

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Efeito da rega e da aplicação de bioestimulantes em pré-colheita no comportamento fisiológico e produtivo do morangueiro (*Fragaria × ananassa* Duch.) e na qualidade dos frutos

Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica

João Pedro Gomes Rodrigues

Orientadora: Professora Doutora Berta Maria de Carvalho Gonçalves Macedo

Coorientadora: Doutora Sandra Isabel Ribeiro Pereira



Vila Real, 2022

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Efeito da rega e da aplicação de bioestimulantes em pré-colheita no comportamento fisiológico e produtivo do morangueiro (*Fragaria × ananassa* Duch.) e na qualidade dos frutos

Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica

João Pedro Gomes Rodrigues

Orientadora: Professora Doutora Berta Maria de Carvalho Gonçalves Macedo

Coorientadora: Doutora Sandra Isabel Ribeiro Pereira

Composição do júri:

- Doutora Guilhermina Miguel da Silva Marques (Presidente)
- Doutor Carlos Jorge de Oliveira Ribeiro (Vogal)
- Doutor Alfredo Augusto de Carvalho Aires (Vogal)
- Doutora Berta Maria de Carvalho Gonçalves Macedo (Vogal)

Vila Real, 2022

“As doutrinas apresentadas neste trabalho são
da exclusiva responsabilidade do autor”

“(...) Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes (...)”.

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Chegada a conclusão do meu Mestrado em Engenharia Agronómica, devo salientar que a pessoa em que me tornei não dependeu apenas de mim, deveu-se muito às pessoas que me acompanharam, me apoiaram e dispensaram um pouco do seu tempo para me ensinar e partilhar o seu conhecimento. Assim, gostaria de prestar os meus sinceros agradecimentos:

Ao Reitor da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro pelas oportunidades concedidas.

À Coordenação de Curso, por todo o apoio nesta etapa final do mestrado.

À Professora Doutora Berta Gonçalves por ter aceite ser minha Orientadora e pela disponibilidade, ensinamentos e sugestões, tornando possível a realização e desenvolvimento deste estudo.

À Doutora Sandra Pereira por ter aceite a minha Coorientação, pela disponibilidade, entreajuda, simpatia e acima de tudo paciência, confiança e amizade.

Ao Professor Doutor Carlos Ribeiro, pela disponibilização de condições e equipamentos laboratoriais importantes para este trabalho.

À Dra. Helena Ferreira, técnica do laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo apoio, paciência e compreensão na realização deste trabalho.

E acima de tudo, aos meus pais por me proporcionarem esta oportunidade durante estes dois anos e à minha irmã por fornecer uma palavra amiga e o seu conhecimento nos momentos mais difíceis. A toda a minha família, por todo o apoio prestado.

A todos os meus amigos, pelo apoio, compreensão, alento e carinho e, não menos importante, pelos momentos académicos vividos que nos fizeram crescer a todos os níveis.

O meu profundo agradecimento a todos os que tornaram este estágio possível e me permitiram alcançar os objetivos que sem eles seriam mais difíceis.

Resumo

O morangueiro (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) é produzido em várias regiões do Mundo, apresentando uma maior predominância nas regiões temperadas do Hemisfério Norte. Em Portugal, a região do Ribatejo e Oeste representa cerca de 50 a 60% da área de produção nacional. Esta cultura adapta-se a vários tipos de clima, preferindo solos bem drenados e ricos em matéria orgânica, sendo muito sensível à salinidade e ao encharcamento. A aplicação de bioestimulantes pode ser uma estratégia para a melhoria da performance da planta, bem como para a melhoria da qualidade dos frutos tão apreciados pelos consumidores.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do regime de rega e da aplicação, em pré-colheita, de dois bioestimulantes à base de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*), com a designação N19-67 (0,4%) e N19-68 (0,2%), no crescimento/desenvolvimento e produtividade da planta de morangueiro da cultivar “Diamante”, bem como na qualidade do fruto. O ensaio foi realizado na Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (latitude 41°17' N, longitude 7°44' W, altitude 465 m), sendo conduzido em vasos, numa câmara de crescimento. O tratamento consistiu na aplicação foliar dos bioestimulantes de 15 em 15 dias durante todo o período vegetativo e produtivo. Ao longo do ensaio, foram avaliados vários parâmetros fisiológicos nas folhas dos morangueiros, tais como as trocas gasosas, fuga de eletrólitos, conteúdo relativo em água, pigmentos fotossintéticos, compostos fenólicos, atividade antioxidante, açúcares e amido. Em relação aos frutos foram determinados parâmetros de rotina e qualidade, nomeadamente, características biométricas, teor em sólidos solúveis totais, pH e acidez titulável. No final do ensaio realizou-se a análise de crescimento das plantas e avaliou-se a sua produtividade.

De um modo geral, os resultados obtidos neste estudo, apesar de não apresentarem diferenças significativas, revelaram potenciais benefícios da aplicação de bioestimulantes no aumento da produção e na resposta das plantas em condições de défice hídrico, com efeitos positivos nas trocas gasosas, na fuga de eletrólitos, no conteúdo relativo em água, no teor de pigmentos fotossintéticos, na concentração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Por outro lado, o fator responsável pelas diferenças observadas nos parâmetros qualitativos dos frutos e na concentração de açúcares solúveis e de amido foi, essencialmente, o regime de rega aplicado.

Palavras-Chave: Morangueiro; *Ascophyllum nodosum*; regime de rega; análise foliar; qualidade dos frutos

Abstract

The strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) is produced in various regions of the world, with a greater predominance in temperate regions of the Northern Hemisphere. In Portugal, the region of Ribatejo and West represents about 50 to 60% of the national production area. This crop adapts to various types of climates, preferring well drained and rich in organic matter soils, and is very sensitive to salinity and waterlogging. Having these characteristics in consideration, the application of biostimulants can be a strategy to improve plant performance as well as the fruit quality so appreciated by consumers.

Therefore, the main objective was to study the effect of the watering regime and the pre-harvest application of two seaweed-based biostimulants (*Ascophyllum nodosum*), with the designation N19-67 (0.4%) and N19-68 (0.2%), focused on the growth, productivity and fruit quality of the strawberry plant of the "Diamante" cultivar. The study was conducted at the University of Trás-os-Montes e Alto Douro (latitude 41°17' N, longitude 7°44' W, altitude 465 m), and it has occurred in pot at a growth chamber with foliar application of biostimulants every 15 days throughout the vegetative and productive period. Several physiological parameters were evaluated in strawberry leaves, such as gas exchange, electrolyte leakage, relative water content, photosynthetic pigments, phenolic compounds, antioxidant activity, sugars and starch. Besides, were also determined biometric characteristics, content in total soluble solids, pH and acidity at fruit level. At the end of the study, the plant growth analysis was performed and productivity was evaluated.

Although the results obtained in this study were not statistically significant, it was possible to observe potential benefits of the application of biostimulants in several parameters such as: increase of production, and in the response of plants under water deficit conditions, with positive effects on gas exchange, electrolyte leakage, relative water content, photosynthetic pigment content and phenolic compound contents and antioxidant activity. On the other hand, the water regime was the main factor responsible for the differences observed in the quality parameters of the fruit and in the concentration of soluble sugars and starch.

Keywords: Strawberry; *Ascophyllum nodosum*; watering regime; foliar analysis; fruit quality

Índice Geral

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Índice de Figuras.....	x
Índice de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas.....	xii
1. Revisão bibliográfica.....	1
1.1. O morangueiro.....	1
1.1.1. Produção de morango no mundo.....	1
1.1.2. Taxonomia.....	1
1.1.3. Morfologia.....	2
1.1.4. Fisiologia.....	4
1.1.4.1. Classificação genérica das cultivares.....	5
1.1.5. Exigências edafo-climáticas.....	6
1.1.5.1. Clima.....	6
1.1.5.2. Solo.....	7
1.1.6. Qualidade do morango.....	7
1.1.6.1. Composição química e nutricional.....	8
1.2. Tecnologia de cultivo.....	10
1.2.1. Necessidades hídricas.....	10
1.2.2. Fertilização.....	10
1.2.3. Manutenção.....	11
1.2.4. Colheita.....	12
1.2.5. Cultura do morangueiro em substrato.....	12
1.2.5.1. Características dos substratos.....	13
1.2.5.2. Exemplos de materiais utilizados em substratos.....	14
1.2.5.2.1. Turfa.....	14
1.2.5.2.2. Fibra de coco.....	14
1.2.5.2.3. Perlite.....	15
1.3. Bioestimulantes e a agricultura.....	16
1.3.1. Extratos de algas.....	17
2. Material e métodos.....	19
2.1. Caracterização do local do ensaio.....	19
2.2. Material vegetal.....	19
2.3. Delineamento experimental.....	20
2.4. Registo da evolução fenológica.....	21
2.5. Análise de crescimento.....	22
2.6. Atributos de qualidade dos frutos.....	22

