008 | ^a 3,37 ^{ab} ± 0,008 | ^a 3,37 ^a ± 0,012 |
| Jun | ^{ab} 3,35 ± 0,0 | 3,38 ± 0,021 | ^{ab} 3,35 ± 0,009 | ^{ab} 3,37 ± 0,009 |
| Jul | ^{ab} 3,36 ± 0,0 | 3,36 ± 0,017 | ^a 3,37 ± 0,009 | ^{ab} 3,37 ± 0,014 |

Também a uniformidade de Shannon (E) foi analisada às 144h de incubação e os resultados mostraram que só se observaram diferenças significativas entre tratamentos no fim do ensaio, em julho 2019 (Quadro 3.7.), com valores maiores no tratamento com fungo EF (0,990±0,0) relativamente a outro tratamento com fungo BF (0,980±0,0) estão apresentados no Quadro 3.7.

Quadro 3.7: Uniformidade de Shannon (E) dos diferentes tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo) após 144 h de incubação, entre janeiro e julho de 2019. Letras diferentes à esquerda do valor com ('), representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da coluna (diferenças entre meses). Letras diferentes à direita do valor representam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) e lêem-se ao longo da linha (diferenças entre tratamentos).

| | E | EF | B | BF |
|------------|-----------------------------|---|-----------------------------|--|
| Jan | 0,983 ± 0,005 | ^b 0,963 ± 0,024 | 0,973 ± 0,005 | ^{bc} 0,980 ± 0,000 |
| Fev | 0,980 ± 0,000 | ^{ab} 0,980 ± 0,000 | 0,977 ± 0,005 | ^{bc} 0,980 ± 0,000 |
| Mar | 0,983 ± 0,005 | ^{ab} 0,977 ± 0,005 | 0,977 ± 0,005 | ^c 0,977 ± 0,005 |
| Abr | 0,987 ± 0,005 | ^{ab} 0,983 ± 0,005 | 0,983 ± 0,005 | ^{ab} 0,983 ± 0,005 |
| Mai | 0,973 ± 0,012 | ^{ab} 0,983 ± 0,005 | 0,983 ± 0,005 | ^a 0,987 ± 0,005 |
| Jun | 0,980 ± 0,008 | ^a 0,987 ± 0,005 | 0,977 ± 0,005 | ^{bc} 0,980 ± 0,000 |
| Jul | 0,983 ^{ab} ± 0,005 | ^a 0,990 ^a ± 0,000 | 0,983 ^{ab} ± 0,005 | ^{bc} 0,980 ^b ± 0,000 |

3.10.3. Análise por grupos de compostos

Considerando a divisão dos 31 substratos de carbono presentes nas microplacas Ecoplate em cinco grupos e após análise, verificou-se que no início do ensaio em janeiro de 2019 (Figura 3.27), não houve diferenças significativas na utilização de compostos de carbono dos diferentes grupos (Aminas e Amidas, Polímeros, Hidratos de Carbono, Ácidos carboxílicos e acéticos e Aminoácidos) para nenhum dos tratamentos (E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo).

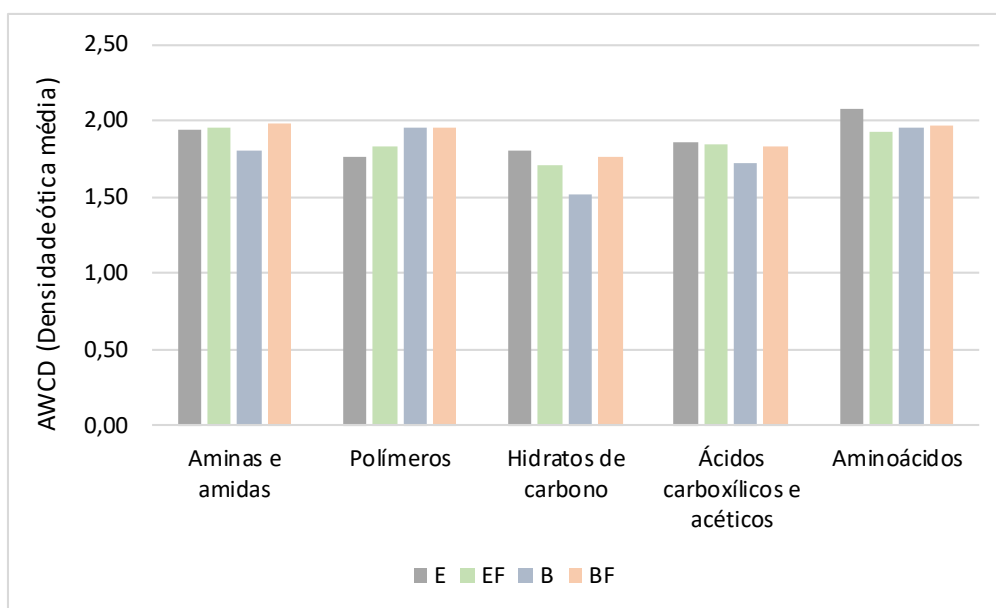


Figura 3.27: Utilização de grupos de compostos no mês de janeiro de 2019, após 144h de incubação nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Já no mês de julho (Figura 3.28), houve diferenças significativas na utilização de aminoácidos nos diferentes tratamentos. No tratamento B houve uma utilização metabólica de aminoácidos igual à do tratamento EF e maior do que no tratamento E e BF. A utilização de aminoácidos no tratamento EF foi superior à registrada no tratamento E.

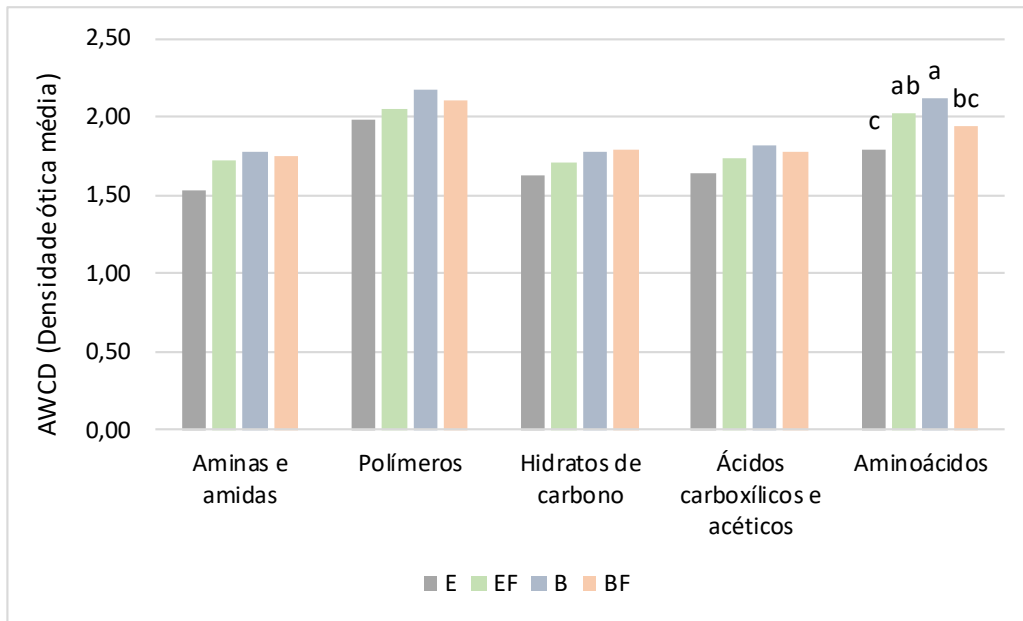


Figura 3.28: Utilização de grupos de compostos no mês de julho de 2019, após 144h de incubação, nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Quando se comparou a utilização dos mesmos grupos decompostos pelas comunidades microbianas das amostras de solo colhidas em janeiro e em julho de 2019 (início e fim do ensaio) verificou-se que houve diferenças significativas apenas no tratamento E, em que a utilização de aminoácidos foi maior em janeiro do que em julho (Figura 3.29).

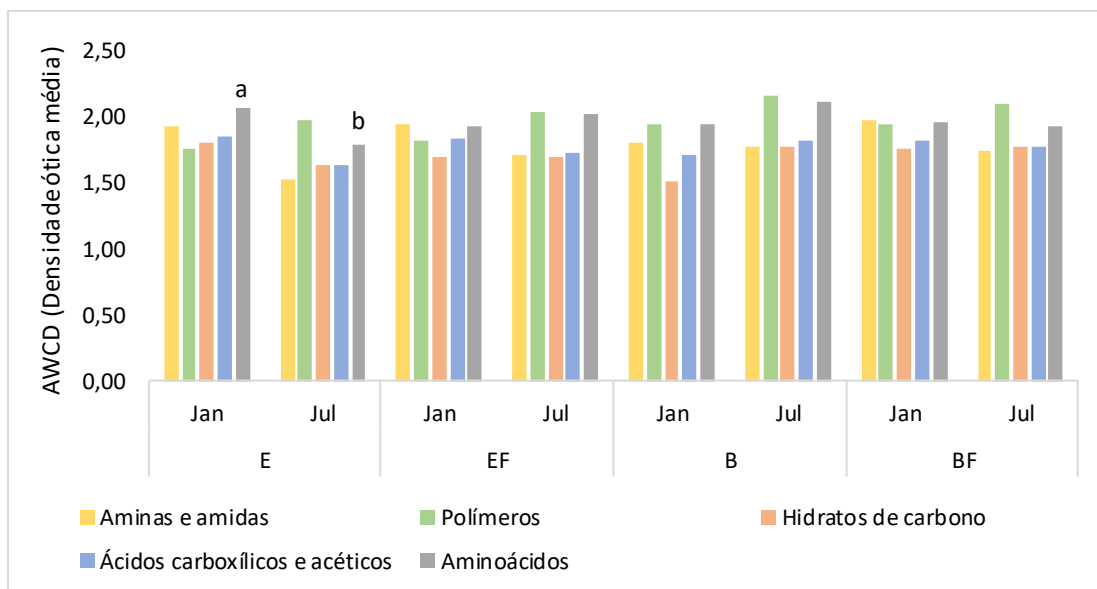


Figura 3.29: Utilização de grupos de compostos no mês de janeiro e julho de 2019, após 144h de incubação, nos 4 tratamentos: E- coração de boi x Embajador s/fungo; EF- coração

de boi x Embajador c/fungo; B coração de boi s/fungo; BF – coração de boi c/fungo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

4. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

4.1. Produtividade das plantas

Vários autores têm vindo a mostrar que a produtividade dos tomateiros pode ser influenciada positivamente com a aplicação da técnica de enxertia (Khah *et al.*, 2006; Mohammed *et al.*, 2009; Di Giola *et al.*, 2010; Turhan *et al.*, 2011; ZhenDe *et al.*, 2012). Ao contrário do que seria expectável, segundo os autores referidos anteriormente, neste estudo, a produtividade em termos de número total de frutos.m⁻² e em kg.m⁻², foi idêntica em todos tratamentos, quer enxertados, quer não enxertados, tendo-se obtido uma média de 61,4 frutos.m⁻² e 14,8 kg.m⁻². Consequentemente, a diferença de preço entre a plantas enxertadas e não enxertadas, não compensou economicamente ao produtor. Estes resultados vão de encontro aos do estudo realizado por Sirtoli *et al.* (2011) e Cardoso *et al.* (2006) que não verificaram diferenças entre plantas enxertadas e não enxertadas, no que diz respeito à produtividade. No estudo de Barret *et al.* (2012) a produção comercializável foi semelhante em plantas enxertadas e não enxertadas e houve um menor número de galhas nas raízes dos porta-enxertos, quando a pressão dos NGR no solo era baixa. No presente estudo, os nemátodes no solo da estufa do ensaio foram contabilizados por investigadores da Universidade do Minho, no âmbito do mesmo projeto em que este trabalho se insere. À semelhança do estudo de Barret *et al.* (2012), constatou-se que o nível de pressão dos NGR era baixa-média, sendo que, a similaridade da produção entre os tratamentos de plantas enxertas e plantas não-enxertadas, poderá ser explicada pela maior eficácia dos porta-enxertos tolerantes, quando a pressão desta doença é alta.

4.2. Qualidade dos frutos

Quanto ao calibre dos frutos, para o calibre menor (≤ 66 mm), os tratamentos de plantas enxertadas AxEb e o tratamento de plantas não enxertadas A, foram os que apresentaram mais peso de frutos em relação aos restantes tratamentos. Para o calibre maior, > 102 mm, os tratamentos AxEb e AxSi, foram os únicos tratamentos que apresentaram maior peso de frutos do que o tratamento não enxertado A. Nos estudos de Mohammed *et al.* (2009) e Turhan *et al.* (2011), os frutos dos tratamentos de plantas não enxertadas foram os que apresentaram, quase sempre, um menor calibre, o que vai de encontro com os resultados obtidos neste trabalho. No entanto, Cardoso *et al.* (2006) obteve resultados que não demonstraram qualquer diferença significativa entre os tratamentos de plantas enxertadas e plantas não enxertadas, em termos de calibre de frutos. O facto de no presente estudo as

plantas não enxertadas terem dado mais frutos de menor calibre, poderá ser explicado pela maior capacidade de absorção de água por parte das raízes mais vigorosas dos p.e. que originam frutos maiores.

No que diz respeito à MS dos frutos, esta foi idêntica nas plantas da cv. Anairis não enxertada e auto-enxertada (em média 5,5%) e foi superior à MS das plantas enxertadas nos quatro p.e. em estudo, cujos valores foram também semelhantes entre si (em média 4,7%). Estes resultados vão de encontro aos resultados obtidos por Turhan *et al.* (2011) em que a MS dos frutos foi significativamente maior nos tratamentos de plantas não enxertadas (em média 5,36 %) do que os tratamentos de plantas enxertadas (em média 4,87%). Estes resultados, tal como o calibre dos frutos, podem ser explicados pelo facto de os porta-enxertos tolerantes utilizados, terem uma raiz mais vigorosa do que as plantas da cv. Anairis simples, resultando numa maior capacidade de absorção de água e, logo, um teor de MS menor.

Relativamente à firmeza, não se obtiveram diferenças significativas entre tratamentos de plantas enxertadas e tratamentos de plantas não enxertadas, sendo que neste estudo, não houve influência da enxertia na firmeza dos frutos. Os estudos de Ulukapi e Onus (2005) citado por Leonardi *et al.* (2017), Khah *et al.* (2006) e Schwarz *et al.* (2013), também indicaram que a enxertia não influencia a firmeza dos frutos de tomateiro. Existem vários fatores que podem influenciar a firmeza dos frutos: relações hídricas, transpiração, camadas de cera na película, arquitetura celular, solubilização da parede celular, bem como o seu conteúdo proteico (Saladie *et al.*, 2007), no entanto, a enxertia não tem sido descrita como um deles.

O pH dos frutos, neste estudo, foi superior nas plantas enxertadas no p.e. Silex (pH=4,33), em comparação com os restantes três p.e. (em média pH=4,28), mas foi semelhante ao pH das plantas não enxertadas e auto-enxertadas. Estes resultados foram similares aos obtidos por Cardoso *et al.* (2006), em que o pH dos frutos dos tratamentos de plantas não enxertadas, foi superior ao pH dos frutos de dois dos três tratamentos de plantas enxertadas. A acidez titulável, apenas no tratamento enxertado AxEp foi significativamente superior (0,45 g 100g Pf⁻¹) ao tratamento de plantas não enxertadas e ao de plantas auto-enxertadas (0,41 g 100g Pf⁻¹), tendo sido os frutos destes últimos tratamentos menos ácidos. Nos estudos de Sirtoli *et al.* (2011), Cardoso *et al.* (2016) e Soare *et al.* (2018) não se verificou qualquer relação entre a técnica de enxertia e a acidez titulável. Contudo, Turhahn *et al.* (2011) constataram que os frutos de todos os tratamentos de plantas não enxertadas, apresentaram

uma menor acidez titulável do que os frutos dos tratamentos de plantas enxertadas. A maior acidez dos frutos provenientes de plantas enxertadas pode ser explicada pela maior capacidade de absorção de determinados nutrientes das raízes mais vigorosas dos porta-enxertos como o potássio (K) que está positivamente relacionado com a acidez dos frutos (Albacete *et al.*, 2009).

No que se refere à concentração de sólidos solúveis, no presente estudo, o tratamento de plantas não enxertadas (A) foi significativamente superior (4,8° Brix) a dois tratamentos de plantas enxertadas (AxEb e AxSi) (em média 4,2°Brix). Nos estudos de Sirtoli *et al.* (2011) e Soare *et al.* (2018), não houve diferenças significativas entre os tratamentos de plantas enxertadas e não enxertadas, no entanto, Turhan *et al.* (2011) obtiveram resultados que demonstraram uma maior concentração de sólidos solúveis em todos os tratamentos de plantas não enxertadas em comparação com tratamentos de plantas enxertadas. Estes resultados poderão estar associados ao facto de os frutos das plantas do tratamento não enxertado, terem um teor em MS maior, isto é, o teor em açúcares será maior, quanto maior for a matéria seca. Outra explicação para os frutos de plantas enxertadas terem uma menor concentração de açúcares é que, sendo a raiz do porta enxerto mais vigorosa, esta pode tornar-se um destino adicional dos produtos assimilados, reduzindo o fluxo dos mesmos para os frutos (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010).

Relativamente ao defeitos presentes nos frutos, os tratamentos A, AxEb e AxMt, foram os que apresentaram os frutos mais defeituosos, enquanto que os tratamentos AxEp e AxSi apresentaram uma menor percentagem de frutos com defeitos. Neste estudo, apenas dois tratamentos de plantas enxertadas apresentaram uma menor incidência de defeitos nos frutos do que o tratamento de plantas não enxertadas. No entanto, Krumbein e Schwarz (2013), conseguiram reduzir a incidência de defeitos nos tomates através da enxertia, contrariamente a Takasu *et al.*, (1996) que concluíram que a técnica de enxertia aumentou a os defeitos nos frutos. Segundo Krumbein e Schwarz (2013), o nível de incidência de defeitos, nomeadamente “podridão final da flor”, está relacionado com o genótipo do porta-enxerto e a combinação e compatibilidade do enxerto/porta-enxerto.

4.3. Infecção dos nemátodes-das-galhas-radiculares

No que se refere ao ataque dos NGR na escala visual de Bridge e Page (1980), as plantas auto-enxertadas foram as que apresentaram as raízes menos afetadas (em média 4). Além disso, o tratamento de plantas não enxertadas (A), só foi significativamente menor do que

um dos tratamentos de plantas enxertadas (AxSi), sendo que, neste caso, quase não houve diferenças entre tratamentos de plantas enxertadas (em média 6,2) e o tratamento de plantas não enxertadas. Já Owusu *et al.* (2016), obteve resultados onde as plantas não enxertadas e auto-enxertadas apresentaram, na mesma escala visual, valores muito superiores de ataque de NGR (em média 6,9) do que as plantas enxertadas (em média 1,6). Também Kokalis-Burelle e Roskopf (2011) obtiveram resultados em que os tratamentos de plantas não enxertadas apresentaram um maior índice de galhas (em média 4,2), na escala de Bridge e Page, (1980), do que os tratamentos de plantas enxertadas (em média 0,1). Os resultados inesperados do presente estudo podem ser explicados pela presença de suberose radicular nas raízes. Esta doença provoca a deformação das raízes ficando estas com um aspeto encortiçado e espesso, o que pode ter influenciado a classificação visual do índice de galhas na escala de Bridge e Page (1980). Outra explicação poderá ser o facto desta escala ter em conta, não só o número de galhas, mas também o local (raiz principal, raízes adventícias) e o tamanho das mesmas, sendo que, os tratamentos enxertados, podem ter apresentado galhas maiores localizadas na raiz principal, fazendo com que o índice de galhas seja superior ao dos tratamentos de plantas não enxertadas e auto-enxertadas.

