

# Contributo dos bioestimulantes para o aumento da sustentabilidade e da resiliência às alterações climáticas em pequenos frutos

**Susana M. P. Carvalho**, Tânia Fernandes, Andreia Garrido, Inês Silva, Nuno Mariz-Ponte

Professora na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Vice-Diretora do GreenUPorto – Centro de Investigação em Produção Agroalimentar Sustentável

[susana.carvalho@fc.up.pt](mailto:susana.carvalho@fc.up.pt)



# Conteúdo

## ➤ Enquadramento

- Desafios globais
- Bioestimulantes:
  - o que são? como funcionam? que categorias existem?
  - evolução da investigação em bioestimulantes
  - que oportunidades e desafios?

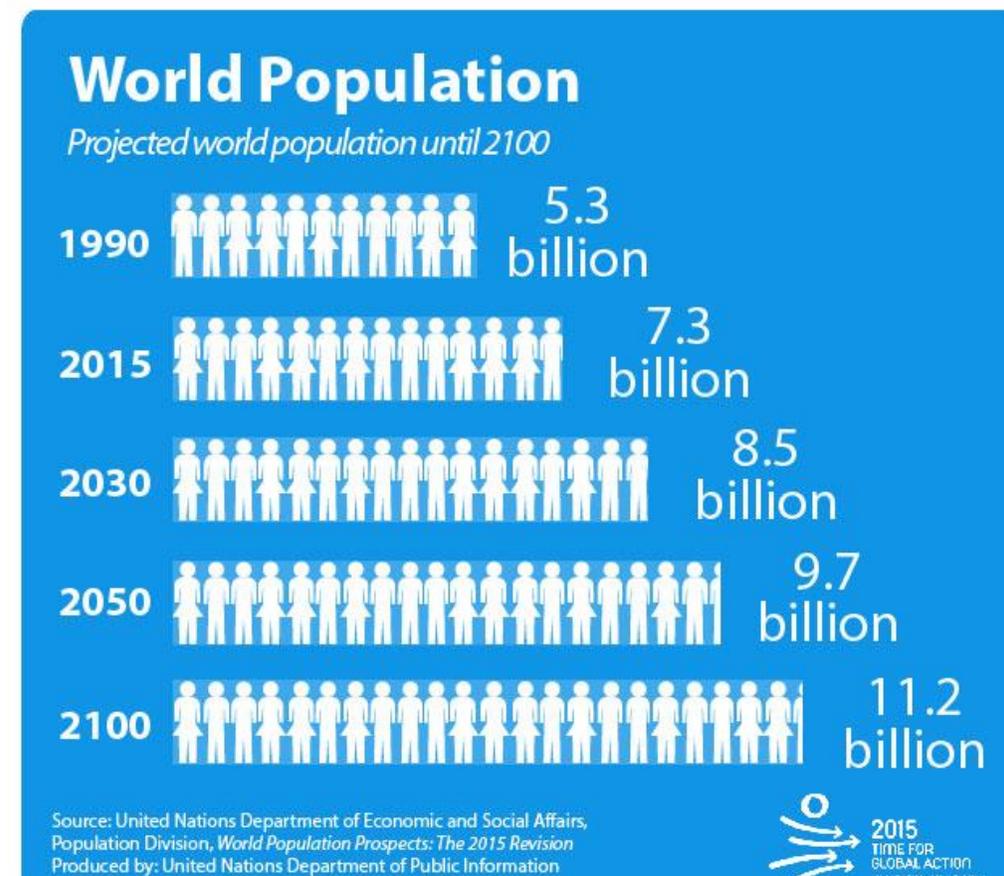
## ➤ Estudos de caso (Projetos em Curso em Pequenos Frutos)

- Agentes de Biocontrolo: Projeto BFree (IFAP; PRR)
- Aplicação de Elicitadores: Projeto Botrytis-Xtalk (FCT)

# Quais os desafios sociais atuais para uma produção alimentar sustentável?

Fonte: Nações Unidas (2015)

- Aumento da população mundial
  - População irá duplicar em cerca de 100 anos;
  - 68% população concentrada em zonas urbanas
- Escassez de recursos
  - Recursos finitos (ex. água, fertilizantes, terra...)
- Alterações Climáticas
  - Aquecimento global
  - Ocorrência eventos climáticos extremos (cheias e secas mais frequentes)



‘Food security’ e ‘Food safety’ – segurança alimentar

## Desafios extra...

### ➤ Pacto Ecológico Europeu para a sustentabilidade ‘European Green Deal’ (2020)

Estratégia “From Farm to Fork”, propõe (até 2030):

- **redução em 50% o uso de PFF** na Europa
- redução do **uso de fertilizantes** em pelo menos 20%
- redução das **perdas de nutrientes** em pelo menos 50%



### ➤ **Consumidor** mais informado e mais exigente

- produtos alimentares mais saudáveis
- com maior valor nutricional
- Atentos à pegada de carbono ↔ procura de produtos locais
- **‘Zero resíduos’ nos produtos frescos (F&L)**



## Enquadramento

- Como fazer face a estes desafios num **cenário de alterações climáticas** e perante **globalização** dos mercados, que tendem a **exacerbar** a ocorrência e disseminação de **pragas e doenças**?
- Os **bioestimulantes** podem ser um aliado importante nestes contextos?



**SIM!!!**

Aumento da tolerância a stresses abióticos (ex. calor, stress hídrico...)  
e também a stress bióticos (pragas e doenças)

# BIOSTIMULANTES: o que são e como funcionam?

- Compostos derivados de produtos naturais que contêm substâncias bioativas (potenciadoras do metabolismo das plantas) e/ou microorganismos benéficos
- Quando aplicados em pequenas quantidades à planta e/ou à rizosfera, estimulam processos naturais de aumento da eficiência do uso de nutrientes e a aumento de tolerância a múltiplos stresses

***Desenvolvimento radicular***



***Crescimento vegetativo***



***Aumento da taxa de floração e frutificação***



***Aumento da tolerância a stresses bióticos e abióticos***



DOSSIER **BIOESTIMULANTES**

**BIOESTIMULANTES  
NA AGRICULTURA:**  
CATEGORIAS, LEGISLAÇÃO,  
OPORTUNIDADES E DESAFIOS

Por: Maling Wang,  
Susana M. P. Carvalho\*  
GreenUPorto & DGAOT, Faculdade de Ciências  
- Universidade do Porto, Campus de Vairão, Rua  
Padre Armando Quintas, 7. 4485-661 Vairão.  
\* [susana.carvalho@fc.up.pt](mailto:susana.carvalho@fc.up.pt)

# Principais CATEGORIAS de bioestimulantes



## Extratos de algas

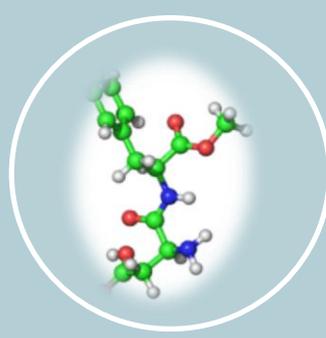
Contêm hormonas e nutrientes que promovem o crescimento da planta e aumentam resiliência



## Hormonas vegetais

(Ex. Auxinas, giberelinas, SA e JA)