2.6.1. Biometria	22
2.6.2. Sólidos solúveis totais (°Brix), pH e acidez titulável	22
2.7. Análise foliar	22
2.7.1. Trocas gasosas	22
2.7.2. Fuga de eletrólitos	23
2.7.3. Conteúdo relativo em água.....	23
2.7.4. Pigmentos fotossintéticos e metabolitos foliares.....	24
2.7.4.1. Pigmentos fotossintéticos.....	24
2.7.4.2. Compostos fenólicos totais	25
2.7.4.3. Atividade antioxidante	25
2.7.4.4. Açúcares solúveis.....	26
2.7.4.5. Amido.....	26
2.8. Análise estatística.....	27
3. Resultados e discussão	28
3.1. Evolução fenológica.....	28
3.2. Análise de crescimento	31
3.3. Qualidade dos frutos	35
3.3.1. Biometria	35
3.3.2. Sólidos solúveis totais (°Brix), pH e acidez titulável	36
3.4. Análise foliar.....	38
3.4.1. Trocas gasosas.....	38
3.4.2. Fuga de eletrólitos	43
3.4.3. Conteúdo relativo em água.....	44
3.4.4. Pigmentos fotossintéticos e metabolitos foliares.....	45
3.4.4.1. Pigmentos fotossintéticos.....	45
3.4.4.2. Compostos fenólicos totais	47
3.4.4.2.1. Atividade antioxidante.....	48
3.4.4.3. Açúcares solúveis e amido	51
4. Conclusão.....	54
5. Referências bibliográficas	55
6. Anexo.....	62

Índice de Figuras

Figura 1. Produção mundial de morango (em toneladas), em 2019.....	1
Figura 2. Representação da morfologia da planta de morangueiro.....	3
Figura 3. Classificação das cultivares de morangueiro de acordo com o fotoperíodo (DC- cultivares de dias curtos; DL- cultivares de dias longos; ID- cultivares indiferentes ao fotoperíodo).....	6
Figura 4. Exemplo de utilização de dois materiais (turfa e perlite) como substrato.	16
Figura 5. Exemplo de algas (A- <i>Corallina mediterranea</i> ; B- <i>Enteromorpha intestinalis</i> ; C- <i>Ascophyllum nodosum</i>) utilizadas como bioestimulantes.	18
Figura 6. Bioestimulantes à base de algas marinhas utilizados: (1) N19-67 - liquid alkaline of <i>Ascophyllum nodosum</i> extract e (2) N19-68 - microgranular soluble powder of <i>Ascophyllum nodosum</i> extract.....	20
Figura 7. Calendarização das operações realizadas ao longo do ensaio.	21
Figura 8. Registo fotográfico do crescimento das plantas de morangueiro: (a) formação das folhas; (b) folhas adultas; (c) floração; (d) formação dos frutos e (e) fruto maduro.....	21
Figura 9. Número total de folhas (A-C), flores (D-F) e frutos (G-I) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68), desde o dia 29 de abril até ao dia 7 de julho. (t1 - 1ª aplicação; t2 – 2ª aplicação; t3 – 3ª aplicação; t4 – 4ª aplicação; t5 – 5ª aplicação; t6 – 6ª aplicação).	30
Figura 10. Fuga de eletrólitos (%) avaliada em folha de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).....	44
Figura 11. Conteúdo relativo em água (%) nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).....	45
Figura 12. Teor em compostos fenólicos totais nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).....	48
Figura 13. Atividade antioxidante nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).....	49
Figura 14. Teor de açúcares solúveis nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).....	51
Figura 15. Teor de amido nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	53

Índice de Tabelas

Tabela 1. Exigências térmicas da cultura do morangueiro.....	7
Tabela 2. Composição nutricional do morango. Valores expressos em unidades por 100g de parte edível.	10
Tabela 3. Descrição dos valores diários da temperatura, humidade relativa e radiação na câmara de crescimento durante todo o ensaio (abril a setembro de 2021).	19
Tabela 4. Análise de crescimento (comprimento e biomassa da raiz, comprimento e biomassa da parte aérea e razão de área foliar (RAF)) efetuada no final do ensaio, em plantas de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	34
Tabela 5. Parâmetros biométricos (peso fresco, altura, diâmetro menor (Dm) e diâmetro maior (DM)) dos frutos de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	36
Tabela 6. Parâmetros químicos (Sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez titulável (AT)) dos frutos de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	38
Tabela 7. Trocas gasosas foliares (E- taxa de transpiração, gs- condutância estomática, Ci- concentração do CO ₂ intercelular, A- taxa fotossintética, A/gs- eficiência intrínseca do uso da água) avaliadas em folha de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	42
Tabela 8. Concentrações de pigmentos fotossintéticos nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%; 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).	47

Lista de Abreviaturas

A- taxa fotossintética

AT- acidez titulável

Carot_{totais}- carotenoides totais

CC- capacidade de campo

CE- condutividade elétrica

C_i- concentração de CO₂ intercelular

cl- clorofila

cvs- cultivares

DC- cultivares de dias curtos

DL- cultivares de dias longos

Dm- diâmetro menor

DM- diâmetro maior

DP- desvio padrão

DPPH- 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo

dS- decisiemens

E- taxa de transpiração

g_s- condutância estomática para o vapor de água

ID- cultivares indiferentes ao fotoperíodo

PF- peso fresco

PS- peso seco

PT- peso túrgido

RAF- razão de área foliar

RR- regime de rega

RWC- Conteúdo relativo em água

SST- sólidos solúveis totais

1. Revisão bibliográfica

1.1. O morangueiro

1.1.1. Produção de morango no mundo

A produção mundial de morango tem vindo a aumentar ligeiramente nos últimos anos. Em 2019 (Figura 1), foram produzidas mundialmente cerca de 8,9 milhões de toneladas de morango contribuindo para tal o continente asiático com cerca de metade da produção mundial (4,2 milhões de toneladas), sendo a China o país com maior produção (3,2 milhões de toneladas). No mesmo ano, a produção de morango na América ultrapassou os 2 milhões de toneladas, enquanto que a Europa produziu pouco mais de 1,7 milhões de toneladas. Por outro lado, tanto a Oceânia como a África apresentaram produções pouco significativas de morango nesse ano (FAO, 2021).

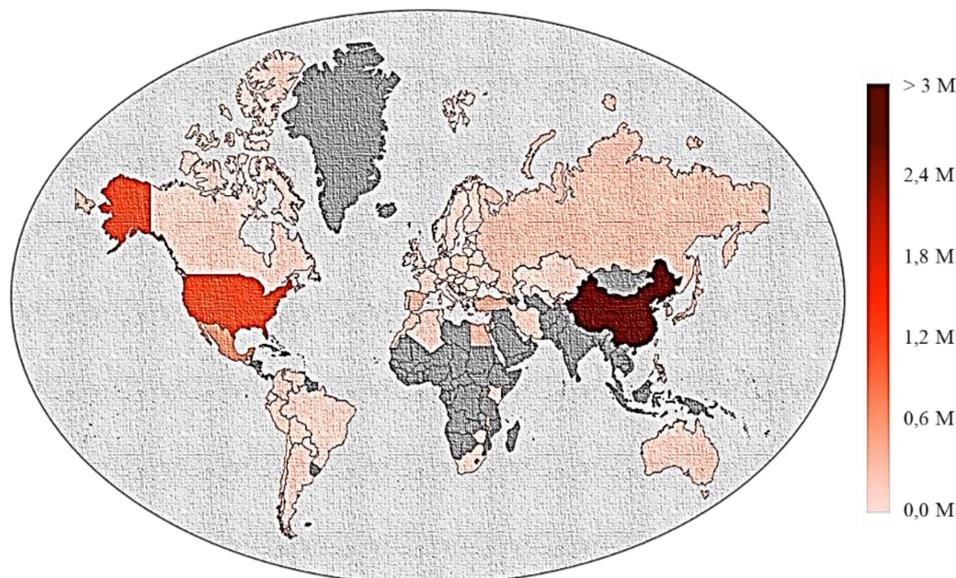


Figura 1. Produção mundial de morango (em toneladas), em 2019 (Adaptado de: <https://www.atlasbig.com/en-ie/countries-by-strawberry-production>).

1.1.2. Taxonomia

O morangueiro pertence ao reino *Plantae*, da divisão Magnoliophyta, da classe Magnoliopsida e da ordem *Rosales*. Esta planta pertence à família *Rosaceae*, sendo que o género *Fragaria* inclui cerca de 40 espécies dentro da mesma família (Almeida, 2006; UTAD Jardim Botânico, 2021). A maioria dos morangos cultivados pertencem à espécie *Fragaria* × *ananassa*, resultante do cruzamento natural das espécies *F. chiloensis* e *F. virginiana* (Almeida, 2006).