Contrariamente aos resultados da escala de Bridge e Page (1980), o número de galhas e massas de ovos foi significativamente superior nos tratamentos de plantas não enxertadas e auto-enxertadas, sendo estes resultados semelhantes aos de Verdejo-Lucas e Sorribas, (2008) e Kokalis-Burelle e Roskopf (2011). A fecundidade dos NGR no tratamento de plantas enxertadas AxEb, foi, no entanto, superior aos tratamentos de plantas não enxertadas e auto-enxertadas, não havendo diferenças significativas entre os restantes tratamentos. Em suma, apesar de haver menos galhas nas raízes dos tratamentos de plantas enxertadas, as fêmeas puseram mais ovos. Isto poderá ser explicado pelas raízes dos porta-enxertos, que, por serem mais vigorosas e tendo sofrido menos danos, disponibilizam mais alimento para os NGR e, consequentemente, as fêmeas produzem mais ovos.

4.4. Caracterização da comunidade microbológica do solo

A AWCD às 144h de incubação nos tratamentos E, EF, B, e BF, ao longo do tempo do ensaio, apresentou algumas diferenças, no entanto, não foi possível relacionar a evolução do desenvolvimento da cor e o tempo (janeiro a julho de 2019). Contudo, no mês de maio, os valores de AWCD após 144h de incubação no tratamento E (Coração de boi enxertado sem

fungo), foi inferior aos dos restantes tratamentos, dos quais, dois foram inoculados com fungo (BF e EF).

Relativamente aos índices de diversidade S, H, e E, houve algumas diferenças entre os tratamentos. No mês de maio, a riqueza de substratos (S) foi significativamente superior no tratamento de plantas enxertadas com fungo (EF) em relação ao tratamento de plantas enxertadas sem fungo (E), no entanto, E não foi diferente de B (plantas não enxertadas sem fungo) e BF (plantas não enxertadas com fungo). Também no mês de maio, o índice de diversidade de Shannon (H), dos tratamentos de plantas não enxertadas com fungo (BF) e plantas enxertadas com fungo (EF) foi superior ao do tratamento de plantas enxertadas sem fungo (E) e igual ao do tratamento de plantas não enxertadas sem fungo B. A uniformidade de Shannon foi superior apenas, no tratamento de plantas enxertadas com fungo (EF) em relação a outro tratamento com fungo de plantas não enxertadas (BF), no mês de julho. Os índices de diversidade de Shannon (H) e uniformidade de Shannon (E), aparentaram também, ser maiores nos meses finais do ensaio do que nos meses iniciais. No estudo realizado por O'Flaherty *et al.* (2003), em que, trataram as plantas de tomateiro com o nematocida "Aldicarbe" e o fungo *P. chlamydosporia* utilizado para o controlo de *Meloidogyne incognita*, a diversidade catabólica das populações microbiológicas da rizosfera de plantas foi semelhante entre elas, mas diferiu da das plantas não tratadas.

Na comparação da utilização metabólica de grupos de compostos (Aminas e Amidas, Polímeros, Hidratos de Carbono, Ácidos carboxílicos e Ácéticos, Aminoácidos) entre o primeiro e último mês do ensaio, obtiveram-se diferenças significativas apenas no tratamento de plantas enxertadas sem fungo (E), em que os microrganismos do solo utilizaram mais aminoácidos em janeiro do que em julho. Quanto às diferenças de utilização de grupos de compostos entre tratamentos, em julho, houve um maior consumo de aminoácidos no tratamento de plantas não enxertadas sem fungo (B) em relação aos tratamentos de plantas não enxertadas com fungo (BF) e plantas enxertadas sem fungo (E), e no tratamento de plantas enxertadas com fungo (EF) em relação ao tratamento de plantas enxertadas sem fungo E. Os resultados obtidos não permitem não permitem concluir sobre a influência da inoculação de *P. chlamydosporia* na utilização de grupos de compostos pela comunidade microbiana do solo, nem sobre a influência temporal (janeiro a julho) na utilização de determinados grupos de compostos.

Em suma, no tratamento com plantas enxertadas sem inoculação de fungo (E) e para o mês de maio, observou-se menor riqueza de substratos e menor diversidade microbiológica. Estes resultados sugerem que o tratamento de plantas enxertadas com fungo (E), normalmente usado pelos produtores, não favorece a atividade e a diversidade microbiológica. Quanto à uniformidade do consumo de compostos, normalmente variaria inversamente à diversidade, mas não neste caso. Com isto, constatou-se que quando existe uma grande diversidade, não há dominância de subgrupos microbianos, mas sim, um aumento da utilização de vários substratos uniformemente, indo ao encontro do descrito por Garland (1997).

5. CONCLUSÕES

Neste estudo, a produtividade das plantas não foi influenciada pelos porta-enxertos utilizados, o que permitiu constatar que, quando a pressão que os NGR exercem às plantas é baixa, tal como aconteceu no ensaio da Estela, não se notam diferenças entre a produtividade das plantas enxertadas e não enxertadas. Isto é, se a pressão exercida por esta doença tivesse sido alta, provavelmente a produtividade das plantas enxertadas seria maior do que as plantas não enxertadas, sendo a técnica da enxertia mais eficaz nesta situação. Com isto, foi possível concluir que só é compensatório economicamente para o produtor utilizar os porta-enxertos deste estudo, quando a severidade do ataque dos NGR é muito alta.

Salienta-se que, apesar da fecundidade das fêmeas ter sido maior ou igual nos porta-enxertos utilizados neste estudo, em relação às plantas testemunha, os tratamentos de plantas enxertadas foram mais tolerantes a esta doença, apresentando menos galhas e menos massas de ovos do que os tratamentos de plantas não enxertadas e auto-enxertadas.

Observou-se ainda que a qualidade dos frutos pode ser influenciada pela enxertia, em alguns parâmetros. O calibre dos frutos foi melhor nos tratamentos de plantas enxertadas em relação ao dos tratamentos de plantas não enxertadas. A matéria seca foi superior nos frutos das plantas não enxertadas, notando-se, uma influência negativa da enxertia sobre este parâmetro de qualidade. Também a concentração de sólidos solúveis parece ter sido influenciada negativamente pela enxertia, na medida em que o tratamento de plantas não enxertadas originou frutos com °Brix significativamente maior do que dois dos tratamentos de plantas não enxertadas. Não foi notada influência da enxertia na firmeza, pH, acidez titulável e incidência de defeitos nos frutos.

Verificou-se também, que as plantas enxertadas, sem inoculação de *P. chlamydosporia*, pareceram não fomentar a diversidade e atividade microbiológica do solo. Além disso, constatou-se que não houve dominância de subgrupos microbianos, mas sim, um aumento da utilização de vários substratos uniformemente.

Trabalhos futuros deveriam englobar a associação da técnica da enxertia a outras técnicas permitidas em agricultura biológica, como a utilização de outros organismos antagonistas, de maneira a melhorar a eficácia no combate à doença provocado por *Meloidogyne* spp. É ainda necessário, testar os mesmos porta-enxertos num solo em que a pressão da doença fosse alta, de maneira a confirmar a maior eficácia destes no combate aos NGR nessa situação. Seria interessante também, verificar o efeito que outros métodos de controlo

biológico de *Meloidogyne* spp têm sobre a comunidade microbológica do solo, e compará-lo com o que se verificou com o fungo *P. chlamydosporia* neste estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrantes, I. M. De O., Bourne, J. M., Brito, I., Ciancio, A., Hirsch, P. R., Kerry, B. R., Lopez-Llorca, L. V., Mota, M. M., Santos, M. S. N. De A., Tzortzakakis, E. A. e Verdejo-Lucas, S., 2002. *A Manual for Research on Verticillium chlamydosporium, a potential biocontrol agent for root-knot nematodes*. Eds. Kerry, B.R e Bourne, J. M., IOBC/WPRS, Gent, 84 pp.
- Abrantes, I., Santos, M. C. V., Clara, M. I., Fernandes, J. E. e Marques, M. L., 2007. Principais doenças e pragas do tomateiro e meios de luta. Instituto do Ambiente e Vida, Departamento de Zoologia, Universidade de Coimbra, 1ª Ed., Coimbra, 176pp.
- Agrobio, s/data. *O que é a Agricultura Biológica?*. Site disponível: Agrobio – Associação Portuguesa de Agricultura Biológica (Última atualização: 2019). URL: <https://agrobio.pt/agricultura-biologica/o-que-e/>. Consultado em 10 Fev. 2020.
- Akhtar, M., 1997. Current options in integrated management of plant-parasitic nematodes. *Integrated Pest Management Reviews*, 2, 187-197.
- Albacete, A., Martínez-Andújar, C., Ghanem, M. E., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Asins, M. J., Cuartero, J., Lutts, S., Dodd, I.C. e Pérez-Alfocea, F., 2009. Rootstock-mediated changes in xylem ionic and hormonal status are correlated with delayed leaf senescence, and increased leaf area and crop productivity in salinized tomato. *Plant, Cell & Environment*, 32, 7, 928–938.
- Almeida, D. (2006). Manual de Culturas Hortícolas - Volume II. 1ª Ed., Editorial Presença, Lisboa, 325 pp.
- Andreola, F. e Fernandes, S. A. P., 2007. A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas. In *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental*, Eds. Silveira, A. P. D. e Freitas, S. S., Instituto Agronômico Campinas (SP), 21-39.
- Arias, M. E., González-Pérez, J. A., González-Vila, F. J. e Ball, A. S., 2005. Soil health - a new challenge for microbiologists and chemists. *Intern. Microbiol.*, 8, 13-21.
- Ashita, E., 1927. Grafting in watermelons (in Japanese). Korea (Chosun). *Agricultural newsletter*, 1, 9.
- Aydinli, G. e Mennan, S., 2016. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) from greenhouses in the Middle Black Sea Region of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 40, 675-685p.
- Back, M. A., Haydock, P. P. J. e Jenkinson, P., 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soil borne pathogens. *Plant Pathology*, 51, 683-697.
- Bai, Y., e Lindhout, P., 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. *Annals of botany*, 100, 5, 1085–1094.
- Baker, K. F. e Cook, R. J., 1974. Biological control of plant pathogens. 1ª Ed., WH Freeman & Co, San Francisco, 433pp.
- Baptista M. J., Souza, R. B., Pereira, W., Carrijo A.O., Vidal, M. C. e Charchar, J. M., 2006. Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. *Horticultura Brasileira*, 24, 47-52.