Regulam o crescimento e aumentam a resiliência das plantas



## Aminoácidos e péptidos

Estimulam os processos metabólicos nas plantas



## Ácidos húmicos e fúlvicos

Melhoram a estrutura do solo e aumentam a capacidade de retenção de nutrientes



## Microorganismos benéficos

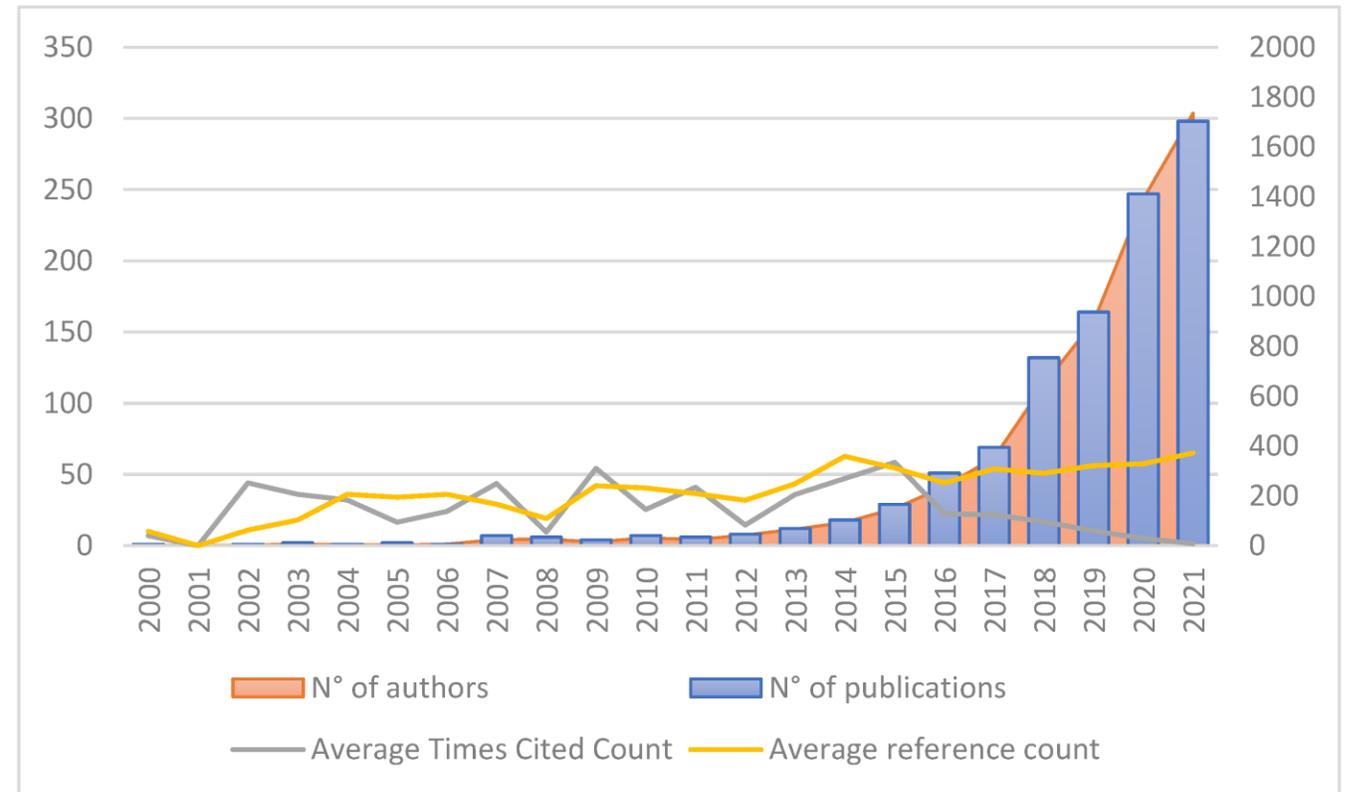
bactérias e fungos, que aumentam a disponibilidade de nutrientes e protegem as plantas de patógenos

Usados de modo complementar aos fertilizantes e aos fitofarmacos, visando aumentar a eficiência das culturas e promover uma agricultura mais sustentável, com menos dependência de produtos químicos de síntese

# Evolução dos bioestimulantes - estatísticas

**Aumento exponencial** do no. estudos entre 2000-2021

(em 2021 havia já ≈ 1800 publicações)



- **Mercado global de bioestimulantes** está estimado em ≈ **3 mil milhões de Dolares (em 2021)** e é expectável que aumente para > **5.1 mil milhões (em 2027)**
- Europa tem maior fatia do mercado (45%)
- França, Itália e Espanha são os principais países produtores

**Fonte:**

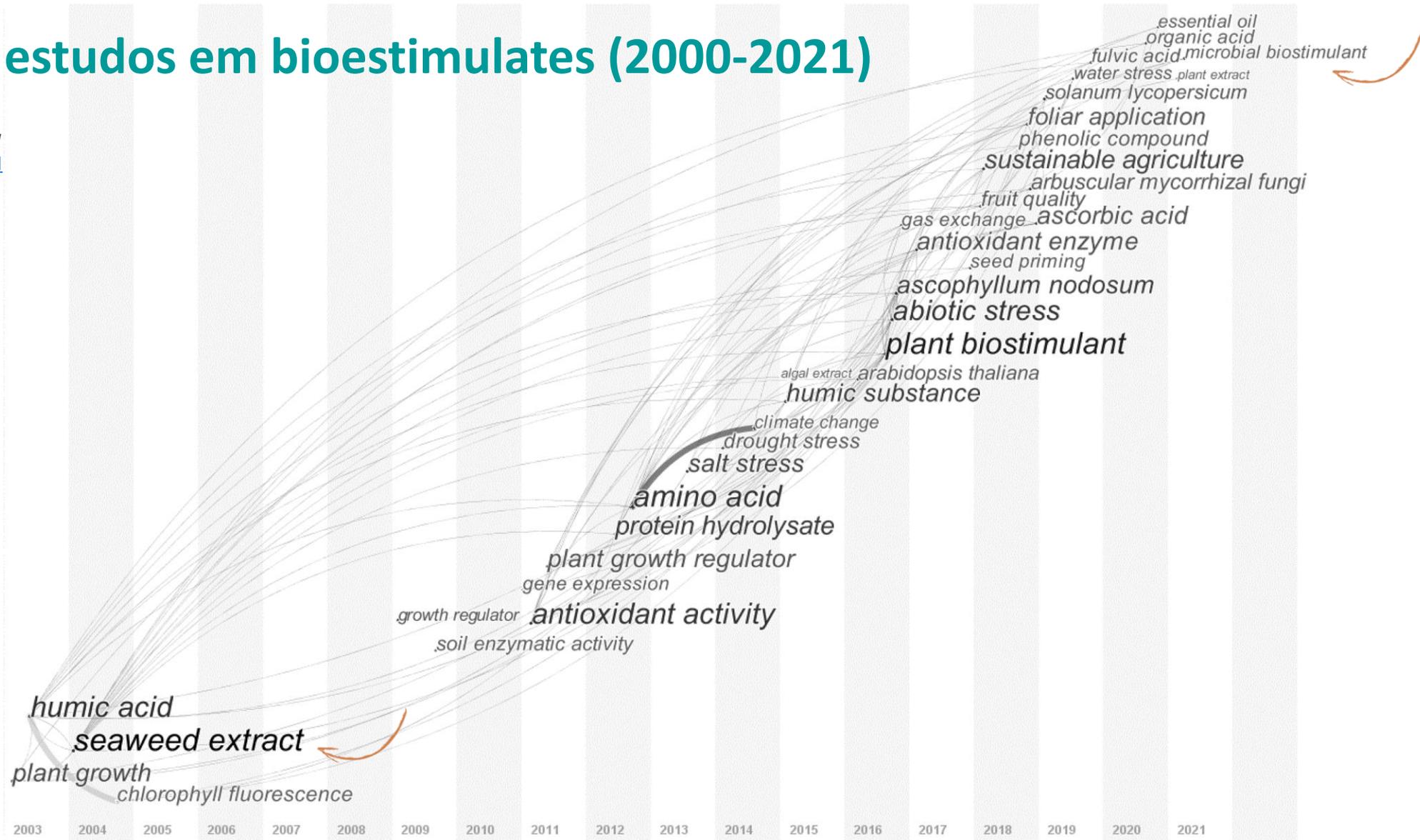
Corsi et al. 2022. *Agronomy* **2022**, 12, 1257  
<https://doi.org/10.3390/agronomy12061257>