1.1.3. Morfologia

O morangueiro (Figura 2) é uma planta herbácea de pequeno porte onde as raízes têm origem nas coroas sob forma de um sistema fasciculado e superficial, crescendo, principalmente, nas épocas de dias curtos (<12 horas de luz) (Palha *et al.*, 2005; Bortolozzo *et al.*, 2007). O seu sistema radicular é constituído por raízes laterais longas e fibrosas que se dividem em primárias e secundárias (Palha *et al.*, 2005). As raízes primárias são grandes e perenes, possibilitando a acumulação de reservas, sob a forma de amido durante o Inverno e contribuindo também para absorção de água e nutrientes (Pires *et al.*, 2000; Almeida, 2006; Lisboa, 2017).

Cerca de 50 a 90% das raízes localizam-se nos primeiros 15 a 20 cm do solo, sendo que, destas, 25 a 50% localizam-se nos primeiros 7,5 cm. No entanto, as raízes do morangueiro podem atingir 50 a 60 cm de profundidade (Pires *et al.*, 1999; Palha *et al.*, 2005). As raízes do morangueiro renovam-se continuamente durante o seu ciclo, sendo este processo de grande importância para a sobrevivência da planta. A sua reposição radicular pode ser influenciada, por exemplo, pela disponibilidade de água, translocação de fotoassimilados, humidade, respiração e resistência mecânica ou pelo solo que as circunda assim como pela sua fertilidade (Pires *et al.*, 2000; Antunes *et al.*, 2016).

O caule do morangueiro é um rizoma estolhoso, curto, com formato cilíndrico e retorcido que se ramifica, do qual emergem folhas trifoliadas (em roseta), formando o que se designa por “coroa”. No entanto, o morangueiro é constituído por uma ou mais “coroas” onde crescem, em cada uma delas, folhas, inflorescências, coroas ramificadas, raízes adventícias e estolhos, dos quais surgem as novas plantas (Palha *et al.*, 2005; Almeida, 2006).

Os estolhos são ramos especializados dotados de meristemas apicais caulinares que os difere de um ramo-coroa (Palha *et al.*, 2005; Antunes *et al.*, 2016). Durante a fase vegetativa, estes ramos permitem a multiplicação da planta dando origem a novas plantas, ou seja, sucessivamente, sempre que se formar uma nova planta esta irá emitir outro estolho que, por sua vez, dará origem a outra planta. Os estolhos desenvolvem-se de forma intensa após a frutificação e durante todo o verão (Antunes *et al.*, 2016).

As folhas do morangueiro são trifoliadas, com pecíolo longo e estípulas na base e apresentam folíolos dentados, de cor verde escuro na face superior e acinzentada e pilosa na face inferior (Almeida, 2006; Bortolozzo *et al.*, 2007). Para além disto, estas folhas contêm

entre 300 a 400 estomas mm^{-2} , o que faz com que a cultura seja muito sensível à falta de água, baixa umidade relativa, alta temperatura e intensidade e duração da luz (Bortolozzo *et al.*, 2007). Cada folha vive normalmente entre um a três meses, sendo que a taxa de emergência das folhas é maior na Primavera e Verão do que no Outono pois esse processo depende, essencialmente, da temperatura (Palha *et al.*, 2005).

As inflorescências formam-se a partir dos gomos existentes nas axilas das folhas e dão origem a flores hermafroditas e hemicíclicas. Estas possuem geralmente cinco sépalas e cinco pétalas livres, lobuladas, brancas ou avermelhadas, dispostas ao redor do receptáculo proeminente, assim como estames que podem apresentar anteras férteis ou estéreis (Palha *et al.*, 2005; Bortolozzo *et al.*, 2007; Antunes *et al.*, 2016). Para além disto, a flor do morangueiro apresenta numerosos pistilos dispostos em forma de espiral com um ovário com apenas um óvulo (Palha *et al.*, 2005; Bortolozzo *et al.*, 2007). A fecundação dos óvulos é feita pelo pólen da mesma flor ou de flores da mesma ou de plantas diferentes, ou seja, a polinização no morangueiro pode ser alogâmica e/ou entomófila, sendo que cerca de 80% desta é cruzada (Palha *et al.*, 2005; Almeida, 2006; Antunes *et al.*, 2016). Assim, como resultado da fecundação desenvolvem-se frutos que, na realidade, são pseudofrutos ou “frutos falsos”, constituídos por um receptáculo carnudo sobre o qual se encontram os verdadeiros frutos – os aquênios, chamados de sementes (Miranda e Fernandes, 2001). Desta forma, designa-se por morango o conjunto constituído pelo receptáculo e os aquênios (Palha *et al.*, 2005).

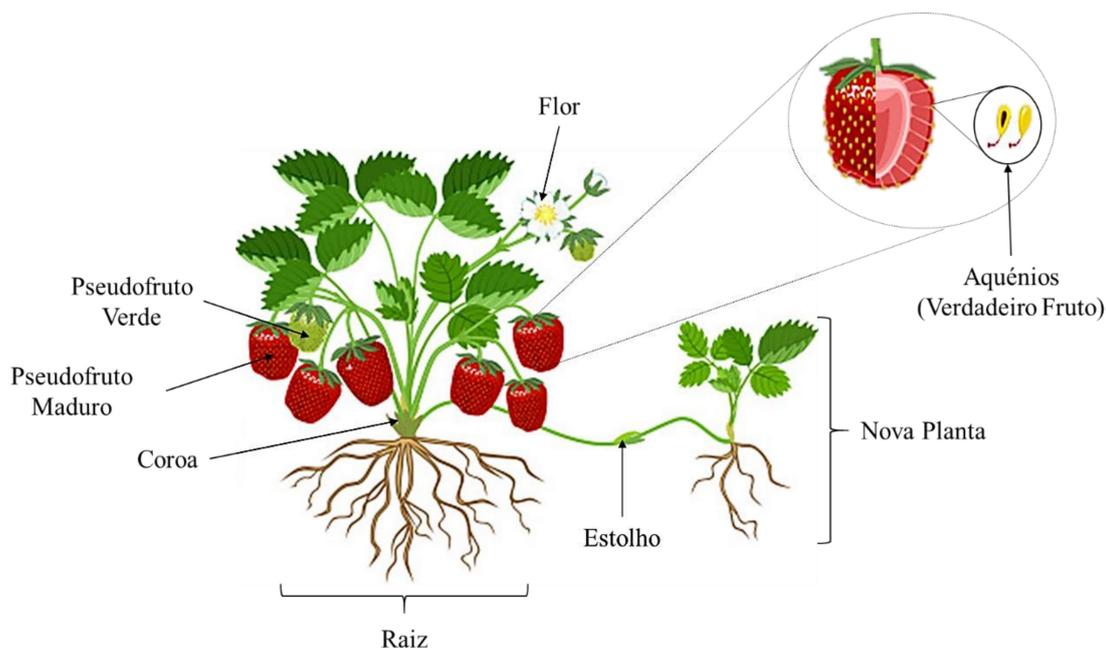


Figura 2. Representação da morfologia da planta de morangueiro.

1.1.4. Fisiologia

O desenvolvimento do morangueiro depende da evolução dos gomos terminal e axilares, que evoluem de uma forma dependente entre si (Palha *et al.*, 2005). No entanto, o desenvolvimento dos gomos axilares é regulado pela dominância apical de modo que, os primeiros gomos a desenvolverem-se são os gomos axilares basais (Phillips, 1975).

A transformação de um gomo no morangueiro depende do estado em que se encontra o meristema. Este pode encontrar-se na fase vegetativa, fase reprodutiva e fase de dormência (Palha *et al.*, 2005). Na fase vegetativa, os meristemas apicais, através de processos de multiplicação e diferenciação celular, determinam os pontos de crescimento vegetativo levando à formação dos diferentes tecidos e órgãos vegetativos (folhas, caule e estolhos). Na fase reprodutiva ocorre a diferenciação do meristema vegetativo para o floral, originando os componentes da flor (pétalas, estames e pistilo) (Duarte *et al.*, 1999). Na fase de dormência o meristema encontra-se dormente, não ocorrendo evolução do gomo (Palha *et al.*, 2005).

Em condições naturais, o controlo do crescimento e do desenvolvimento do morangueiro é realizado, essencialmente, pela ação do fotoperíodo e da temperatura. Desta forma, o morangueiro desenvolve-se consoante as épocas do ano, apresentando um ciclo fisiológico anual caracterizado por períodos de crescimento vegetativo, reprodutivo e de dormência (Mendonça, 1998). Na fase vegetativa a temperatura ótima para o desenvolvimento do sistema radicular do morangueiro varia entre os 17 e os 30°C, sendo que temperaturas acima dos 30°C prejudicam a sua formação (Risser *et al.*, 1997). No outono, as temperaturas abaixo dos 15°C são favoráveis à acumulação de reservas nas raízes e no rizoma (Palha *et al.*, 2005). A formação de estolhos é estimulada, essencialmente, por temperaturas elevadas e dias longos (Heide, 1977). Quando as condições ambientais são desfavoráveis à diferenciação dos estolhos, os gomos transformam-se em novas coroas. Em cultivares de dias curtos, quando os dias ainda são demasiado curtos para a formação de estolhos, a ramificação das coroas ocorre antes da formação de estolhos. As condições favoráveis para o desenvolvimento das folhas são os dias longos e as temperaturas crescentes, enquanto que a temperatura ótima para o crescimento das folhas situa-se entre os 18 e os 28°C (Palha *et al.*, 2005).