- Barret, C. E., Zhao, X., Sims, C. A., Brecht, J. K., Dreyer, E. Q., Gao, Z., 2012. Fruit Composition and Sensory Attributes of Organic Heirloom Tomatoes as Affected by Grafting. *HortTechnology*, 22, 6, 804-809.
- Barrett, C. E., Zhao, X. e McSorley, R., 2012. Grafting for Root-knot Nematode Control and Yield Improvement in Organic Heirloom Tomato Production. *Horticultural Science*, 47, 5, 614–620.
- Bedendo, I. P., 2011. Ambiente e doença. In Eds. Bergamin Filho A., Kimati, H. e Amorim, L., *Manual de fitopatologia* 4ª Ed., Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 331-341.
- Berlinger, M. J., 1986. Pests. In: The tomato crop: A scientific basic for improvement, Eds. Atherton, J. G. e Rudich, J., Springer Netherlands, 391-441p.
- Besri, M., 2003. Tomato grafting as an alternative to methyl bromide in Marocco. Proceedings of the 2003 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, San Diego, EUA.
- Bie, Z., Nawaz, M. A., Huang, Y., Lee, J.M. e Colla G., 2007. In Eds. Colla, G., Pérez-Alfocea, F. e Schwarz, D., *Vegetable Grafting Principles and Practices*, 1ª ed, CABI, Oxfordshire, 1-22.
- BioLog, 2007. Microbial Community Analysis – EcoPlate™. *Site* disponível: Ecologie Microbienne Lyon (Última atualização: s/data). URL: http://www.ecologiemiocriennelyon.fr/IMG/pdf/eco_microplate.pdf. Consultado em 10 de Dez. 2019.
- BioLog, 2019. Microbial Community Analysis with EcoPlates. *Site* disponível: Biolog (Última atualização: 2019). URL: <https://www.biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates/>. Consultado em 10 de Dez. 2019.
- Bletsos, F., Thanassoulopoulos, C. e Roupakias D., 2003. Effect of Grafting on Growth, Yield, and Verticillium Wilt of Eggplant. *HortScience*, 38, 2, 183-186.
- Bourne, J. M., Kerry, B. R. e Leij, F. A. A. M., 1994. Methods for the Study of *Verticillium chlamydosporium* in the Rhizosphere. *Journal of Nematology*, 26, 587-591.
- Bridge, J. e Page, S. L. J., 1980. Estimation of Root-knot Nematode Infestation Levels on Roots Using a Rating Chart. *Tropical Pest Management*, 26, 296-298.
- Camargo, G. A., Haj-Isa, N. e Queiroz, M. R., 2007. *Avaliação da qualidade de tomate seco em conserva*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 11, 5, 521–526.
- Cardoso, S. C., Soares, A. C. F., Brito, A. S., Carvalho, L. A., Peixoto, C. C., Pereira, M. E. C. e Goes, E., 2006. Qualidade de frutos de tomateiro com e sem enxertia. *Bragantia*, 65, 2, 269-274.
- Carvalho, P. H., 2017. Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro. Dissertação de Pós-Graduação em fitopatologia, Departamento de fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasil, 82pp.
- Castillo, P., Navas-Cortés, J. A., Gomar-Tinoco, D., Di Vito, M. e Jimenez-Diaz, R. M., 2003. Interactions between *Meloidogyne artiellia*, the cereal and legume root knot nematode, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 5 in chickpea. *Phytopathology*, 93, 1513-1523.

- Charegani, H., Majzoob, S., Hamzehzarghani, H. e Karegar-Bide A., 2012. Effect of various initial population densities of two species of *meloidogyne* on growth of tomato and cucumber in greenhouse. *Nematol. Medit*, 40, 129-134.
- Chen Z. X., Dickson D. W., McSorley R., Mitchell D. J. e Hewlett T. E., 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology*, 28, 159-168.
- Choi, K. H. e Dobbs, F. C., 1999. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 36, 3, 203-213.
- Choi, K. H. e Dobbs, F. C., 1999. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *J. Microbiol. Methods* 36, 203–213.
- Classen, A. T., Boyle, S. I., Haskins, K. E., Overby, S. T. e Hart, S. C., 2003. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 44, 3, 319–328.
- Conceição, I. L., Dias, A., Abrantes, I. e Cunha, M., 2012. Efeito dos exsudatos radiculares de *Solanum sisymbriifolium* na eclosão de *Meloidogyne* spp.. *Revista de Ciências Agrárias*, 35, 274-281p.
- Correia, D., 2013. *Apúlia – Processo de transformação morfológica numa frente marítima*. Dissertação de mestrado, Escola Superior Galecia, Espanha, 212pp.
- Costa, C. S. R. e Henz, G. P., 2007. Pimenta (*Capsicum* spp.). *Site disponível: Embrapa (Última atualização: Nov. 2007), URL: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/doencas.html*. Consultado em: 29 Jul. 2019.
- Costa, J. M. e Heuvelink, E., 2005. *Introduction: The tomato crop and industry*. In *Tomatoes*, Eds. Heuvelink, E., CABI Publishing, Oxfordshire. 1-19.
- Costa, S. R., 2015. Ecologia de nemátodes e seu interesse na enxertia de plantas hortícolas (Parte II/II). *Agrotec – Revista técnico-científica agrícola*, 14, 28–30.
- Coyne, D. L., Nicol, J. M. e Claudis-Cole, B., 2007. *Nematologia prática: um guia de campo e de laboratório*. SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin, 82pp.
- Coyne, D.L., Fourie, H. H. e Moens, M., 2009. Current and future management strategies in resource-poor farming. In *Root-knot nematodes*, Eds. Perry, R. N., Moens, M. e Starr, J. L. CAB International, Cambridge, 444- 475.
- Davies, K. G., Kerry, B. R. e Flynn, C. A., 1988. Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes. *Annals of Applied Biology*, 112, 1491-1501.
- De Leij, F. A. A. M., Dennehy, J. A. e Kerry, B. R., 1992. The Effect of Fungal Application Rate and Nematode Density On the Effectiveness of *Verticillium chlamydosporium* as a Biological Control Agent for *Meloidogyne incognita*. *Nematologica*, 38, 112-122.

- De Leij, F.A.A.M., Kerry, B. R. e Dennehy, J. A., 1993. *Verticillium Chlamydosporium* as a Biological Control Agent for *Meloidogyne Incognita* and *M. Hapla* in Pot and Micro-Plot Tests. *Nematologica*, 39, 115-126.
- De Waele, D. e Elsen, A., 2007. Challenges in tropical plant nematology. *Annual Review of Phytopathology*, 45, 457-485p.
- Decraemer, W. e Hunt, D. J., 2006. Structure and classification. In *Plant Nematology*, Eds. Perry, R. N. e Moens, M., CAB International, Wallingford, 3–32.
- DGADR, 2017. Nota informativa conjunta n.º1/2017. *Site* disponível: Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (Última atualização: 2019), URL: https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/val/bio/Biologica/NOTA_PF_AB_1_2017.pdf. Consultado em 20 Nov. 2019.
- DGADR, 2019. Produção e operadores: dados estatísticos. *Site* disponível: Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (Última atualização: 2019), URL: <https://www.dgadr.gov.pt/sustentavel/modo-de-producao-biologico>. Consultado em 10 Fev. 2020.
- DGAV, 2019. Lista de substâncias ativas – Nematodocidas. *Site* disponível: Direção-Geral de alimentação e veterinária (Última atualização: 2019), URL: http://www.dgav.pt/fitofarmaceuticos/lista/Introd_lista/nematodocidas_lista.htm. Consultado em 26 de Nov. de 2019.
- Di Giola, F., Serio, F., Buttaro, D., Ayala, O. e Santamaria, P., 2010. Influence of rootstock on vegetative growth, fruit yield and quality in ‘Cuore di Bue’, an heirloom tomato. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85, 6, 477–482.
- Dias, M. H., Barbosa, J. A., Peters, F. F., Stangarlin, J. e Esteves, R. L., 2016. Controle Alternativo de *Meloidogyne incognita* em Tomateiro. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15, 421-426.
- Domenech, M. C., Torres, P. S., Jiménez, M. D. R. e Viñals, F. N., 2010. Phytophthora capsici resistance evaluation in pepper hybrids. Agronomic performance and fruit quality of pepper grafted plants. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 8, 1, 116-121.
- Dropkin, V. H., 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature, *Phytopathology*, 59, 1632-1637.
- Eisenback, J. D. e Triantaphyllou, H. H., 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: *Manual of Agricultural Nematology*, Eds. Nickle W. R. Marcel Dekker Inc, New York, 191–274.
- Epelde, L., Burges, A., Mijangos, I., e Garbisu, C., 2014. Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. *Applied Soil Ecology*, 75, 1–12.
- EPPO, 2019. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests - version 2019-09. *Site* disponível: European and Mediterranean Plant Protection Organization (Última atualização: 2019), URL: https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list#nematodes. Consultado em 20 Nov. 2019.
- Eurostat, 2019. *Crop production in national humidity*. *Site* disponível: Eurostat (última atualização: 2019). URL:

- <https://ec.europa.eu/eurostat/web/agriculture/data/database>. Consultado em 18 Jun. 2019.
- FAOSTAT, 2019. *Crops*. Site disponível em: FAO (última atualização: 2019). URL: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Consultado em 18 Jun. 2019.
- Fernandes, R. H., Vieira, B. S., Fuga, C. A. G. e Lopes, E. A., 2014. *Pochonia chlamydosporia* and *Bacillus subtilis* on the control of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in tomato seedlings. *Bioscience Journal*, 30, 1, 194-200.
- Ferreira, E. P. B., Santos, H. P., Costa, J. R., De-Polli, H. e Rumjanek N. G., 2010. Microbial soil quality indicators under different crop rotations and tillage management. *Revista Ciência Agronômica*, 41, 2, 177-183.
- Ferreira, E. P. B., Stone, L. F., e Martin-Didone, C. C. G., 2017. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. *Ciência Agronômica*, 48, 1, 22-31.
- Filho, M. e Inoue-Nagata, A., 2015. *Guia para o Reconhecimento e Manejo da Mosca-branca, da Geminivirose e da Crinivirose na Cultura do Tomateiro*. Embrapa Hortaliças, 1ªEd. Brasília, 16pp.
- Fitó, s/data. Silex. Site disponível: Fitó (Última atualização: 2019). URL: http://www.semillasfito.es/es/productos/porta_injerto/porta_injerto/porta_injerto_silex.htm. Consultado em 12 de Dez. 2019.
- Flawn, L. N., 1987. *O cultivo do tomate*. Editorial Presença lda., 2ªEd, Lisboa, 143pp.
- FLF, 2010. Plantas enxertadas conquistam portuguesas. *Frutas, Legumes e Flores*, 110, 40-41.
- Flores, F. B., Sanchez-Bel, P., Estañ, M. T., Martinez-Rodriguez, M. M., Moyano, E., Morales, B., Campos J. F., Garcia-Abellán, J. O., Egea, M. I., Fernández-García, N., Romojaro, F. e Bolarín, M. C., 2010. The effectiveness of grafting to improve tomato fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 125, 3, 211–217.
- Fraç, M., Oszust, K. e Lipiec J., 2012. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors*, 12, 3253-3268.
- Freire, E., 2015. *Tuta absoluta: uma das pragas mais agressivas na cultura do tomate*. Site disponível: Vida Rural (Última atualização: 2019), URL: <https://www.vidarural.pt/insights/tuta-absoluta-uma-das-pragas-mais-agressivas-na-cultura-do-tomate/>. Consultado em 16 de Jun. 2019).
- Gaion, L. A., Braz, L. T. e Carvalho, R. L., 2017. Grafting in Vegetable Crops: A Great Technique for Agriculture. *International Journal of Vegetable Science*, 24, 1, 85-102.
- Galhano, C. I. C., Ryan, M. F.; Santos, M. S. N. A. e Staritsky, G., 1997. Interactions between *Tannia (Xanthosoma sagittifolium)* and the Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne megadora* and *M. javanica*. *Nematropica*, 27, 1, 7-17.
- Garland, J. L., 1996. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 2, 223-230.
- Garland, J. L., 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 24, 4, 289–300.

- Garland, J. L., e Mills, A. L., 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and environmental microbiology*, 57, 8, 2351–2359.
- Godinho, M., Amaro, F. e Figueiredo, E., 2006. Míldio. In *Proteção integrada em tomate de indústria*, Eds. Amaro, F. e Mexia, A., Instituto nacional de investigação agrária e das pescas, 22-31.
- Goodenough, P.W. e Maw, G.A., 1973. Effects of *Pyrenochaeta lycopersici* infection on nutrient uptake by tomato plants. *The Annals of Applied Biology*, 73, 339–347.
- Goswami, B. K., Pandey, R. K., Rathour, K. S., Bhattacharya, C. e Singh, L., 2006. Integrated application of some compatible biocontrol agents along with mustard oil seed cake and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. *Journal of Zhejiang Universal Sciences B*, 7, 873-875.
- Gould, W. A., 1992. *Tomato production, processing & technology*. Woodhead Publishing, 3ª Ed, Ohio, 550pp.
- GPP, 2019. Sistema de informação de mercados agrícolas. Site disponível: Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (Última atualização: 2019). URL: <http://www.gpp.pt:8080/sima/default/index?tm=12>. Consultado em 9 de Set. 2020.
- Hackney, R. W. e Dickerson, O. J., 1975. Marigold, castor bean and *Chrysanthemum* as controls of *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus alleni*. *Journal of Nematology*, 7, 84-90.
- Hartman, K., 1982. Enhancement technique for egg masses of the root-knot nematode with phloxine B. In *Proc. Third Res. e Plann. Conf. on Root-knot Nematodes, Meloidogyne spp.*, Eds. C. C. Carter, International Meloidogyne Project, Lima, Peru, 22-26.
- Harvey, M., Quilley, S., e Beynon, H., 2002. *Exploring the Tomato. Transformations of Nature, Society and Economy*. Edgar Publishing, 1ªEd, Cheltenham, 304 pp.
- Haseeb, A. e Butool, F., 1996. Evaluation of Nematicidal Properties of Some Members of the Family Solanaceae. *Bioresource Technology*, 57, 95-97.
- Hill, D. S., 1997. *The Economic Importance of Insect*. Springer Netherlands, 1ª Ed., Londres, 395pp.
- Hobson, G. E. e Grierson, D. 1993. *Tomato*. In *Biochemistry of fruit ripening*, Eds. Seymour, G. B.; Taylor J. E. e Tucker G. A., Chapman & Hall, London. 405-442.
- Hofmann, J. e Grundler, F. M. W., 2007. How do nematodes get their sweets? Solute supply to sedentary plant-parasitic nematodes. *Nematology*, 9, 451–458.
- Hussey R. S. e Barker, K. R., 1973. Comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne spp.*, including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025–1028.
- IFOAM, 2005. *Princípios da agricultura biológica*. Site disponível: IFOAM – Organics International (Última atualização: s/data). URL: https://www.ifoam.bio/sites/default/files/poa_portuguese_web.pdf. Consultado em 10 Fev. 2020.
- Inácio, M., Rusinque, L., Nóbrega, F., Maleita, C. e Abrantes, I., 2018. *Nemátodes das galhas radiculares: uma ameaça à produção agrícola*. Site disponível: Vida Rural

- (última atualização: 2019), URL: <https://www.vidarural.pt/wp-content/uploads/sites/5/2018/07/aqui.pdf>. Consultado em 17 de Jun. 2019.
- INE, 2017. *Estatísticas Agrícolas 2017*. Instituto Nacional de Estatística, I.P, 1ª Ed., Lisboa, Portugal, 167pp.
- Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Kikuchi, T., López, R. M., Rius, J. E. P., Wesemael, W. M. e Perry, R. N., 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14, 9, 946–961.
- Jones, M. e Derek, B., 2011. Root-knot Nematodes and Giant Cells. In *Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions*, Eds. Jones, J., Gheysen, G., e Fenoll, C., 83-100.
- Karssen, G., e Moens, M., 2006. Root-knot nematodes. In *Plant Nematology*, Eds. Perry, R. N. e Moens, M., CAB International, Wallingford, 59-90.
- Kaşkavalcı, G., 2007. Effects of soil solarization and organic amendment treatments for controlling *Meloidogyne incognita* in tomato cultivars in western Anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 3, 31, 159-167p.
- Kaşkavalcı, G., 2007. Effects of soil solarization and organic amendment treatments for controlling *Meloidogyne incognita* in tomato cultivars in western Anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31, 159-167.
- Katan, J. e DeVay, J. E., 1991. Soil Solarization. CRC Press Inc. 1ª Ed. Londres, 267pp.
- Kaþkavalci, G., Tüzel, Y., Dura, O., Öztekyń, G. B., 2009. Effects of Alternative Control Methods Against *Meloidogyne incognita* in Organic Tomato Production. *Ekoloji*, 18, 72, 23-31.
- Kepekci, I., Hazir, S., Oksal, E. e Lewis, E. E., 2018. Application methods of *Steinernema feltiae*, *Xenorhabdus bovienii* and *Purpureocillium lilacinum* to control root-knot nematodes in greenhouse tomato systems. *Crop Protection*, 108, 31-38.
- Kerry, B. R., 2001. Exploitation of nematophagous fungal *Verticillium chlamyosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*, Eds. Butt, T. M., Jackson, C. e Magan, N., CABI Publishing, 155-167 p.
- Keylock, C. J., 2005. Simpson diversity and the shannon-wiener index as special cases of a generalized entropy. *Oikos*, 109, 203–207.
- Khah, E. M., Kakava, E., Mavromatis, A., Chachalis, D. e Goulas, C., 2006. Effect of grafting on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in greenhouse and open field. *Journal of Applied Horticulture*, 8, 3–7.
- Khah, E. M., Kakava, E., Mavromatis, A., Chachalis, D. e Goulas, C., 2006. Effect of grafting on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) in greenhouse and open field. *Journal of Applied Horticulture*, 8, 3-7.
- Kokalis-Burelle, N. e Roskopf, E. N., 2011. Microplot Evaluation of Rootstocks for Control of *Meloidogyne incognita* on Grafted Tomato, Muskmelon, and *Watermelon*. *Journal of Nematology*, 43, 166–171.

- Kokalis-Burelle, N., Roskopf, E. N., Butler, D. M., Fennimore, S. A., e Holzinger, J., 2016. Evaluation of Steam and Soil Solarization for *Meloidogyne arenaria* Control in Florida Floriculture Crops. *Journal of nematology*, 48, 3, 183–192.
- Krumbein, A. e Schwarz, D., 2013. Grafting: a possibility to enhance health-promoting and flavor compounds in tomato fruits of shaded plants? *Scientia horticultrae*, 149, 97-107.
- Lambais, M. R., Cury, J. C., Maluche-Baretta, C. R. e Bull, R. C., 2005. Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. *Tópicos em Ciência do solo*, 4, 43-84.
- Lamovšek, J., Urek, G. e Trdan, S., 2013. Biological Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the Pests. *Acta agriculturae Slovenica*, 101, 2, 263-275
- Lapuerta, J. C., 1995. *Anatomia y fisiología de la planta*. In *El Cultivo del Tomate*, Eds. Nuez, F., Ediciones Mundi-Prensa, Bilbao. 43-91.
- Lee, J. M., 1994. Cultivation of Grafted Vegetables I. Current Status, Grafting Methods, and Benefits. *Hortscience*, 29, 4, 235-239.
- Lee, J. M., e Oda, M., 2003. Grafting of Herbaceous Vegetable and Ornamental Crops. *Horticultural Reviews*, 28, 61–124.
- Leonardi, C., Kyriacou, M. C., Gisbert, C., Oztekin, G. B., Mourão, I e Rouphael, Y., 2017. Quality of Grafted Vegetables. In Eds. Colla, G., Pérez-Alfocea, F. e Schwarz, D., *Vegetable Grafting Principles and Practices*, 1ª ed, CABI, Oxfordshire, 1-22.
- Lobato, B., 2015. Atividade microbiana indica a saúde dos solos. *Site disponível: Embrapa* (Última atualização: 2019). URL: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/3311811/atividade-microbiana-indica-a-saude-dos-solos>. consultado em 10 Dez. 2019.
- Lopes C. e Rossato, M., 2013. *Diagnóstico de Ralstonia solanacearum em tomateiro*. Embrapa, 1ª Ed, Brasília, 10pp.
- Lopes, C., 2017. *Cancro bacteriano do tomateiro*. Embrapa Hortaliças, 1ª Ed, Brasília, 46pp.
- López-Pérez, J. A., Le Strange, M., Kaloshian, I., e Ploeg, A. T., 2006. Differential response of Mi gene-resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Crop Protection*, 25, 4, 382–388.
- Manzanilla-López, R. H., Esteves, I., Finetti-Sialer, M. M., Hirsch, P. R., Ward, E., Devonshire, J. e Hidalgo-Díaz, L., 2013. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and Challenges to Improve Its Performance as a Biological Control Agent of Sedentary Endo-parasitic Nematodes. *Journal of Nematology*, 45, 1, 1–7.
- Marcuzzo, L. e Becker, W., 2016. Manejo das principais doenças bacterianas. In *Sistema de produção integrada para o tomate tutorado em Santa Catarina*, Eds. Becker, W., Wamster, A., Feltrim, A., Suzuki, A., Santos, J., Valmorbidia, J., Marcuzzo, L. e Mueller, S., Epagri, 85-96p.
- Mariani, C. M. e Henkes, J. A., 2015. Agricultura orgânica x agricultura convencional soluções para minimizar o uso de insumos industrializados. *Revista gestão e sustentabilidade ambiental*, 2, 3, 315-338.