# Evolução dos estudos em bioestimulantes (2000-2021)

Fonte:

Corsi et al. 2022. *Agronomy* 2022, 1

<https://doi.org/10.3390/agronomy1>



## Bioestimulates – Oportunidades e Desafios

### ➤ Mercado global dos bioestimulantes continua em expansão

*Impulsionado pela promoção de práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes, consumidores mais exigentes com qualidade dos produtos (sem resíduos químicos)*

### ➤ Principal **desafio científico** é a complexidade dos seus efeitos fisiológicos e a compreensão dos modos de acção dos mesmos, assim como a sua **interação com os genótipos e o ambiente** (G × E)

*Desafio ainda maior se atendermos ao facto de que a **composição e o conteúdo de substâncias ativas na matéria-prima original** podem ser **afetados por muitos fatores**, incluindo a localização e condições de crescimento, estação do ano, espécie, variedade, órgãos e a fase de crescimento*



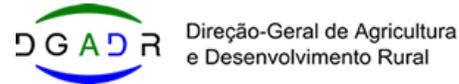
- Fundamental otimizar e standardizar as matérias primas e processos de produção
- Testar em diferentes espécies/cultivares & condições ambientais

## Extratos de algas – conclusões gerais de estudos anteriores em pequenos frutos

- Mais eficazes quando a cultura está em condições de stress (i.e. não está nas condições ótimas de crescimento)
- Maior eficácia quando aplicados em menor dose com maior frequência
- Aumento da produtividade e da firmeza

# Estudo de Caso

## *Projeto BFREE: Biocontrolo de FRutos e LEgumEs*



Duração: **36 meses** (Out. 2022 – Set. 2025)

Orçamento total: **860.407,0€**

**Entidade  
Coordenadora**



**Susana M. P. Carvalho** (Coordenadora Projeto BFREE)

## Parceiros



## 10 PME de produtores/OPs de frutícolas e de hortícolas



Frescura Sublime, Unipessoal, Lda  
Miguel Mesquita & Hugo Seca, Lda.  
**Bfruit (OP)**  
**PAM OP, Lda. (OP)**  
Sociedade dos Agrícola Sirfideos Lda.

Beirabaga  
Berrysmart  
**HT&HF - HorTorres/HortaFina (OP)**

**Madrefruta (OP)**  
Pontorizonte

# Identificação do problema

Pragas e doenças **reduzem 20-40% da produção agrícola global**

Doenças causados por fungos fitopatogénicos são o principal motivo para a **rejeição de frutas e de legumes** afetando toda a fileira (dos produtores aos consumidores) \*

Controlo destas doenças baseia-se na **aplicação excessiva de fungicidas sintéticos**, sobretudo em culturas de ciclo longo, com impacto nos ecossistemas e na saúde humana

\* Ex. podridão cinzenta, míldio, oídio, antracnose, ferrugem, entre outras

# Objetivo Geral

Desenvolver **estratégias de biocontrolo de doenças fúngicas em frutas e em legumes**, de modo a reduzir a aplicação de fungicidas químicos e o seu impacto ambiental e na saúde humana

## BFREE



- **Pacto Ecológico Europeu** (Redução do uso de produtos fitofarmacêuticos em 50% até 2030)
- ODS das Nações Unidas da Agenda 2030  
(**ODS2** - Erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável; **ODS12** - Garantir padrões de consumo e de produção sustentáveis);
- Iniciativa Emblemática 6 – Territórios Sustentáveis, da Agenda de Inovação para a Agricultura 2020-2030  
(**LA 6.2.** - Desenvolvimento de **novas práticas agrícolas que permitam a redução do uso e do risco de inputs de síntese**)

# Agentes de Biocontrole

## O que são?

são microrganismos benéficos vivos ou seus derivados, utilizados na agricultura para controlar doenças de forma sustentável, reduzindo a aplicação de produtos fitofarmacêuticos (PFFs) sintéticos.

Microrganismos



Produtos derivados



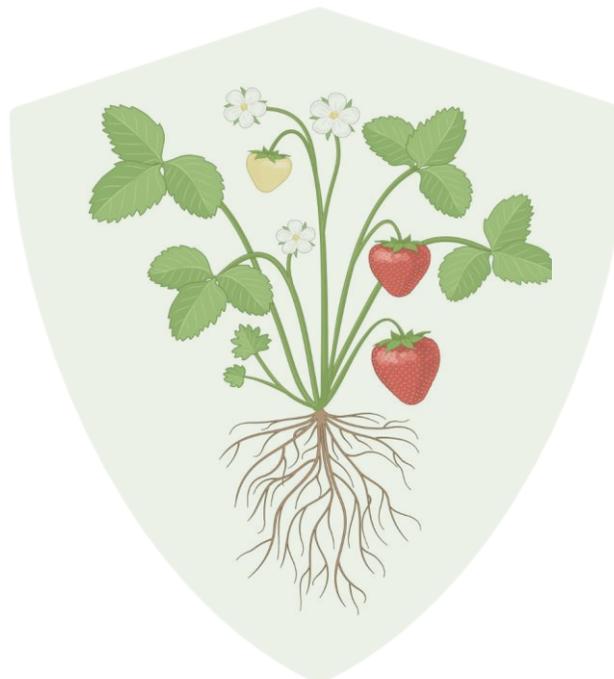
Biomoléculas



## Como funcionam?

### Ação direta (sobre o agente patogénico)

- Competição (espaço e nutrientes)
- Micoparasitismo
- Produção de compostos antimicrobianos



### Ação indireta (sistema imunitário da planta)

Elicitação dos mecanismos de defesa da planta (tornando-a mais resistente às doenças)