Na fase reprodutiva, a iniciação floral dá-se através de mudanças físicas e químicas no meristema. Aquando da transição para a floração, o ápice do sistema caulinar vegetativo é transformado em reprodutivo, através da diminuição da produção de giberelinas. Quando ocorre

o desenvolvimento dos órgãos florais numa inflorescência, dá-se a diferenciação floral, sendo esta fase que determina o número de flores por inflorescência e, conseqüentemente, o número de frutos. Nesta fase, o fotoperíodo é o principal fator ambiental que controla a transição do crescimento vegetativo para o reprodutivo (Guérineau *et al.*, 2003).

A fase de dormência do morangueiro ocorre durante o Outono/Inverno, sob influência de dias curtos e temperaturas baixas. Neste período, devido principalmente a fatores ambientais desfavoráveis (dormência imposta ou ecodormência), o crescimento da planta abranda, pois ocorre a diminuição da taxa de iniciação floral, de ramificação de coroas e de produção de folhas (Lang, 1987). As necessidades em frio para a quebra de dormência variam de cultivar para cultivar. No entanto, se estas necessidades não forem satisfeitas, a planta do morangueiro dormente apresenta um vigor vegetativo muito baixo (verdadeira dormência ou endodormência). Para quebrar a dormência, a planta necessita de estar exposta a um determinado número (250-1500, dependendo da cultivar) de horas de frio (temperatura inferior a 7°C), as quais permitem o recomeço do crescimento vegetativo, da floração e da frutificação da planta. Por outro lado, as “plantas frigo” têm as necessidades em frio completamente satisfeitas, uma vez que permanecem em câmaras frigoríficas (-2,2°C) durante vários meses, após o seu arranque nos viveiros (Palha *et al.*, 2005).

1.1.4.1. Classificação genérica das cultivares

As cultivares (cvs.) de morangueiro são muito sensíveis às diversas condições ambientais (Figura 3). Tendo em conta que a sua floração depende essencialmente do fotoperíodo e da temperatura, os diferentes tipos de cvs. têm por base a resposta da planta ao fotoperíodo, à temperatura e à interação entre estes dois fatores, podendo classificar-se em: 1) cultivares de dias curtos (DC); 2) cultivares de dias longos (DL); 3) cultivares indiferentes ao fotoperíodo (ID) (Palha *et al.*, 2005; Lisboa, 2017).

1) Cultivares de dias curtos (DC): a iniciação floral ocorre durante fotoperíodos <12h ou temperaturas inferiores a 15°C mesmo em condições de dias longos (cultivares facultativas) (Palha *et al.*, 2005; Lopes e Simões, 2006). A maioria destas cultivares floresce mais do que uma vez e produzem várias vezes ao ano (remontantes), sendo poucas as que produzem frutos uma só vez ao ano (não remontantes) (Palha *et al.*, 2005). As cultivares Camarosa, Fortuna e Ventana são alguns exemplos deste tipo de classificação.

2) Cultivares de dias longos (DL): são remontantes e a iniciação floral ocorre pela ação de dias longos (12h ou mais de luz), frutificando entre a primavera e o outono (Palha *et al.*, 2005).

3) Cultivares indiferentes ao fotoperíodo (ID): não são afetadas pela duração do dia, podendo iniciar a floração em qualquer altura do ano (remontantes), exceto com temperaturas acima de 30°C (Palha *et al.*, 2005; Lisboa, 2017). Estas cultivares são bastante flexíveis, visto que em condições climáticas favoráveis, frutificam, aproximadamente, 3 meses após a plantação. No entanto, tanto as altas como as baixas temperaturas provocam um abrandamento ou mesmo uma paragem da diferenciação floral, resultando em quebras de produção ao longo do ciclo (Palha *et al.*, 2005). Alguns exemplos de cultivares remontantes são a Diamante, a Portola e a Albion.

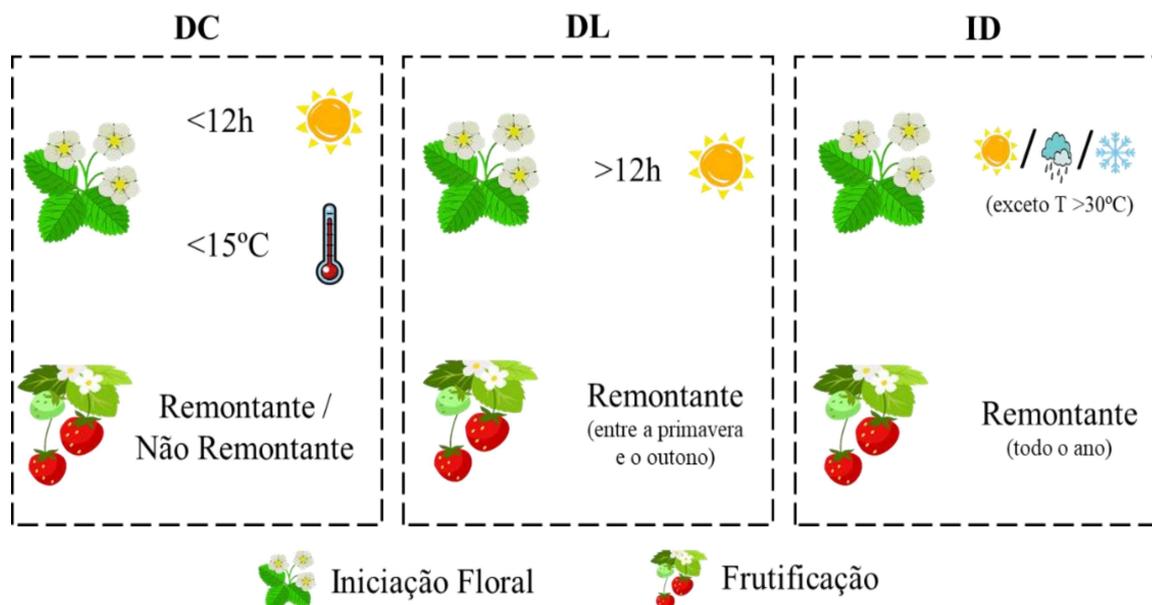


Figura 3. Classificação das cultivares de morangueiro de acordo com o fotoperíodo (DC- cultivares de dias curtos; DL- cultivares de dias longos; ID- cultivares indiferentes ao fotoperíodo).

1.1.5. Exigências edafo-climáticas

1.1.5.1. Clima

A planta do morangueiro, apesar de preferir climas frescos, adapta-se a diversos climas, sendo que a sua produção centra-se, maioritariamente, em climas temperados e mediterrânicos (Palha *et al.*, 2005; Almeida, 2006). Os órgãos vegetativos do morangueiro suportam temperaturas negativas (-10 a -15°C), sendo por isso resistentes à geada. Por outro lado, as suas flores são muito sensíveis e podem ser destruídas a temperaturas inferiores a 0°C.

O morangueiro prefere humidade relativa na ordem dos 70 a 80% durante a floração e é uma cultura que apresenta uma temperatura ótima de crescimento de 23°C (Tabela 1) (Almeida, 2006).

Tabela 1. Exigências térmicas da cultura do morangueiro (adaptado de Almeida, 2006).

Temperatura (°C)	
<i>Sistema radicular</i>	
Mínima	10
Ótima	17-30
Máxima	31
<i>Vegetação</i>	
Mínima	5
Ótima	18-28
Ótima p/ maturação	18-27 dia; 10-13 noite
Máxima	35
<i>Vernalização</i>	< 7
<i>Humidade Relativa</i>	70-80 %

1.1.5.2. Solo

Relativamente ao solo, o morangueiro tem preferência por solos francos (franco-arenosos, franco-argilosos e franco-argilo-arenosos) bem estruturados, drenados, arejados, com boa capacidade de retenção de água e ricos em matéria orgânica. Para além disso, os solos devem ser ligeiramente ácidos com valores de pH situados entre 6 e 6,5. O morangueiro é das culturas hortícolas mais sensíveis à salinidade (solo e água de rega) e ao encharcamento, que em solos compactos pode provocar asfixia radicular, uma vez que o seu sistema radicular se encontra nas camadas mais superficiais do solo (Miranda e Fernandes, 2001; Palha *et al.*, 2005).

1.1.6. Qualidade do morango

A qualidade dos alimentos pode ser definida como um conjunto de propriedades e características (extrínsecas e intrínsecas) que diferenciam as unidades individuais de um produto e estabelecem o grau de aceitabilidade e o nível de satisfação por parte do produtor e do consumidor (Palha *et al.*, 2005; Chauhan *et al.*, 2017). Por norma, o produtor pretende obter alimentos com boa aparência e com o mínimo de defeitos visuais enquanto que, o consumidor

dá muita importância às propriedades sensoriais e nutricionais dos alimentos (Atherton e Rudich, 1986; Abbott, 1999).