- Martínez-Ballesta, M. C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C., e Carvajal, M., 2010. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127, 2, 112–118.
- Mateus, C., Amaro, F., Queirós, M. R., Louro, D. e Pequito, A., 2006. TSWV/tripes e vetores. In *Proteção integrada em tomate de indústria*, Eds. Amaro, F. e Mexia, A., Instituto nacional de investigação agrária e das pescas, 32-41.
- Matta, A., 1976. Dannosità della Pyrenochaeta lycopersici nellecolture di pomodoro in serra della riviera ligure. *Culture Protette*, 5, 31-33p.
- Maurício, A. e Nunes, A., 2001. *Tomate de indústria em proteção integrada*. Direção Geral de Desenvolvimento Rural, Direção Regional de Agricultura Ribatejo e Oeste, 1ªEd, Lisboa, 79pp.
- Ministério da agricultura e desenvolvimento rural e das pescas, 2007. Horticultura. *Site* disponível: Instituto Superior de Agronomia (Última atualização: 2019), URL: <http://www.isa.utl.pt/files/pub/destaques/diagnosticos/Horticultura.pdf>. Consultado em 19 Nov. 2019.
- Mitkowski, N. A. e Abawi, G. S., 2003. *Nematoide das galhas*. *Site* disponível: APS - The American Phytopathological Society (Última atualização: 2019), URL: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/nematode/pdlessons/Pages/RootknotNematodePort.aspx>. Consultado em: 17 Set 2019
- Modolon, T., Boff, P., da Rosa, J. M., de Sousa, P. M. R. e Miquelutti, D. J., 2012. Qualidade pós-colheita de frutos de tomateiro submetidos a preparados em altas diluições. *Horticultura Brasileira*, 30, 1, 58-63.
- Moens, M., Perry, R. N. e Starr, J. L., 2009. Meloidogyne Species – a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. In *Root-knot Nematodes*, Eds. Perry, R. N., Moens, M. e Star, J. L. CAB International, Cambridge, 1-17.
- Mohammed, S. M. T., Humidan, M., Boras, M. e Abdalla, O. A., 2009. Effect of Grafting Tomato on Different Rootstocks on Growth and Productivity under Glasshouse Conditions. *Asian Journal of Agricultural Research*, 3, 2, 47-74.
- Moura, A., Filho, M., Anderson, J. e Liz, R., 2014. *Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial*. Embrapa Hortaliças, 1ª Ed, Brasília, 24pp.
- Moura, L., Queiroz, I., Mourão, I., Brito, L. M. e Duclos, J., 2012. Effectiveness of soil solarization and biofumigation for the control of corky root and root-knot nematode *Meloidogyne* spp. on tomato. *Acta Horticulturae* 933 - *XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on Organic Horticulture: Productivity and Sustainability*, 399-405p.
- Mourão, I. e Brito, M., 2017. Enxertia na produção de culturas hortícolas – presente e futuro. *Voz do Campo*, 206, 34-37.
- Mourão, I. M., 2007. *Manual de Horticultura no Modo de Produção Biológico*. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima/IPVC, Ponte de Lima, 198pp.
- Mourão, I., Brito, L. M., Moura, L., Ferreira, M. E. e Costa, S. R., 2017. The effect of pruning systems on yield and fruit quality of grafted tomato. *Horticultura Brasileira*, 35, 247-251.

- Mourão, I., e Brito, L., 2015. A enxertia em culturas hortícolas. *Site disponível: Agrotec* (última atualização: 2019), URL: <http://www.agrotec.pt/noticias/enxertia-em-culturas-hortícolas/>. Consultado em 25 de Set. 2019.
- Naika, S., Jeude, J. V. L., Goffau, M., Hilmi, M. e Van Dam, B., 2006. Agrodok 17 - A cultura do tomate. Fundação Agromisa e CTA, Wageningen, 104pp.
- Nicol, J. M., Turner, S. J., Coyne, D. L., den Nijs, L., Hockland, S. e Maafi, Z. T., 2011. Current nematode threats to world agriculture. In *Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions*, Eds. Jones, J. T., Gheysen, G. e Fenoll, C., Springer Science, 21–44.
- Nicol, J., Turner, S., Coyne, D., den Nijs, L., Hockland, S., e Maafi, Z., 2011. Current nematode threats to world agriculture. In *Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions*, Eds. Jones, J., Gheysen, G., e Fenoll, C., 21–44p.
- Nisini, P. T., Colla, G., Granati, E., Temperini, O., Crinò, P. e Saccardo, F., 2002. Rootstock resistance to fusarium wilt and effect on fruit yield and quality of two muskmelon cultivars. *Scientia Horticulturae*, 93, 281-288.
- O’Flaherty, S. M., Hirsch, P. R. e Kerry, B. R., 2003. The influence of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, the nematicide aldicarb and the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on heterotrophic bacteria in soil and the rhizosphere. *European Journal of Soil Science*, 54, 759–766.
- Oka, Y., Koltai, H., Bar-Eyal, M., Mor, M., Sharon, E. e Chet, I., 2000. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. *Pest Management Science*, 56, 11, 983-988p.
- Øvreås, L., 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. *Ecology Letters*, 3, 236-251.
- Owusu, S. B., Kwoseh, C. K., Starr, J. L. e Davies, F. T., 2016. Grafting for management of root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Nematropica*, 46, 1, 14-21.
- Paplomatas, E. J., Elena, K., Tsagkarakou, A. e Perdikaris, A., 2002. Control of *Verticillium* wilt of tomato and cucurbits through grafting of commercial varieties on resistant rootstocks. *Acta Horticulturae*, 579, 445–449.
- Pasqua, S. D., Dallemole-Giaretta, R., Santos, I., Reiner, D. A. e Lopes, E. A., 2019. Combined application of *Pochonia chlamydosporia* and solid by-product of the wine industry for the control of *Meloidogyne javanica*. *Applied Soil Ecology*, URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139319306092>. Consultado em 27 Nov. 2019.
- Pavlou, G. C., Vakalounakis, D. J. e Ligoxigakis, E. K., 2002. Control of Root and Stem Rot of Cucumber, Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, by Grafting onto Resistant Rootstocks. *Plant Disease*, 86, 4, 379-382.
- Peralta, I.E. e Spooner, D.M., 2001. *Granule-bound starch synthetase (GBSSI) gene phylogeny of wild tomatoes (Solanum L. section Lycopersicon (Mill) Wettst. Subsection Lycopersicon)*. *American Journal of Botany*, 1, 88, 1888-1902.
- Picken, A. J. F., Stewart, K., Klapwijk, D., 1986. *Germination and vegetative development*. In *The tomato crop*, Eds. Atherton, J. G., Rudich, J., Chapman and Hall Ltd, Nova York. 111-165.