# Introdução

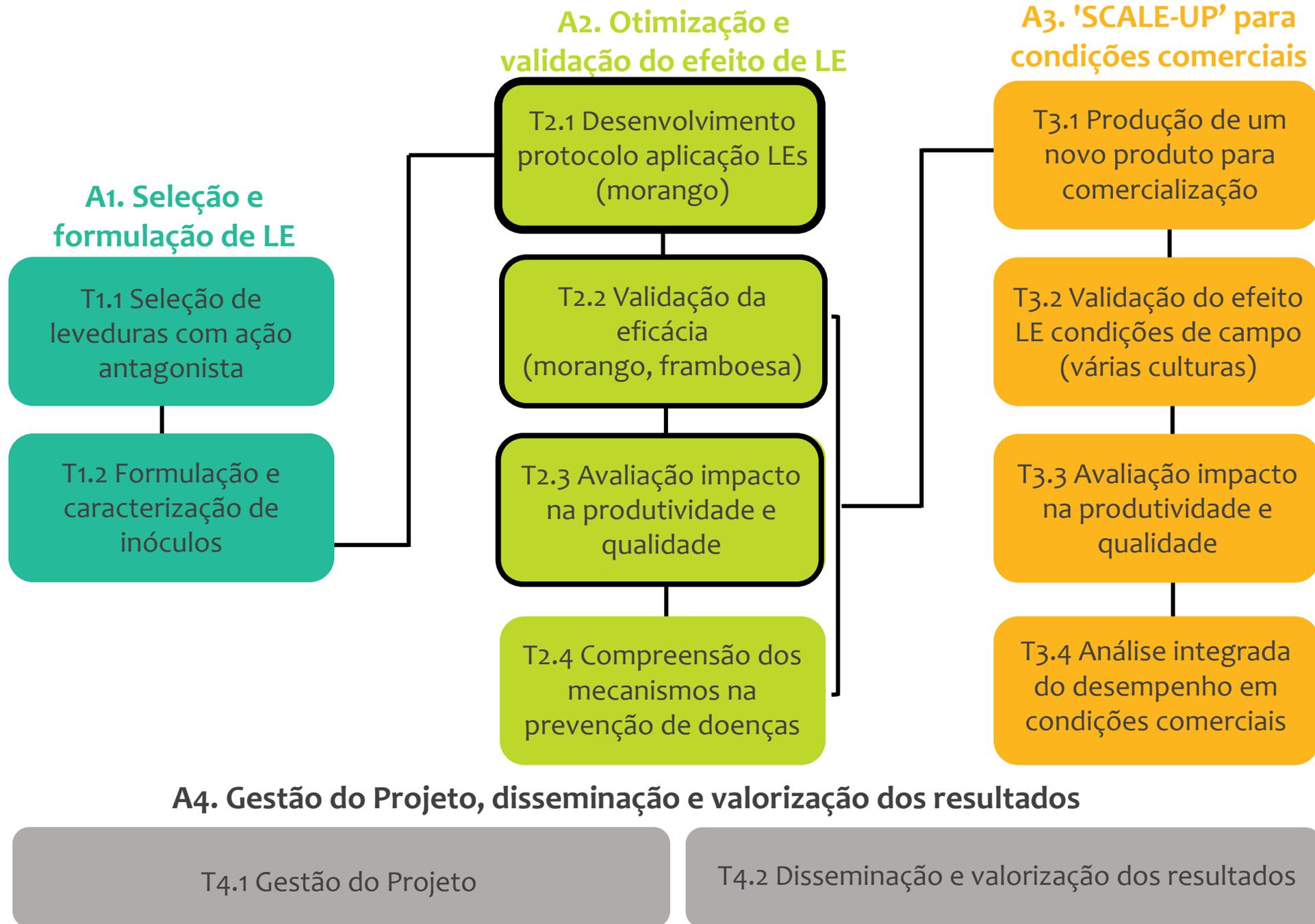
## Agentes de Biocontrolo

### Quais as vantagens?

- Aumento da produtividade (redução de perdas decorrentes de doenças)
- Redução do uso de PFFs
- Redução do impacto ambiental
- Acompanhamento de tendências de consumo - produtos 'resíduo zero'



# Ações e Tarefas do BFree



# Atividade 1: Leveduras endófitas com ação antagonista contra agentes fitopatogénicos: da seleção à formulação



## Tarefa 1.1. Seleção de leveduras com ação antagonista (M1-4)

Coordenação: FCUP | Participante: Proenol

- Recurso a 2 coleções de leveduras
- Realização de ensaios co-cultura *'in-vitro'*
- Seleção das 3 leveduras com ação antagonista mais significativa – Leveduras A, B e C



# Atividade 1: Leveduras endófitas com ação antagonista contra agentes fitopatogénicos: da seleção à formulação

## Tarefa 1.2. Formulação e caracterização de inóculos para aplicação em culturas (M3-8)

Coordenação: Proenol | Participante: FCUP

- Meios de cultura
- Parâmetros físico-químicos ( $^{\circ}\text{C}$ , pH,...)
- Rendimento
- Caracterização microbiológica
- Desenvolvimento de 3 formulações
  - Levedura viva (líquida)
  - Extrato (pó; liofilizado)
  - Exsudado (líquido)



# Atividade 2: Otimização e validação do efeito de leveduras endófitas como agentes de biocontrolo

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs (M3-14)

Coordenação: FCUP | Participante: INIAV

### 14 tratamentos

- Controlo Aderente
- 3 leveduras: A, B e C
  - ×
- 3 formulações: levedura viva; exsudado; extrato
- 2 modos de aplicação: foliar e radicular (apenas exsudados)
- Controlo químico: fungicida sintético



# Atividade 2: Otimização e validação do efeito de leveduras endófitas como agentes de biocontrolo

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs (M3-14)

Coordenação: FCUP | Participante: INIAV

**Cultura:** morango (cv. 'San Andreas')

**Doença-alvo:** podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*)

**Aplicações:** 10 aplicações no total de 2 em 2 semanas - **tratamento preventivo**



# Atividade 2: Otimização e validação do efeito de leveduras endófitas como agentes de biocontrolo

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs (M3-14)

Coordenação: FCUP | Participante: INIAV

### Distribuição aleatória dos tratamento na estufa

CQ1	LAV1	LB Exs1	LC Ext1	C1	LA Exs1	LC ER1	LC V1	LB V1	LB ER2	LA Ext2	LC Exs2	LB Ext1	LA ER1
LA ER2	LB Ext3	LB Exs1	LB ER1	LA Ext3	LC Ext2	LAV2	LB Exs2	C3	CQ3	LA Exs2	LC V3	LA ER3	LB V2
LB V3	LA ER2	LC V2	LA Exs3	CQ2	LB ER3	LA ER3	LB Ext2	LB Exs3	LA Ext1	LC Ext3	LB Exs3	LAV3	C2

	Viável (V)			Exsudado (Exs)			Extracto (Ext)			Exsudado aplicação radicular		
Levedura A	LAV1	LAV2	LAV3	LA Exs1	LA Exs2	LA Exs3	LA Ext1	LA Ext2	LA Ext3	LA ER1	LA ER2	LA ER3
Levedura B	LB V1	LB V2	LB V3	LB Exs1	LB Exs2	LB Exs3	LB Ext1	LB Ext2	LB Ext3	LB ER1	LB ER2	LB ER3
Levedura C	LC V1	LC V2	LC V3	LC Exs1	LC Exs2	LC Exs3	LC Ext1	LC Ext2	LC Ext3	LC ER1	LC ER2	LC ER3