Na qualidade dos produtos frescos, como os frutos, está incluída a aparência (tamanho, forma, cor e ausência de defeitos), a textura (firmeza e crocância), o sabor (doçura, acidez e aroma) e o valor nutritivo (vitaminas, minerais, nutrientes e hidratos de carbono) (Cheng *et al.*, 2016). Os frutos são uma parte importante para o bem-estar humano, pois fornecem variados nutrientes essenciais à sua saúde (Charles e Arul, 2007). Por serem alimentos altamente perecíveis vão sofrendo diversas alterações físico-químicas e fisiológicas, provocadas pelos processos naturais que ocorrem durante o seu crescimento, maturação, colheita, armazenamento e no período pós-colheita (Charles e Arul, 2007; Mizrach, 2008). Por conseguinte, os morangos, para além das características genéticas de cada cultivar, estão sujeitos a vários fatores que comprometem a sua qualidade global e as suas propriedades bioativas, tais como as práticas agrícolas, a região de produção, as condições edafo-climáticas e a conservação pós-colheita (Palha *et al.*, 2005; Ganhão *et al.*, 2019).

A qualidade dos morangos depende principalmente da sua firmeza, aparência (cor e características biométricas) e composição química. A firmeza determina as propriedades mecânicas dos morangos estando também envolvida na qualidade sensorial dos mesmos. Por outro lado, a cor é provavelmente o atributo mais importante na aparência do morango, podendo afetar a aceitação do consumidor. No entanto, é possível constatar que, geralmente, o perfil químico do morango apresenta um papel relevante na qualidade do fruto. Exemplo disso são as antocianinas que, para além de estarem envolvidas na cor do morango, exercem também ações de proteção contra várias doenças no ser humano, juntamente com outros compostos fenólicos (Ornelas-Paz *et al.*, 2013). Para além destes, o morango apresenta, na sua composição química, vários micronutrientes e fitoquímicos igualmente importantes e relevantes (Giampieri *et al.*, 2012).

1.1.6.1. Composição química e nutricional

De acordo com o seu perfil nutricional, o morango representa uma escolha alimentar saudável. Este fruto caracteriza-se por ser saciante e suculento, apresentando um sabor refrescante devido ao seu elevado teor em água (Giampieri *et al.*, 2012; Wysocki *et al.*, 2012). Para além do sabor e cor atrativos, o morango apresenta baixo teor calórico, sendo também uma boa fonte de hidratos de carbono (açúcares facilmente assimiláveis), vitaminas (A, B1, B2 e C),

minerais, pectinas, fibras e compostos antioxidantes, na sua maioria polifenóis (flavonoides) (Cordenunsi *et al.*, 2002; Giampieri *et al.*, 2012; Wysocki *et al.*, 2012). Dos componentes químicos dos morangos, os açúcares têm uma particular importância, uma vez que influenciam o seu sabor e valor calórico (Ornelas-Paz *et al.*, 2013). Neste fruto, a glucose e a frutose são predominantes sobre a sacarose, sendo responsáveis por quase 99% do teor total de açúcar (Cordenunsi *et al.*, 2002). Este teor pode variar ligeiramente durante o período de crescimento do morango, o qual está dependente da cultivar, das condições edafo-climáticas e de vários fatores (rega e fertilização) que ocorrem durante a sua maturação (Cordenunsi *et al.*, 2002; Wysocki *et al.*, 2012).

O conteúdo de ácidos orgânicos é outro indicador muito importante que afeta o sabor, a textura, o pH e a cor dos morangos, influenciando tanto o seu valor de consumo como de processamento. O teor de ácidos orgânicos nos morangos não costuma exceder os 3%, sendo que os mais importantes incluem o ácido cítrico, ácido málico e ácido ascórbico (Cordenunsi *et al.*, 2002; Wysocki *et al.*, 2012; Ornelas-Paz *et al.*, 2013). Por outro lado, embora em menor quantidade, este fruto é também uma fonte de várias outras vitaminas, tais como a tiamina, a riboflavina, a niacina, a vitamina B6, a vitamina K, a vitamina A e a vitamina E (Giampieri *et al.*, 2012).

Os morangos contêm fitoquímicos polifenólicos (componentes não nutritivos) tais como os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (Giampieri *et al.*, 2012). Os flavonoides são compostos bioativos estreitamente associados aos atributos sensoriais dos frutos e podem ser agrupados em várias classes estruturais incluindo antocianinas, flavonas, flavanóis, flavanonas e flavonóis (Maraei e Elsawy, 2017). Tanto os flavonoides como os ácidos fenólicos e o ácido ascórbico apresentam potencial atividade antioxidante (Giampieri *et al.*, 2012; Maraei e Elsawy, 2017). A capacidade antioxidante está intimamente correlacionada com a remoção eficaz de radicais livres de oxigênio, sendo responsável por muitos efeitos protetores na saúde dos seres humanos devido às suas propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e cardioprotetoras (Cordenunsi *et al.*, 2002; Giampieri *et al.*, 2012; Wysocki *et al.*, 2012; Ornelas-Paz *et al.*, 2013).

Em menor medida, os morangos são uma fonte de ácidos gordos essenciais e saudáveis, uma vez que o óleo de semente de morango é rico em ácidos gordos insaturados (aproximadamente 72% ácidos gordos polinsaturados). Relativamente ao teor em minerais este fruto tem sido qualificado como uma boa fonte de manganês (Mn), potássio (K), iodo (I),

magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe) e fósforo (P) (Giampieri *et al.*, 2012). Na Tabela 2 é sintetizada a composição nutricional do morango.

Tabela 2. Composição nutricional do morango. Valores expressos em unidades por 100g de parte edível (Adaptado de TCA, 2019).

Quantidade		Quantidade	
<i>Minerais</i>			
Energia	142 kJ/34 kcal	Sódio	2 mg
Água	90,1 g	Potássio	140 mg
Lípidos	0,4 g	Cálcio	25 mg
Hidratos de Carbono	5,3 g	Fósforo	26 mg
Açúcares	5,3 g	Magnésio	10 mg
Fibra	2 g	Ferro	0,8 mg
Proteínas	0,6 g	Zinco	0,1 mg
<i>Vitaminas</i>			
Vitamina A	4 µg	Riboflavina	0,06 mg
Caroteno	26 µg	Niacina	0,6 mg
α-tocoferol	0,2 mg	Vitamina C	47 mg
Tiamina	0,03 mg	Ácido Fólico	47 µg

1.2. Tecnologia de cultivo

1.2.1. Necessidades hídricas

A cultura do morangueiro para além de ser sensível ao encharcamento, é também muito sensível à qualidade da água de rega (ex.: águas com elevada salinidade) pelo que é extremamente importante manter a humidade do solo em níveis ideais, de forma a obter boas produtividades e a máxima qualidade dos frutos (Jorge, 2014). Contudo, existem quatro fases do desenvolvimento desta cultura que são mais críticas ao nível das necessidades de água: após a plantação, após a fase de dormência, durante a floração e na fase do pico da produção (maior consumo de água por parte da planta). Caso as necessidades hídricas da cultura não sejam satisfeitas no decorrer destas fases de desenvolvimento, a produção e a qualidade dos frutos poderão ser comprometidas (Miranda e Fernandes, 2001).

1.2.2. Fertilização

Uma fertilização com o fornecimento de níveis adequados de nutrientes é indispensável para a manutenção do equilíbrio entre o desenvolvimento vegetativo e

reprodutivo do morangueiro. Para isso, é fundamental conhecer essencialmente o teor de nutrientes no solo/substrato e na água de rega, as necessidades nutritivas da planta e a época do desenvolvimento em que a planta necessita de cada um dos nutrientes (Palha *et al.*, 2005).

As quantidades de nutrientes exportadas pela cultura dependem da produção obtida (Palha *et al.*, 2005). A exportação média anual de macronutrientes pela cultura do morangueiro corresponde a: 108 kg ha⁻¹ de azoto (N), 70 kg ha⁻¹ de fósforo (P₂O₅) e 190 kg ha⁻¹ potássio (K₂O) (Sitta, 1983).

As plantas de morangueiro podem ser suscetíveis a deficiências de Fe (principalmente em temperaturas mais frias) e requerem, adicionalmente, níveis elevados de K e cálcio (Ca) para o desenvolvimento dos frutos. A condutividade elétrica (CE) da solução nutritiva deve ser de cerca de 1,0 a 1,5 dS m⁻¹ e o pH deve ser mantido entre 5,5 e 6,0 para ajudar a gerir a disponibilidade de micronutrientes (Currey, 2018).

1.2.3. Manutenção

A manutenção consiste, essencialmente, na realização da desfolha e da monda de flores, frutos e estolhos.