- Podestá, G. S., Freitas, L. G., Dallemole-Giaretta, R., Zooca, R. J. F., Caixeta, L. B., e Ferraz, S., 2013. *Meloidogyne javanica* control by *Pochonia chlamydosporia*, *Gracilibacillus dipsosauri* and soil conditioner in tomato. *Summa Phytopathologica*, 39, 2, 122-125.
- Podestá, G. S., Freitas, L. G., Giaretta, R. D., Zooca R. J. F., Caixeta, L. B. e Ferraz, S., 2013. *Meloidogyne javanica* control by *Pochonia chlamydosporia*, *Gracilibacillus dipsosauri* and soil conditioner in tomato. *Summa phytopathol*, 39, 2, 122-125.
- Pohronezny, K.L. e Volin, R.B., 1997. Corky Root Rot. In *Compendium of Tomato Diseases*, Eds. Jones, J.P., Jones, J. B., Stall, R.E. e Zitter, T.A., The American Phytopathological Society, Minnesota, 12-13p.
- Ramalhete, M. e Cortez, M., 2006. *Novas doenças da alface e o Vírus do bronzeado do Tomateiro na Região de Entre-Douro-e-Minho*. Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte (DRAPN), Núcleo de Documentação e Relações Públicas (NDRP), Mirandela, 35pp.
- Reis, M., Silva, R., Gomes, C., Rosa, A., Coelho, L., Marreiros, A., Fernandes, M., Caço, J. e Monteiro, A., 2005. *Comparação da qualidade do tomate obtido segundo o modo de produção biológico, por métodos convencionais no solo e em cultura em lâ de rocha*. Site disponível: DRAPALG – Direção regional de agricultura e pescas do Algarve (Última atualização: 29 Jul. 2019) URL: <http://www.drapalg.min-agricultura.pt/downloads/projectos/Projecto%20%20AGRO197/AGRO%20197%20%20Compara%20%20da%20qualidade%20do%20tomate.pdf>. Consultado em 10 Fev. 2020.
- Rhoades, H. L., 1982. Effect of temperature on survival of *Meloidogyne incognita* in flooded and fallow muck soil. *Nematropica*, 12, 33-37.
- Ribeiro, C., Henz, G., Lopes, C., Cruz, D., França, F., Reifschneider, F., Silva, H., Pessoa, H., Bianchetti, L., Junqueira, N., Makishima, N., Fontes, R., Carvalho, S., Marouelli, W. e Pereira, W., 2007. *Pimenta (Capsicum spp.)*. Site disponível: Embrapa (Última atualização: 2019), URL: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/autores.html. Consultado em: 24 Jun. 2019.
- Riga, P., 2015. Effect of rootstock on growth, fruit production and quality of tomato plants grown under low temperature and light conditions. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56, 5, 626–638.
- Rijk zwaan, s/d. Porta-enxerto. Site disponível: Rijk zwaan (Última atualização: 2019). URL: <https://www.rijkszwaan.pt/cultivo/porta-enxerto>. Consultado em 12 de Dez. 2019.
- Ritzinger, C. e Fancelli, M., 2006. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 28, 2, 331-338.
- Rivard, C. L., O'Connell, S., Peet, M. M., e Louws, F. J., 2010. Grafting Tomato with Interspecific Rootstock to Manage Diseases Caused by *Sclerotium rolfsii* and Southern Root-Knot Nematode. *Plant Disease*, 94, 8, 1015-1021.
- Roca, M., 2009. *Valorização do tomate nacional - Extração de licopeno por CO₂ supercrítico a partir de repiso de tomate*. Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal, 68pp.

- Rodrigues, C., 2009. Plantas hortícolas enxertadas. *I Colóquio Nacional de Sementes e Viveiros*. Portugal: Atas Portuguesas de Horticultura, 15, 80-84.
- Rouphael, Y., e Schwarz, D., Krumbein, A. e Colla, G., 2010. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. *Scientia Horticulturae*, 127, 172-179.
- Rubatzky, V. E. e Yamaguchi, M., 1997. *World Vegetables - Principal, Production, and Nutritive Values*. ITP – International Thomson Publishing, 2ª Ed., Nova York, 843pp.
- Rumbos, C., Khah, E. e Sabir, N., 2011. Response of local and commercial tomato cultivars and rootstocks to *Meloidogyne javanica* infestation. *Australian Journal of Crop Science*, 5, 1388-1395.
- Saladie, M., Matas, A. J., Isaacson, T., Jenks, M. A., Goodwin, S. M., Niklas, K. J., Xiaolin, R., Labavitch, J. M., Shackel, K. A., Fernie, A. R., Lytovchenko, A., O'Neill, M. A., Watkins, C. B. e Rose, J. K. C., 2007. A Reevaluation of the Key Factors That Influence Tomato Fruit Softening and Integrity. *Plant physiology*, 144, 2, 1012–1028.
- Salazar-Anton, W. e Guzman-Hernandez, T. J., 2013. Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate. *Agron. Mesoam*, 2, 24, 419-426p.
- Savvas, D., Colla, G., Rouphael, Y. e Schwarz, D., 2010. Amelioration of heavy metal and nutrient stress in fruit vegetables by grafting. *Scientia Horticulturae*, 127, 156-161.
- Savvas, D., Savva, A., Ntatsi, G., Ropokis, A., Karapanos, I., Krumbein, A. e Olympios, C., 2011. Effects of three commercial rootstocks on mineral nutrition, fruit yield, and quality of salinized tomato. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174, 154-162.
- Schwarz, D., Öztekin, G. B., Tüzel, Y., Brückner, B., e Krumbein, A., 2013. Rootstocks can enhance tomato growth and quality characteristics at low potassium supply. *Scientia Horticulturae*, 149, 70–79.
- Schwarz, D., Öztekin, G. B., Tüzel, Y., Brückner, B., Krumbein, A., 2013. Rootstocks can enhance tomato growth and quality characteristics at low potassium supply. *Scientia Horticulturae* 149, 70-79.
- Seid, A., Fininsa, C., Mekete, T., Decraemer, W. e Wesemael, W. M. L., 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) – a century old battle. *Nematology*, 0, 00, 1-15.
- Seleguini, A., 2005. *Híbridos de tomate industrial cultivados em ambiente protegido e campo, visando produção de frutos para mesa*. Tese de mestrado, Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira – UNESP, Brasil, 56pp.
- Sellitto, V. M., Curto, G., Dallavalle, E., Ciancio, A., Colagiero, M., Pietrantonio, L., Bireescu, G., Stoleru, V. e Storari, M., 2016. Effect of *Pochonia chlamydosporia*-based formulates on the regulation of root-knot nematodes and plant growth response. *Frontiers in Life Science*, 9, 3, 177-181.
- Sementibrida, s/d. Porta-enxertos – Multifort. Site disponível: Sementibrida (Última atualização: 2009). URL: <https://www.sementibrida.pt/produto/porta-enxertos/multifort>. Consultado em 12 de Dez. 2019.

- Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O. e Spiegel, Y., 2001. Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *The American Phytopathological Society*, 91, 7, 687-693.
- Shi, J., Mittal, G., Kim, E. e Jun Xue., F., 2007. *Solubility of Carotenoids in Supercritical CO₂*. *Food Reviews International*, 23, 4, 341-371.
- SIFITO, 2020. Pesquisa de Autorizações de Venda em Vigor. *Site disponível: SIFITO (Última atualização em 2020)*, URL: <https://sifito.dgav.pt/divulgacao/produtos>. (consultado em 12 Jun. 2020)
- Sikora, R. A. e Fernandez, E., 2005. Nematode parasites of vegetables. In *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, Eds. Luc, M., Sikora, R. A. e Bridge, J., 319-392p.
- Silva, J., Giordano, L., Furumoto, O., Boiteux, L., França, F., Bôas, G., Branco, M., Medeiros, M., Marouelli, W., Silva, W., Lopes, C., Ávila, A., Nascimento, W. e Pereira, W., 2006. *Cultivo de Tomate para Industrialização*. Site disponível: Embrapa (última atualização em: 2019), URL: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/pragas_traca.htm. Consultado em: 16 de Jun. 2019.
- Sirtoli, L. F., Cerqueira, R. C., Rodrigues, J. D., Goto, R. e Braga, C. L., 2011. Enxertia no desenvolvimento e qualidade de frutos de tomateiro sob diferentes porta-enxertos em cultivo protegido. *Scientia Agrária Paranaensis*, 10, 3, 15-22.
- Soare, R., Dinu, M., Babeanu, C., 2018. The effect of using grafted seedlings on the yield and quality of tomatoes grown in greenhouses. *Horticultural Science*, 45, 2, 76–82.
- Sorribas, F. J., Omat, C., Galeano, M. e Verdejo-Lucas, S., 2003. Evaluation of a Native and Introduced Isolate of *Pochonia chlamydosporia* against *Meloidogyne javanica*. *Biocontrol Science and Technology*, 13, 8, 707-714.
- Spooner, D.M., Peralta, I.E., Knapp, S., 2005. *Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [Solanum L. section Lycopersicon (Mill.) Wettst.]*. *Taxon*, 54, 1, 43-61.
- Takasu, E., Wu, D. L. e Imai, H., 1996. Effects of grafting on blossom end rot incidence in summer tomato production. *TVIS Newsletter*, 1, 22-23.
- Tateishi, K., 1927. Grafting watermelon onto pumpkin. *Japanese Journal of Horticulture* 39, 5-8.
- Tateishi, K., 1927. Grafting watermelon onto pumpkin. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 39, 5-8.
- Taylor, I. B., 1986. *Biosystematics of the tomato*. In *The Tomato Crop. A Scientific Basis For Improvement*, Eds. Atherton, J., Rudich, G., Chapman and Hall, Nova York.1-34.
- Triantaphyllou, A. C., 1973. Environmental sex differentiation of nematodes in relation to pest management. *Annual Review of Phytopathology*, 11, 441–462p
- Trudgill, D. L. e Blok, V. C., 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: Exceptionally Successful and Damaging Biotrophic Root Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 53–77.

- Turhan, A., Ozmen, N., Serbeci, M. S. e Seniz, V., 2011. Effects of grafting on different rootstocks on tomato fruit yield and quality. *Horticultural Science*, 38, 4, 142- 149.
- Verdejo-Lucas, S. e Sorribas, F. J., 2008. Resistance response of the tomato rootstock SC 6301 to *Meloidogyne javanica* in a plastic house. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 1, 103-107.
- Verdejo-Lucas, S. e Sorribas, F. J., 2008. Resistance response of the tomato rootstock SC 6301 to *Meloidogyne javanica* in a plastic house. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 103–107.
- Verdejo-Lucas, S., Cortada, L., Sorribas, F. J. e Ornat, C., 2009. Selection of virulent populations of *Meloidogyne javanica* by repeated cultivation of Mi resistance tomato rootstocks in a plastic house. *Plant Pathology*, 58, 990-998.
- Viggiano, J. R., Freitas, L. G., e Lopes, E. A., 2014. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. *Biological Control*, 69, 72–77.
- Warnock, S. J., 1988. *A review of taxonomy and phylogeny of genus Lycopersicon*. *Hortscience*. 4, 23, 669-673.
- Weber, K, P. e Legge, R. L., 2009. One-dimensional metric for tracking bacterial community divergence using sole carbon source utilization patterns. *Journal of Microbiological Methods*, 79, 55–61.
- Wesemael, W., Moens, M., e Viaene, N., 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) in Europe. *Nematology*, 13, 1, 3–16p.
- Williamson, V. M., 1998. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. *Annual Review Phytopathology*, 36, 1, 277-293.
- Xia, Y., Xie, S., Ma, X., Wu, H., Wang, X., e Gao, X., 2011. The purL gene of *Bacillus subtilis* is associated with nematicidal activity. *FEMS Microbiology Letters*, 322, 2, 99–107.
- Zak, J. C., Willig, M. R., Moorhead, D. L. e Wildman, H. G., 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 9, 1101-1108
- Zambolim, L., Rodrigues, F. A., e Capucho, A. S., 2005. Resistência a doenças de plantas induzida pela nutrição mineral. In Eds. M. Venzon, T. J. Júnior, e A. Pallini, *Controle alternativo de pragas e doenças*, Belo Horizonte, EPAMIG, 275-319.
- ZhenDe, C., PeiSheng, W., Ying, Z., YuLing, J., Peng, L., ZongJun, W. e JunJie, H., 2012. Effects of different resistant rootstocks on yield and quality of grafted tomato and control effects of *Meloidogyne incognita*. *China Vegetables*, 20, 83-87.