Controlo	C1	C2	C3
----------	----	----	----

Fungicida	CQ1	CQ2	CQ3
-----------	-----	-----	-----

### Réplicas

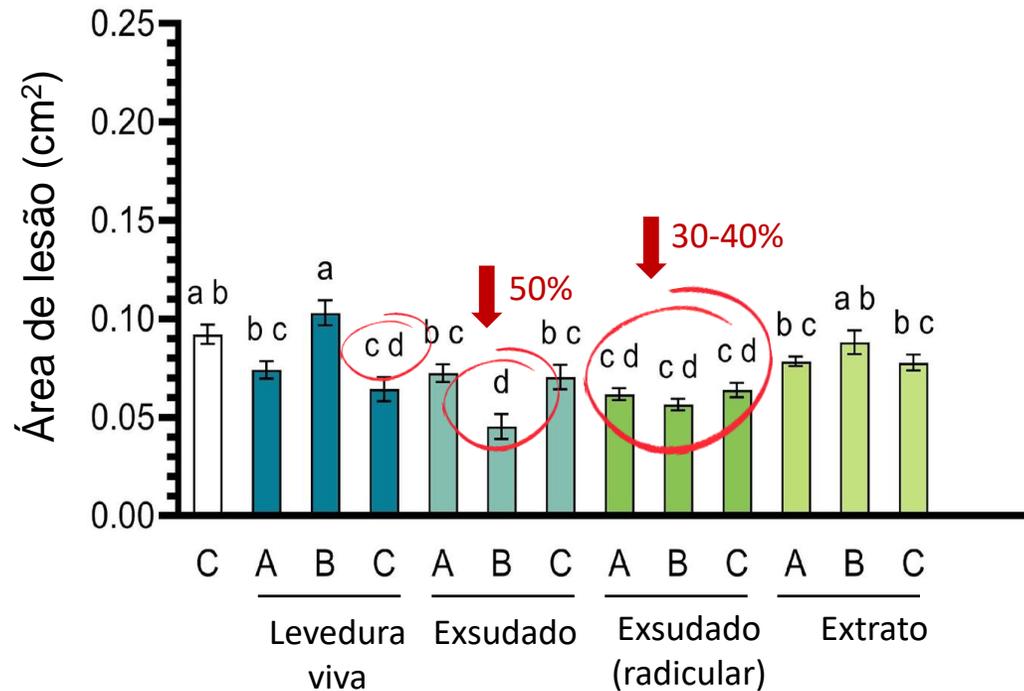
- 3 sacos por tratamento
- 7 plantas por saco

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Primeiros Resultados

#### 1. Eficácia no controlo da doença – tratamento preventivo

➤ Após 3ª aplicação



Folha infetada com esporos de *B. cinerea* em laboratório

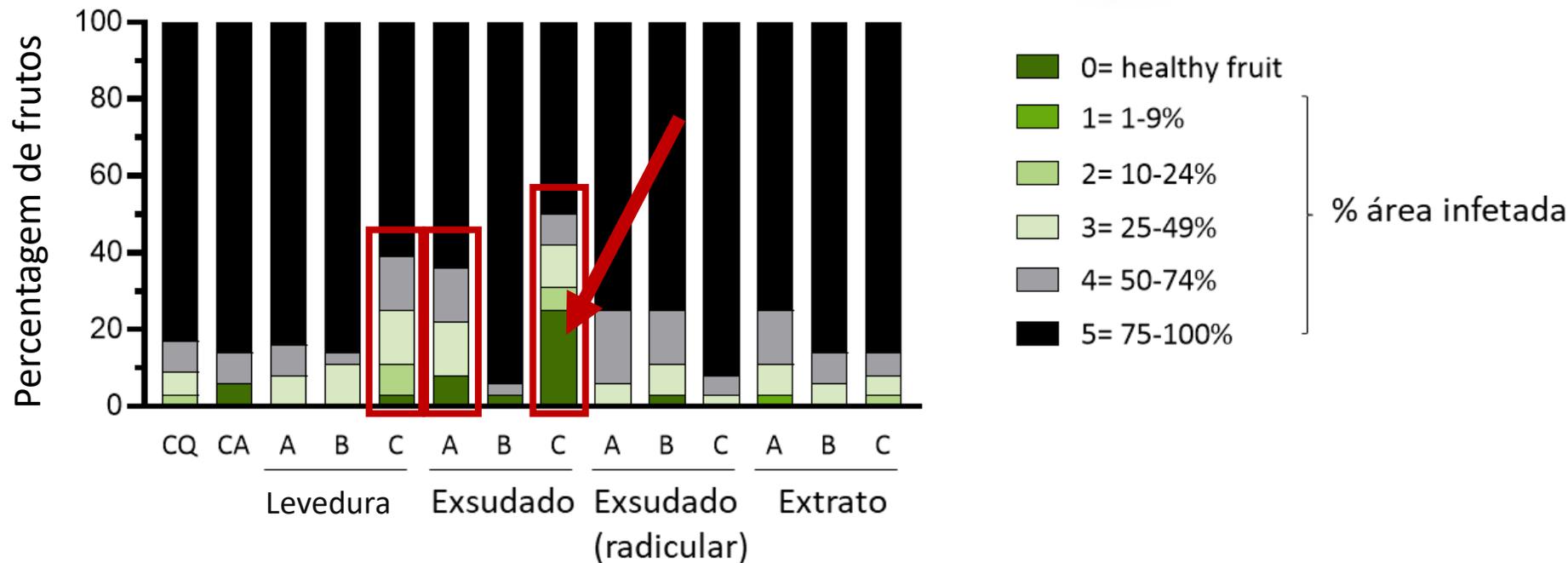
**Levedura viva C e exsudados** apresentaram **efeito preventivo** na redução do crescimento da *B. cinerae*

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Primeiros Resultados

#### 1. Eficácia no controlo da doença – tratamento preventivo

➤ Após 9ª aplicação – ensaio em frutos



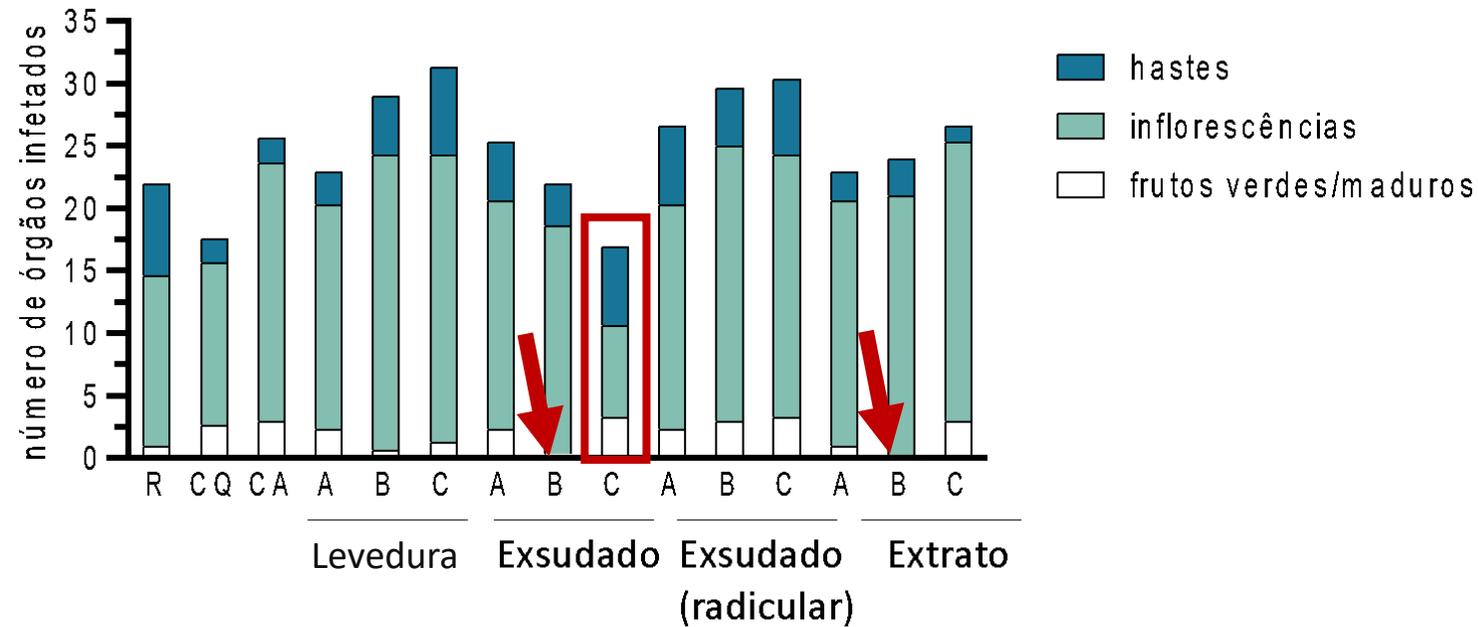
O tratamento com **Exsudado C** é capaz de manter **~30% dos frutos saudáveis** (sem infeção visível) após inoculação com esporos de *B. cinerea* (7 dias)

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Primeiros Resultados

## 2. Eficácia no controlo da doença – tratamento curativo (duplicação da dose da formulações)

➤ Número cumulativo de órgãos infetados após tratamento curativo com ABCs



- Menor incidência global de infeções 10 dias da aplicação de tratamento curativo com **Exsudado C**.
- A aplicação do tratamento curativo com **Exsudado B** e **Extrato B** inibiu totalmente a infeção de frutos na estufa.

## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### *Primeiros Resultados*

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

- **Pico de colheita** (Após 6 aplicações dos ABCs)

#### ***Parâmetros analisados:***

- Peso médio
  - Calibre (comprimento, diâmetro)
  - Cor
  - Grau brix
  - pH
  - Acidez titulável
- 
- n = 5 frutos/réplica

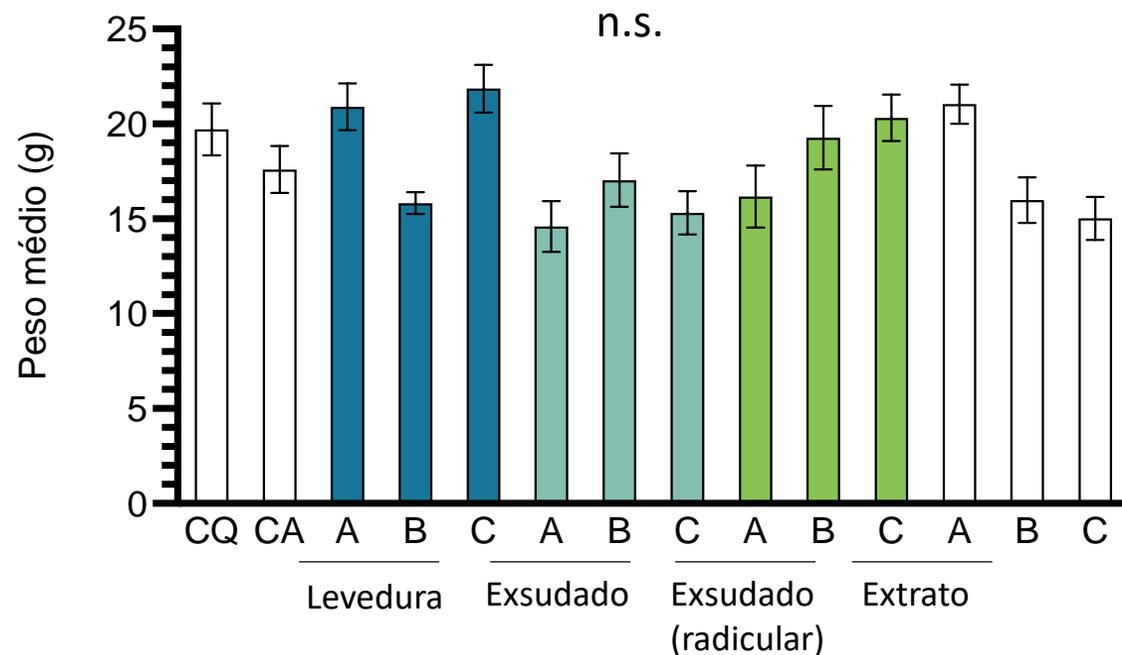


## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

*Primeiros Resultados*

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ Peso médio

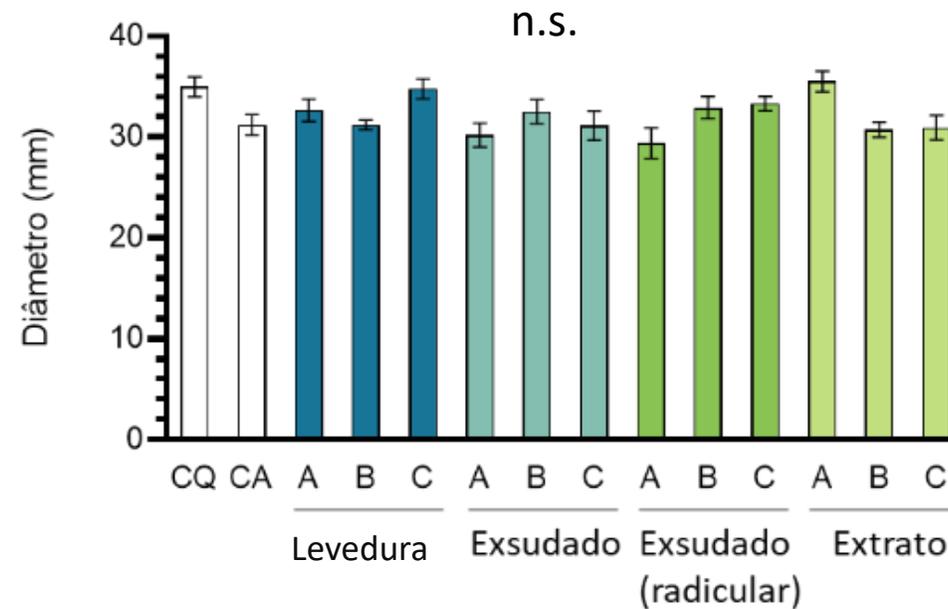
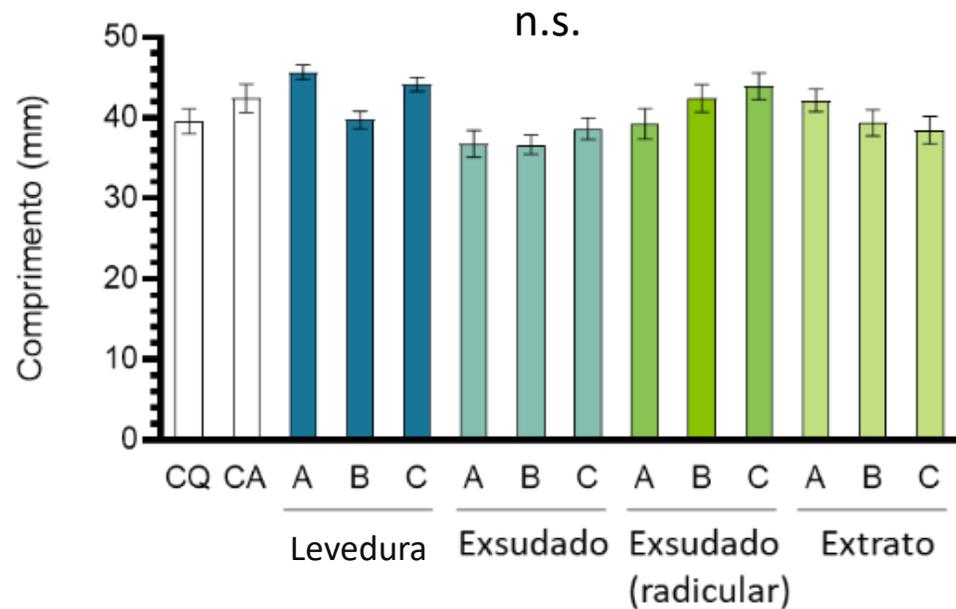


## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

*Primeiros Resultados*

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ Calibre

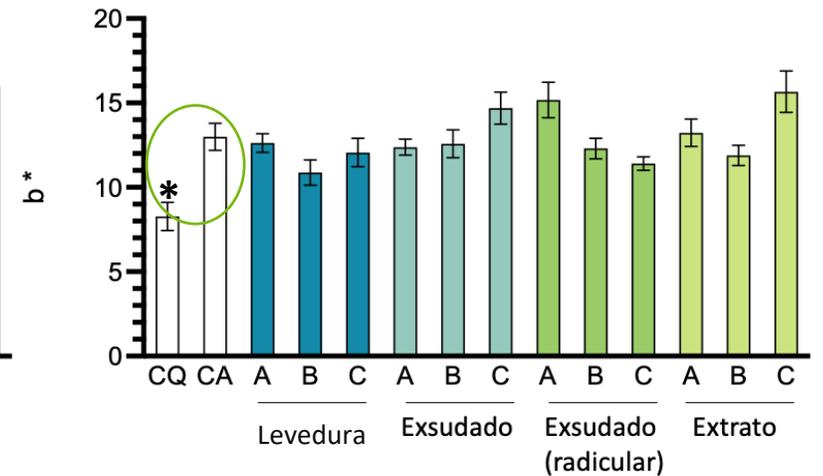
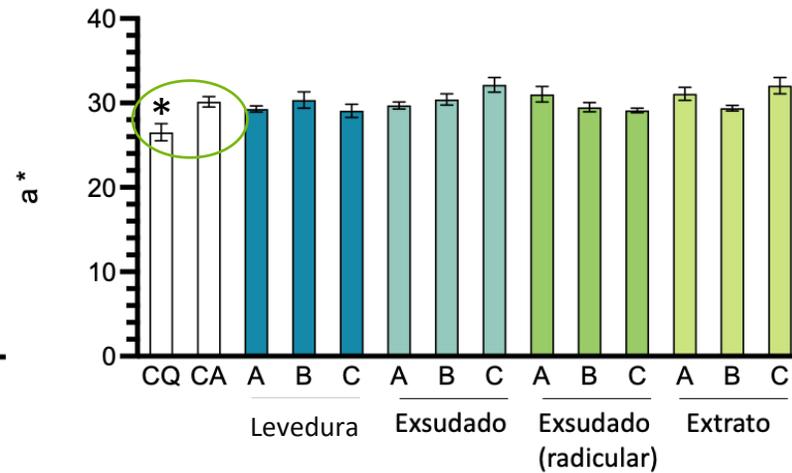
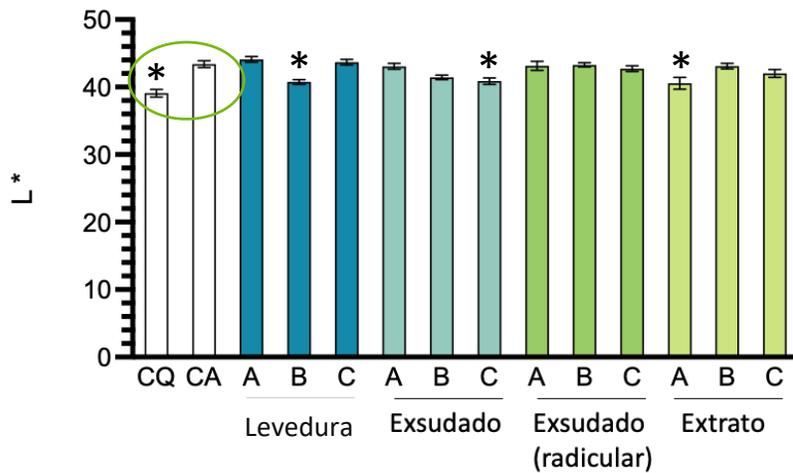


# Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

## Primeiros Resultados

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ Cor

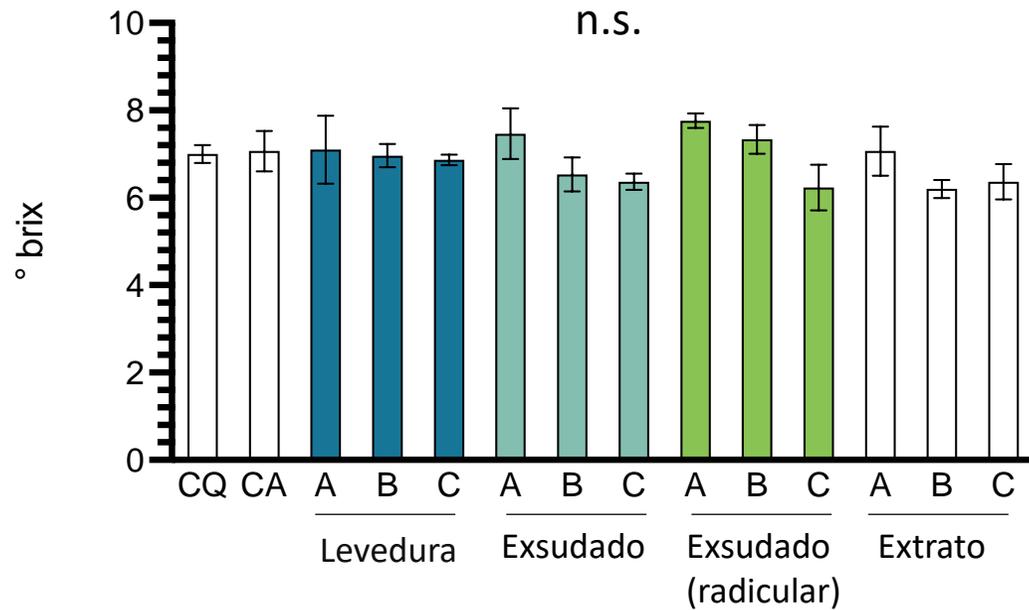


## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Primeiros Resultados

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ Grau brix

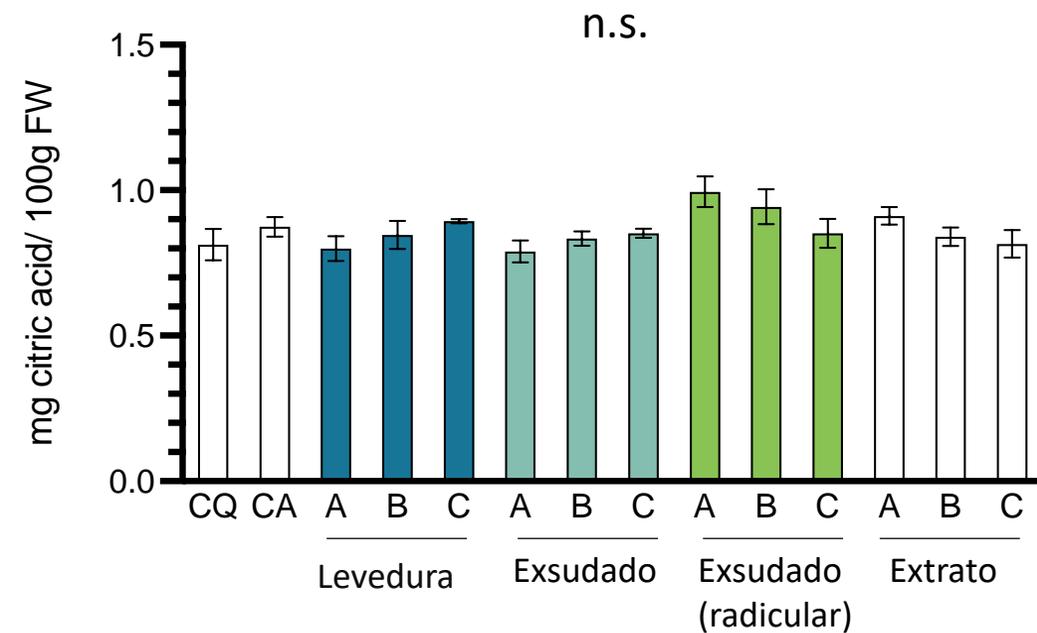
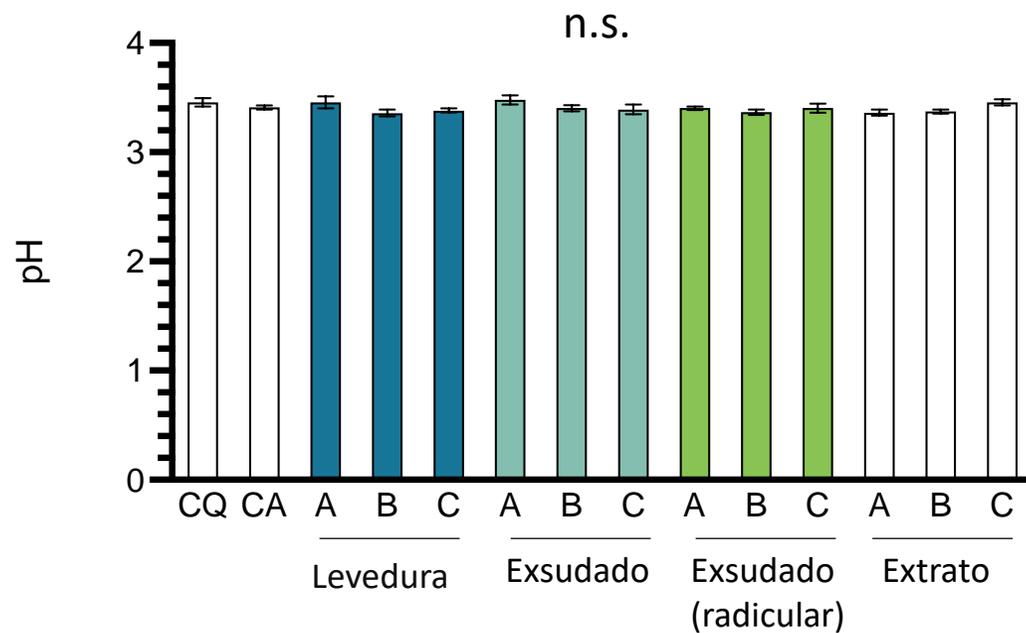


## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Primeiros Resultados

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ pH e acidez titulável

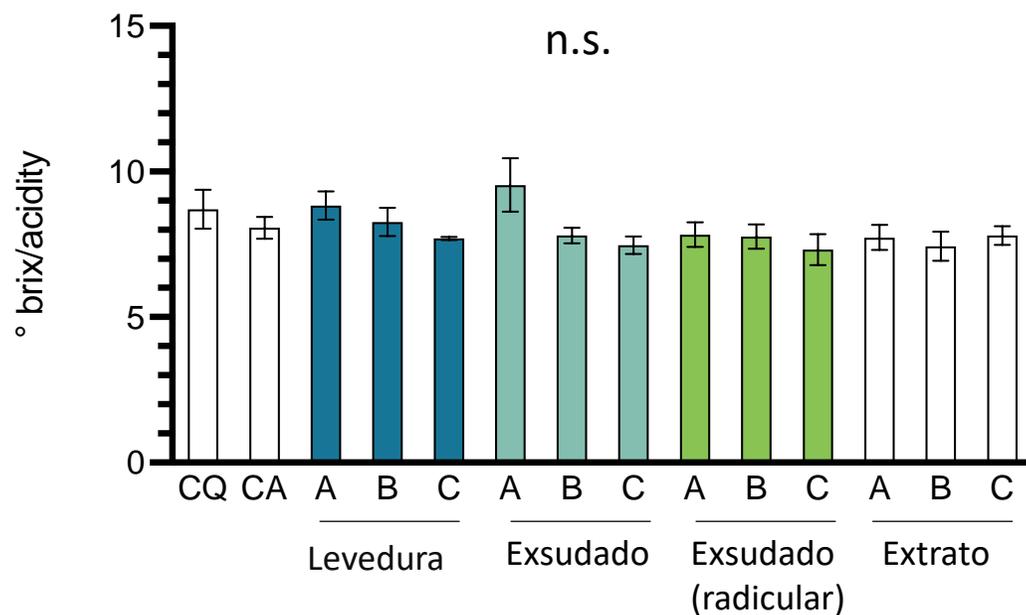


## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

*Primeiros Resultados*

### 3. Impacto na qualidade dos frutos

#### ➤ Rácio grau brix/acidez titulável



## Tarefa 2.1 Desenvolvimento de protocolo para aplicação dos ABCs

### Conclusões preliminares

- **Levedura A:** independentemente da formulação aplicada, é a menos promissora no que diz respeito ao controlo da podridão cinzenta, quer de forma preventiva quer curativa;
- **Levedura B:** demonstrou ser muito promissora quando aplicada sob as formulações **Exsudado e Extrato**.
- **Levedura C:** demonstrou ser altamente promissora quando aplicada sob a forma de **Exsudado**.
- A formulação 'líquida' e 'exsudado radicular' revelaram menor eficácia na redução da podridão cinzenta.
- Nenhum dos tratamentos afetou negativamente a qualidade dos frutos.

## Tarefas em curso após seleção das 3 formulações com maior eficácia...

Levedura B - Exsudado  
Levedura C - Exsudado  
Levedura B + C - Exsudado

### Tarefa 2.2

Aplicação tratamentos em **3 cvs. de morango** (FCUP) e **3 cvs. De framboesa** (INIAV)

### Tarefa 2.3

**Monitorização de doenças fúngicas** ao longo do ciclo produtivo

Avaliação do impacto dos tratamentos na **produtividade e qualidade**

### Tarefa 2.4

Compreensão dos **mecanismos subjacentes à prevenção da doença** (análises bioquímicas e moleculares)

# Ensaio em curso...

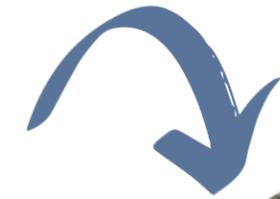


Campus de Vairão  
(Vila do Conde)

## Ensaio em morangueiro



## Ensaio em framboesa



Herdade da Fataca  
(Odemira)

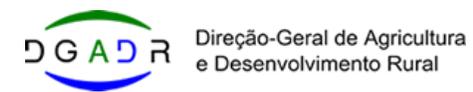


Apareçam esta tarde na  
**Visita aos  
campos de  
ensaio** - PROJETO BFREE

# Grata pela vossa atenção!



PAM OP, Lda.  
Madrefruta  
HT&HF  
Beirabaga  
Berrysmart  
Sociedade Agrícola dos Sirfideos Lda.  
Frescura Sublime, Unipessoal, Lda  
Miguel Mesquita & Hugo Seca, Lda.  
Orientesplendor  
Pontorizonte



**Faculty of Sciences of University of Porto**

**Campus Vairão**

GreenUPorto – Reseach Centre for  
Sustainable Agrifood Production

Rua da Agrária, 747

4485-646 Vairão

Portugal

**T.+351 252 660 400**

**[www.fc.up.pt/GreenUPorto/en/](http://www.fc.up.pt/GreenUPorto/en/)**

**[susana.carvalho@fc.up.pt](mailto:susana.carvalho@fc.up.pt)**