A desfolha deve ser efetuada antes da floração e ao longo do ciclo cultural e consiste na limpeza de folhas velhas e/ou mortas, uma vez que estas podem consumir mais fotoassimilados do que aqueles que produzem (Miranda e Fernandes, 2001; Currey, 2018). A remoção destas folhas permite um melhor arejamento das plantas, reduz o aparecimento de doenças e facilita o aparecimento de folhas novas (Miranda e Fernandes, 2001). No entanto, se a planta for demasiado vegetativa, parte das folhas saudáveis podem também ser removidas (Currey, 2018).

Após a plantação, essencialmente nas “plantas frigo”, ocorre uma floração precoce. De modo a favorecer o crescimento vegetativo e a acumulação de reservas, estas flores prematuras devem ser eliminadas permitindo um bom desenvolvimento vegetativo da planta e uma frutificação abundante (Miranda e Fernandes, 2001). Por outro lado, em plantas sem o tamanho ideal, as flores podem ser removidas para promover o crescimento vegetativo e aumentar o tamanho da copa. No caso das plantas com tamanho suficiente, as flores podem também ser removidas para promover o desenvolvimento do fruto (Currey, 2018).

Os estolhos reduzem o crescimento das raízes e limitam o crescimento da parte aérea (redução da formação de coroas e o tamanho dos frutos), levando a uma menor produção. Devido a todos estes fatores, a monda dos estolhos torna-se numa operação essencial na cultura do morangueiro. Esta operação pode ser feita manualmente, mecanicamente ou através do uso de um herbicida de contacto (Almeida, 2006).

Todos os frutos considerados como não comercializáveis (ex.: frutos deformados) devem ser removidos, de modo a promover o desenvolvimento de outros frutos que possam evoluir para um produto mais homogéneo, ou seja, mais comercializável (Currey, 2018).

1.2.4. Colheita

A colheita do morango pode prolongar-se por quatro a seis meses, em função do fotoperíodo, disponibilidade de água e qualidade fitossanitária (Cantillano, [s.d.]). Em geral, a colheita dos morangos é feita manualmente e realizada de forma escalonada (diariamente ou a cada três dias) de modo a colher os frutos no estado de maturação adequado e uniforme, com o objetivo de satisfazer as exigências de qualidade comercial (Cantillano, [s.d.]; Palha *et al.*, 2005).

O índice de maturação para colheita mais utilizado baseia-se na cor superficial do morango (tipicamente vermelha). A colheita deve realizar-se quando o fruto tiver adquirido a cor característica em 2/3 a 3/4 da sua superfície. Por outro lado, morangos para consumo em fresco devem ser colhidos mantendo o cálice e uma pequena parte do pedúnculo. É importante que os frutos sejam selecionados e colhidos de forma cuidadosa e diretamente para a embalagem definitiva, evitando assim manipulações que possam prejudicar a sua qualidade (Palha *et al.*, 2005). Adicionalmente, deve optar-se por uma colheita nas alturas mais frescas do dia e evitar horas de maior calor e/ou os dias chuvosos e com orvalho (Cantillano, [s.d.]).

1.2.5. Cultura do morangueiro em substrato

O sistema de produção em substrato consiste na substituição do solo por um substrato como meio de cultura, no qual se satisfazem as necessidades hídricas e nutricionais das plantas através de um sistema de fertirrega. O substrato permite o suporte físico do sistema radicular da planta, possibilitando a sua fixação e desenvolvimento (Branco, 2011). A utilização do substrato é aconselhada, essencialmente, quando existem fatores que limitam a produção no solo (ex.: salinização ou transmissão de organismos patogénicos) (López, 2005).

A produção de morango neste sistema apresenta inúmeras vantagens em relação à produção em solo, tais como: o uso de substratos isentos de agentes patogênicos, a homogeneidade do substrato como meio de desenvolvimento das plantas que permite uma maior uniformidade cultural, melhor polinização e maior produção por m². Para além disto, este sistema possibilita uma melhor eficiência e um maior controlo na utilização de água e dos nutrientes (Miranda *et al.*, 2004).

1.2.5.1. Características dos substratos

Atualmente, existem substratos com diversas origens: natural, mineral, orgânica, sintética e/ou residual. Estes podem ainda ser constituídos por um único material ou por uma mistura de dois ou mais materiais (López, 2005). Apesar da sua origem, o substrato ideal deve ter as seguintes características (Brito e Mourão, 2012):

- i. Manutenção das características originais durante a produção, garantindo a estabilidade da cultura;
- ii. Alta porosidade (50-85%) e baixa densidade;
- iii. Baixo conteúdo de sais solúveis e pH entre 5,0 e 6,5;
- iv. Inércia química (não libertar iões inorgânicos ou imobilizar nutrientes);
- v. Ausência de organismos patogênicos e pragas.

Por outro lado, um substrato pode ser formado por três fases onde cada uma desempenha um papel específico (Lemaire, 1995):

- 1) Fase sólida - suporta o sistema radicular e assegura a estabilidade da planta;
- 2) Fase líquida - assegura o fornecimento de água e nutrientes;
- 3) Fase gasosa - assegura o transporte de O₂ e CO₂ entre as raízes e o ar externo.

Para que um substrato seja ideal para a produção de plantas, é necessário monitorizar uma série de propriedades físicas (ex.: granulometria, porosidade e capacidade de retenção de água), químicas (ex.: capacidade de troca catiónica, pH, disponibilidade dos nutrientes e salinidade) e biológicas (ex.: desenvolvimento e/ou introdução de microrganismos), que devem ser mantidas dentro de uma gama de valores considerada adequada (López, 2005; Batista e Batista, 2007).

1.2.5.2. Exemplos de materiais utilizados em substratos

1.2.5.2.1. Turfa

A turfa é uma substância esponjosa resultante da decomposição incompleta de resíduos vegetais de plantas herbáceas ou lenhosas (ex.: musgos do gênero *Sphagnum* spp.) em condições propícias à acumulação de biomassa devido a condições de baixo pH e baixo teor de oxigênio (Maher *et al.*, 2008; Kitir *et al.*, 2018). Para o cultivo sem solo, a turfa é das matérias orgânicas mais utilizadas como substrato sendo muito utilizada em viveiros e estufas, pois, apresenta propriedades muito favoráveis à produção de plantas (Mejías e Ruano, 1990; Kitir *et al.*, 2018).

De um modo geral, a turfa utilizada para agricultura é caracterizada por vários parâmetros de qualidade, como por exemplo: o grau de decomposição, a densidade aparente (0,05 a 0,200 g cm⁻³), a densidade de partículas (1,0 a 1,6 g cm⁻³) e a porosidade elevada (80-90%) (Kitir *et al.*, 2018). Estas propriedades físicas conferem-lhe um bom arejamento e simultaneamente uma elevada capacidade de retenção de água (Robbins e Evans, 2011; Kitir *et al.*, 2018). No entanto, à medida que a distribuição granulométrica da turfa aumenta, o volume de ventilação aumenta também e a sua capacidade de retenção de água diminui (Kitir *et al.*, 2018). Quando é necessário aumentar a retenção de água e diminuir a densidade aparente, a turfa é muitas vezes utilizada em mistura com outros materiais (Robbins e Evans, 2011).

Relativamente às propriedades químicas da turfa fresca, esta é maioritariamente composta por água (80 a 90%), sendo o restante composto por material sólido. A maior parte deste material sólido consiste em componentes de origem orgânica e em apenas 2 a 10% de componentes de origem inorgânica (Kitir *et al.*, 2018).

1.2.5.2.2. Fibra de coco

A fibra de coco é um material muito estável devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Xiong *et al.*, 2017). Este substrato é obtido a partir da casca e das fibras presentes no mesocarpo do coco (*Cocos nucifera* L.), que são um produto residual desta cultura (Carlile *et al.*, 2019; Mariotti *et al.*, 2020). Para além de ser utilizada em culturas sem solo, a fibra de coco tem servido também para melhorar as propriedades físicas e químicas dos solos (Vavrina *et al.*, 1996). É um material que, devido à sua natureza microporosa, apresenta alta porosidade que lhe confere acima de tudo uma boa ventilação e uma elevada capacidade de retenção de água (5-10 vezes o seu peso em água) (Vavrina *et al.*, 1996; Carlile *et al.*, 2019).

De um modo geral, o pH da fibra de coco varia entre 4,8 e 6,8, enquanto que a CE pode variar entre 0,12 e 2,9 dS m⁻¹ pois está dependente da idade, do processamento e da frequência de lavagem do material fibroso. Ao nível de macronutrientes, trata-se de um material rico em K₂O (até 30 mg L⁻¹) e pobre em N (até 0,5 mg L⁻¹) (Carlile *et al.*, 2019). Todavia, a fibra de coco pode conter quantidades significativas de micronutrientes tais como: Fe, zinco (Zn), Cu e Mn (Vavrina *et al.*, 1996; Carlile *et al.*, 2019).