7. ANEXOS

BOLETIM DE ANÁLISES

TERRAS

CÓDIGO DE AMOSTRA: 503180159

CLIENTE: Oliveira & Fontes

CAMPO / PARCELA: Estufas Rioalto (H3005)

FREGUESIA: Estela

CONCELHO: Póvoa de Varzim

CULTURA: Tomate

FAIXA DE pH MAIS FAVORÁVEL: 5,8 - 7,0

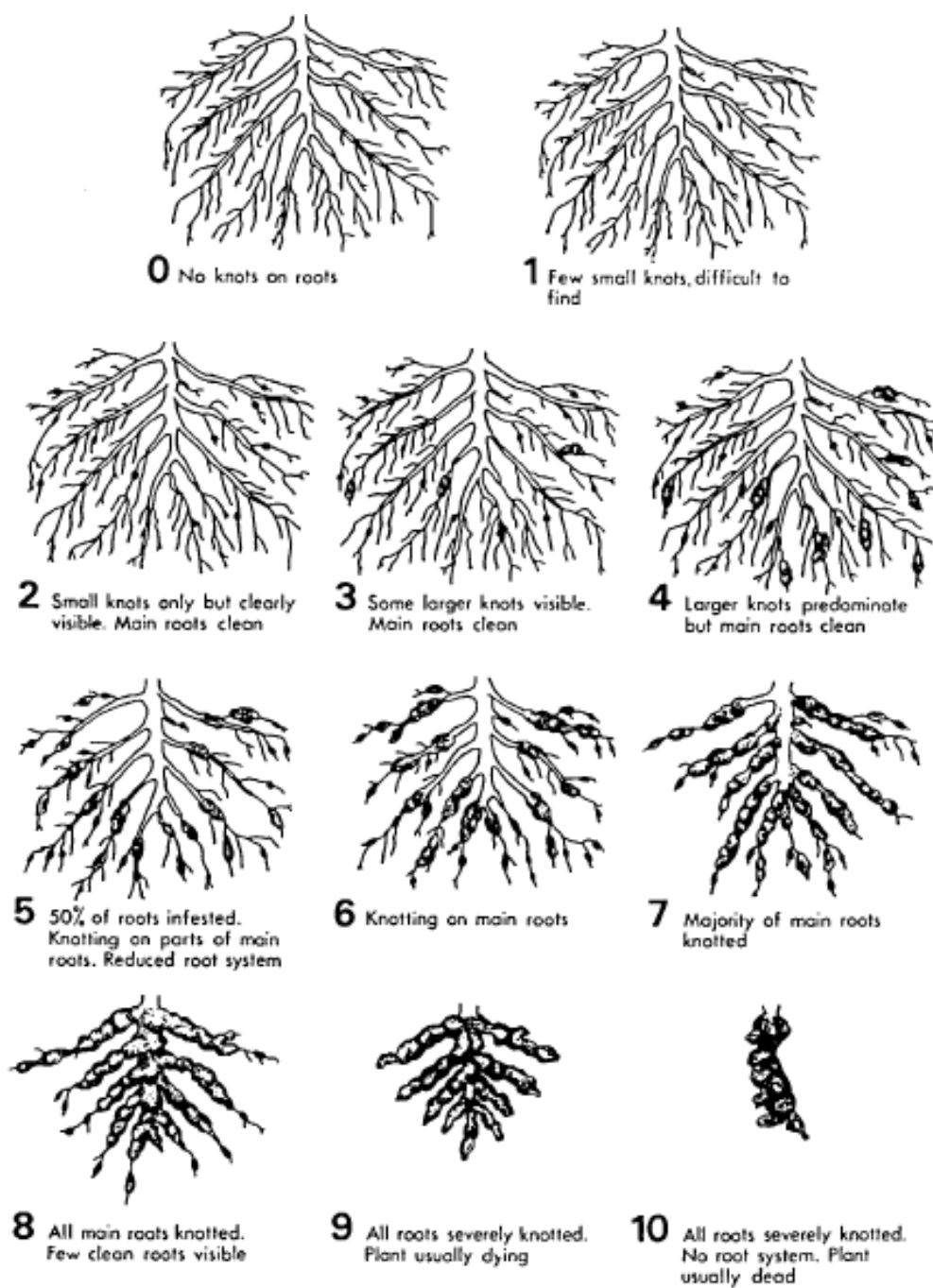
PRODUÇÃO ESPERADA: 80 t/ha

OBSERVAÇÕES: As amostras foram preparadas consoante a norma ISO 11464:2006.
Os resultados obtidos referem-se apenas às amostras analisadas.



| <i>Parâmetro / Método</i> | <i>Resultado</i> | <i>Interpretação</i> | <i>Correctivo a aplicar / Comentários</i> |
|--|--------------------|----------------------|---|
| pH (H ₂ O) ISO 10390:2005 / Potenciometria | 7,21 ± 0,01 | Neutro | - |
| Necessidade de Calcário Cálculo / Volumetria | | | |
| pH (CaCl ₂) ISO 10390:2005 / Potenciometria | 6,97 ± 0,01 | Neutro | - |
| Condutividade eléctrica ISO 11265:1994 / Condutimetria | 2484 ± 2 µS/cm | Fortemente salino | Lava o solo com 1-2 L de água / cada 30 cm ² de solo |
| Matéria orgânica Cálculo (M.O. = C _{org} x 1,724) | 4,51 ± 0,01 % | Alta | 15 t/ha Estrume de bovino bem curtido |
| Carbono orgânico prNE 15936:2009 / Condutimetria | 2,62 ± 0,04 % | | - |
| Azoto total NE 13654-2:2001 / Condutimetria | 0,16 ± 0,02 % | Médio | 200 kg/ha N |
| Razão Carbono : Azoto Cálculo | 16,8 | Elevado | Condições favoráveis para a imobilização do azoto |
| Fósforo (P ₂ O ₅) ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3 | 1072,9 ± 0,4 mg/kg | Excesso | 0 kg/ha P ₂ O ₅ |
| Potássio(K ₂ O) ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3 | 767,7 ± 1,3 mg/kg | Excesso | 0 kg/ha K ₂ O |
| Cálcio (CaO) ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3 | 13101 ± 0,9 mg/kg | Excesso | |
| Magnésio (MgO) ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3 | 838,9 ± 0,4 mg/kg | Excesso | 0 kg/ha MgO |
| Sódio ISO 22036:2008 / Extração em Mehlich 3 | 276,6 ± 0,1 mg/kg | | |

Anexo 1: resultados das análises de solo realizadas antes do início do ensaio



Anexo 2: Escala de Escala visual do índice de galhas causadas por NGR (Bridge y Page 1980)

| Inácio | | | 250 L | |
|---------------------------|--------|------------|-------|--------|
| Vegetativo | | | Cuba | Tomate |
| Nitrato de Cálcio | 15,00 | Kg | 1 | 50% |
| Nitrato de Potássio | 1,50 | kg | | |
| Nitrato de Amônio | 750,00 | gr | | |
| Ácido Nítrico (60%) | 4,00 | L | | |
| Ferro 6% (Essemax) | 500,00 | gr | | |
| Micronutrientes (Mikrom) | 500,00 | gr | 2 | 50% |
| Sulfato de Magnésio | 1,50 | Kg | | |
| Ácido Fosfórico (72%) | 3,00 | L | | |
| Nitrato de Potássio | 5,00 | kg | | |
| Sulfato de Potássio | 5,0 | kg | | |
| Molicream | 20,0 | gr | | |
| Sulfato de Manganês (32%) | 50,0 | gr | | |
| Borax (11%) | 100,0 | gr | | |
| | | | | pH 5,6 |
| Tomate | Fase | Vegetativo | | |
| | C.E. | 2,8 | | |

| Inácio | | | 250 L | |
|---------------------------|--------|-------------|-------|--------|
| Produtivo | | | Cuba | Tomate |
| Nitrato de Cálcio | 14,00 | Kg | 1 | 50% |
| Nitrato de Potássio | 1,50 | kg | | |
| Nitrato de Amônio | 750,00 | gr | | |
| Ácido Nítrico (60%) | 4,00 | L | | |
| Ferro 6% (Essemax) | 500,00 | gr | | |
| Micronutrientes (Mikrom) | 500,00 | gr | 2 | 50% |
| Sulfato de Magnésio | 1,50 | Kg | | |
| Ácido Fosfórico (72%) | 3,00 | L | | |
| Nitrato de Potássio | 5,00 | kg | | |
| Sulfato de Potássio | 8,0 | kg | | |
| Molicream | 20,0 | gr | | |
| Sulfato de Manganês (32%) | 50,0 | gr | | |
| Borax (11%) | 100,0 | gr | | |
| | | | | pH 5,6 |
| Tomate | Fase | Reprodutiva | | |
| | C.E. | 2,7 | | |

Anexo 3: Formulação da fertilização aplicada à cultura pela água de rega. À esquerda, a fertilização para a fase vegetativa e à direita para a fase reprodutiva.

| Tratamentos | Preço €/planta | Plantas/m ² | Preço €/m ² |
|-------------------|----------------|------------------------|------------------------|
| Anairis | 0,25 | 2,94 | 0,74 |
| Anairis X Anairis | 0,71 | 2,94 | 2,07 |
| Anairis X p.e. | 0,71 | 1,47 | 1,04 |

Anexo 4: Preços pagos ao viveiro por plantas enxertadas, plantas não enxertadas e plantas auto-enxertadas