A fibra de coco é um material praticamente livre de ervas daninhas, pragas e patogénicos vegetais e por isso tem sido cada vez mais adotada como um substrato único para o cultivo de frutos de baga (morangos, framboesas e mirtilos) bem como para culturas ornamentais (rosas e lírios). Adicionalmente, é possível reutilizar este substrato três ou quatro vezes, o que permite mitigar o seu elevado custo (Carlile *et al.*, 2019).

1.2.5.2.3. Perlite

A perlite caracteriza-se por leves partículas brancas obtidas por aquecimento de um material vulcânico e é um dos materiais mais comumente utilizados em culturas sem solo que pode ser aplicado em sacos de cultivo, recipientes ou vasos (Garner, [s.d.]; Grillas *et al.*, 2001).

Trata-se de um material com uma série de vantagens em relação a outros, devido às suas propriedades tais como, o facto de ser um material natural, inorgânico, estéril e quimicamente inerte com um pH neutro (7,0 - 7,5). Para além disto, é um material limpo, inodoro, ultraleve e fácil de manusear (Grillas *et al.*, 2001; Papadopoulos *et al.*, 2008; Markoska *et al.*, 2018). Apesar de não conter nutrientes minerais e não ter capacidade tampão, a perlite é um material extremamente poroso e com uma forte ação capilar que lhe confere uma excelente retenção de água (3-4 vezes o seu peso em água) (Papadopoulos *et al.*, 2008; Markoska *et al.*, 2018). Assim, estas características permitem reduzir o excesso de água o que torna o meio de cultivo fisicamente estável e com boa ventilação e drenagem (Grillas *et al.*, 2001).

Quando tratada com cuidado, a perlite pode manter a sua relação ar/água durante um longo período de tempo (dois a três anos) podendo ser utilizada numa variedade de aplicações hortícolas, como por exemplo: meio de propagação para o enraizamento de estacas, alteração do solo (paisagismo, jardins e canteiros de flores) e componente de misturas à base de turfa para plantas e bancadas de estufa (Grillas *et al.*, 2001).

Na Figura 4 é demonstrada a aplicação de uma mistura de turfa e perlite utilizada como substrato na cultura do morangueiro.



Figura 4. Exemplo de utilização de dois materiais (turfa e perlite) como substrato.

1.3. Bioestimulantes e a agricultura

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da ocorrência de problemas provocados por diversos fatores bióticos e, essencialmente, abióticos (seca, salinidade, temperaturas extremas, etc.) que põem em causa a produtividade e a qualidade das culturas agrícolas (Battacharyya *et al.*, 2015). Assim, de forma a aumentar o rendimento e proporcionar condições mais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento dessas culturas, tem ocorrido uma procura incessante de novas soluções com o intuito de mitigar muitos desses fatores (Skwarek *et al.*, 2020). Uma dessas soluções pode passar pela aplicação de bioestimulantes, pois estes contribuem para uma agricultura mais sustentável e resiliente, reduzindo a necessidade de aplicação de fertilizantes químicos (ou sintéticos) sem afetar negativamente o rendimento e a qualidade das culturas (Bulgari *et al.*, 2015; de Vasconcelos e Chaves, 2020), e podendo inclusivamente melhorar estas características.

De acordo com o EBIC (Conselho Europeu da Indústria de Bioestimulantes), “um bioestimulante é um composto derivado de produtos naturais que contém substâncias bioativas e/ou microrganismos, cuja função é estimular processos naturais para promover a absorção e eficiência do uso de nutrientes e a tolerância a stresses bióticos e/ou abióticos, resultando de um modo geral num aumento do rendimento das culturas e/ou melhoria da qualidade dos produtos” (Guerra, 2018). Apesar de ainda não existir uma categorização oficial, os bioestimulantes derivam de um conjunto incrivelmente diversificado de materiais biológicos e

inorgânicos, como por exemplo substâncias húmicas e fúlvicas, hormonas, vitaminas, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, hidrolisados de proteínas, culturas microbianas vivas, extratos de algas marinhas (macro e microalgas), quitina e outros biopolímeros, estrumes, alimentos, resíduos industriais e outros elementos benéficos (fungos e bactérias) (Brown e Saa, 2015; Skwarek *et al.*, 2020; de Vasconcelos e Chaves, 2020).

Os bioestimulantes oferecem uma nova abordagem para a modificação de processos fisiológicos nas plantas, pois influenciam vários processos no seu metabolismo tais como a fotossíntese, absorção de nutrientes, diferenciação dos tecidos e a quebra da dormência. Os principais efeitos da aplicação destes compostos passam pela promoção do crescimento radicular, pela estimulação do crescimento e produtividade das culturas, pelo aumento da eficiência nutricional e da tolerância/resistência aos stresses bióticos e/ou abióticos (Skwarek *et al.*, 2020; de Vasconcelos e Chaves, 2020).

A aplicação de bioestimulantes pode ser feita diretamente no solo, em soluções para fertirrega ou por pulverização foliar, podendo ser realizada em todas as fases do ciclo cultural, desde o tratamento de sementes até à pós-colheita (Guerra, 2018; Skwarek *et al.*, 2020).

1.3.1. Extratos de algas

Os extratos de algas constituem mais de 33% do mercado total de bioestimulantes a nível mundial (Tuhy *et al.*, 2013; El Boukhari *et al.*, 2020). Os bioestimulantes obtidos a partir destes extratos para além de serem uma estratégia “amiga do ambiente”, caracterizam-se pela sua alta eficiência no cultivo de plantas, sendo amplamente utilizados para a sua nutrição. Por conseguinte, estes podem constituir uma alternativa aos reguladores de crescimento convencionais e funcionar como apoio aos fertilizantes tradicionais (Tuhy *et al.*, 2013).

Estes tipos de extratos derivam da extração de várias espécies de macroalgas. Estima-se que entre as algas marinhas ou macroalgas existam quase 10.000 espécies que, baseadas na sua pigmentação, se subdividem principalmente em três grandes filós: *Rhodophyta* (Vermelha), *Chlorophyta* (Verde) e *Phaeophyta* (Castanha) (El Boukhari *et al.*, 2020). Dentro de cada filo, as algas mais utilizadas na agricultura devido à sua boa atividade bioestimulante são as algas vermelhas: *Corallina mediterranea*, *Jania rubens*, *Pterocladia pinnata*, as algas verdes: *Cladophora dalmatica*, *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* e as algas castanhas: *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria*, *Saragassum* e *Turbinaria* spp. (Tuhy *et al.*, 2013; Calvo *et al.*, 2014; El Boukhari *et al.*, 2020). No entanto, as

algas castanhas são o grupo dominante e as mais utilizadas por empresas produtoras de extratos de algas (Calvo *et al.*, 2014; El Boukhari *et al.*, 2020).

Os extratos de algas têm sido utilizados na agricultura como condicionadores de solo ou como estimuladores de plantas (Bulgari *et al.*, 2015). Estes produtos encontram-se disponíveis sob a forma de pó solúvel ou na forma líquida, podendo ser aplicados por fertirrega perto da raiz da planta ou através de pulverizações foliares (Battacharyya *et al.*, 2015). Os produtos à base de algas podem apresentar na sua composição: micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, boro e molibdênio), hormonas (citoquininas, auxinas e giberelinas), aminoácidos (ácido aspártico, ácido glutâmico e alanina), hidratos de carbono (alginato, laminarina e manitol) e uma vasta gama de vitaminas (vitaminas C, B (tiamina), B2 (riboflavina), B12, E, niacina, e ácido fólico e folínico) (Crouch e van Staden, 1993; Calvo *et al.*, 2014; Guerra, 2018).

Os principais benefícios da aplicação de extratos de algas, ao nível da planta, passam por fornecer uma maior resistência a stresses bióticos (fungos e bactérias) e abióticos (frio, seca e salinidade), aumentar a taxa de germinação das sementes, o crescimento das plantas, a floração, a produção de frutos e melhorar o desenvolvimento radicular. Para além disto, os extratos de algas permitem melhorar a eficiência e a produtividade das culturas, aumentando o tempo de prateleira dos frutos (Skwarek *et al.*, 2020).

Na Figura 5 estão representados três exemplos dos principais filos de algas.



Figura 5. Exemplo de algas (A- *Corallina mediterranea*; B- *Enteromorpha intestinalis*; C- *Ascophyllum nodosum*) utilizadas como bioestimulantes (Fonte: <https://www.algaebase.org/>).

2. Material e métodos

2.1. Caracterização do local do ensaio

O ensaio experimental foi instalado na Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (latitude 41°17' N, longitude 7°44' W, altitude 465 m), sendo conduzido em vasos de 3 litros, em câmara de crescimento (Fitoclima 10000 EHHF, ARALAB, Portugal), entre abril e setembro de 2021. Durante este período, a temperatura média na câmara foi de 21°C, variando entre 18°C (temperatura noturna) e 25°C (temperatura diurna). O crescimento das plantas decorreu num fotoperíodo de 12 horas noturnas e 12 horas diurnas (Tabela 3).

Tabela 3. Descrição dos valores diários da temperatura, humidade relativa e radiação na câmara de crescimento durante todo o ensaio (abril a setembro de 2021).

Período	Temperatura (°C)	Humidade Relativa (%)	Radiação ($\mu\text{mol fotões m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Duração (min)
	22	60	200	59
	25	60	300	600
	22	60	150	60
	18	60	50	1
	18	60	0	720

2.2. Material vegetal

Os morangueiros da cultivar “Diamante” caracterizam-se por serem plantas indiferentes ao fotoperíodo e por terem uma forma muito compacta e ereta, o que permite maior densidade de plantas e uma colheita mais fácil. No entanto, esta cultivar foi selecionada para este estudo, essencialmente, por ser altamente resistente a pragas e doenças e por apresentar frutos com boas características organoléticas. Caracteriza-se ainda por ser uma cultivar que produz frutos muito grandes (de 30 a 31 g/fruto), firmes e com uma cor interna mais clara do que outras cultivares dentro do mesmo fotoperíodo (UC Davis).

As plantas para o estudo foram adquiridas num viveirista e previamente selecionadas, pelo seu vigor e tamanho. Os vasos foram preenchidos com volumes idênticos de uma mistura de turfa e perlite (3:1, v/v). De modo a garantir a fertilização das plantas foi preparada uma solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), que foi aplicada semanalmente nas plantas juntamente com a água de rega (Anexo 1).

2.3. Delineamento experimental

O estudo consistiu na aplicação foliar de dois bioestimulantes à base de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*), desenvolvidos pela empresa BioAtlantis Ltd (Figura 6): (1) NASPA19-67 (N19-67) - liquid alkaline of *Ascophyllum nodosum* extract e (2) NASPA19-68 (N19-68) - BlackFort®, A001IC116, microgranular soluble powder of *Ascophyllum nodosum* extract, nas doses de 0,4% e 0,2%, respetivamente. A sua aplicação realizou-se de 15 em 15 dias durante todo o período vegetativo e produtivo. As plantas Controlo foram pulverizadas com água. As 54 plantas foram distribuídas pelos 3 tratamentos em estudo: controlo, N19-67 e N19-68, num total de 18 vasos por tratamento.



Figura 6. Bioestimulantes à base de algas marinhas utilizados: (1) N19-67 - liquid alkaline of *Ascophyllum nodosum* extract e (2) N19-68 - microgranular soluble powder of *Ascophyllum nodosum* extract.

As plantas foram também submetidas a três regimes de rega (RR):

- 30% da capacidade de campo (CC) durante todo o ensaio;
- 30% da CC até à floração, passando a 70% até ao final do ciclo vegetativo;
- 70% da CC durante todo o ensaio.

Assim, as 18 plantas de cada tratamento foram subdivididas pelos 3 regimes de rega, num total de 6 plantas por tratamento e por regime hídrico.

O teste do teor de humidade à saturação da mistura de turfa com perlite foi previamente realizado para a determinação da CC. A humidade inicial da mistura foi calculada pela diferença de peso inicial e após a secagem durante 48h a 105°C. Posteriormente, o peso da mistura após

a adição de água até à saturação máxima (quando a água começa a escoar pelo vaso) foi monitorizado. Após determinação da CC, foram efetuados os cálculos do volume de água necessário para obtenção de 30% e 70% da CC, sendo esse o volume utilizado para a rega, que foi realizada duas vezes por semana ao longo de todo o ensaio.

Na Figura 7 estão presentes as datas de realização das principais operações do ensaio.

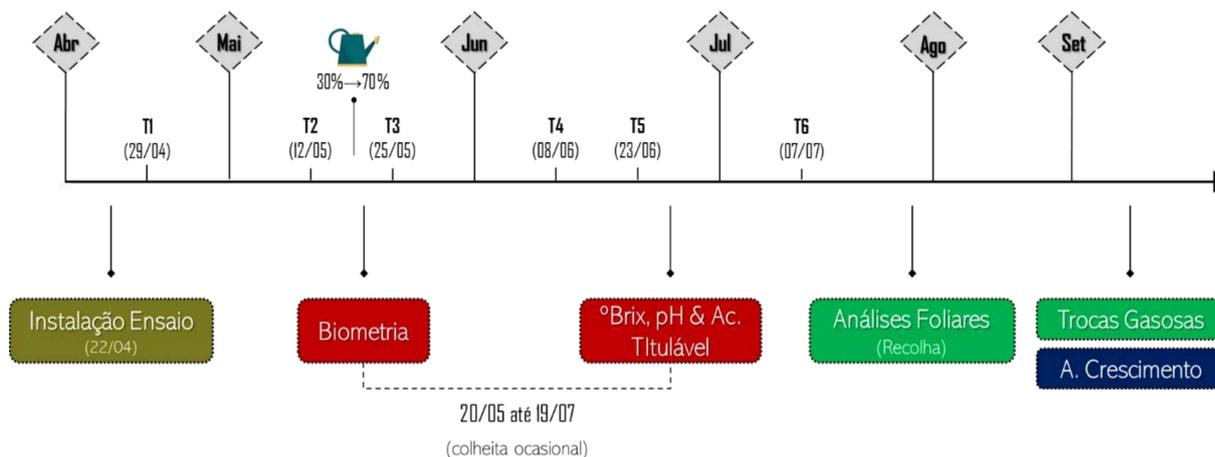


Figura 7. Calendarização das operações realizadas ao longo do ensaio.

2.4. Registo da evolução fenológica

Ao longo de todo o ensaio foram acompanhados os estados fenológicos das plantas (Figura 8), registando-se o número de folhas, o número de flores e o número de frutos por planta.

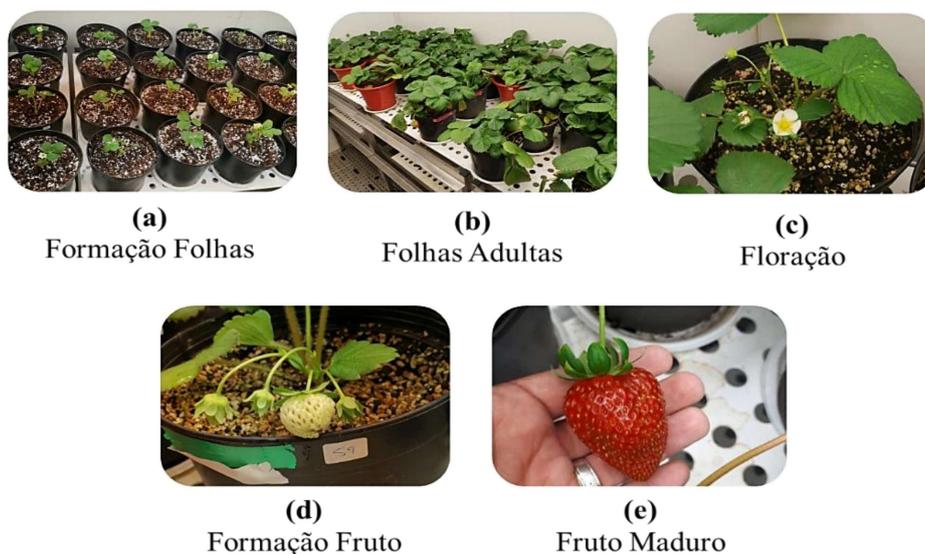


Figura 8. Registo fotográfico do crescimento das plantas de morangueiro: (a) formação das folhas; (b) folhas adultas; (c) floração; (d) formação dos frutos e (e) fruto maduro.

2.5. Análise de crescimento

No final do ensaio, foram efetuadas medições em todas as plantas do ensaio, por forma a monitorizar o seu crescimento. Para isso, separou-se a parte aérea e a parte radicular (previamente lavada) e determinou-se o comprimento máximo e o peso fresco (PF) de cada uma das partes, bem como a área foliar total de cada planta. De seguida, todas as frações foram colocadas a secar na estufa (70°C) para posterior determinação do peso seco (PS) e consequente razão de área foliar (RAF) obtida a partir da relação entre a área foliar total e o peso seco.

2.6. Atributos de qualidade dos frutos

2.6.1. Biometria

A altura e os diâmetros (menor e maior) de todos os frutos das 54 plantas foram medidos com um paquímetro digital (Mitutoyo, Reino Unido). Por forma a determinar o peso de cada fruto foi usada uma balança digital (Scaltec SBC 21, Alemanha).

2.6.2. Sólidos solúveis totais (°Brix), pH e acidez titulável

As características químicas foram determinadas a partir do sumo extraído dos frutos colhidos em cada planta de cada RR e tratamento. Para a obtenção do sumo de cada fruto efetuou-se o seu esmagamento, recorrendo a um pilão e um almofariz. Para a determinação do pH foi usado o volume total de sumo obtido em cada fruto e a leitura foi efetuada num potenciómetro (pH meter 3505, Jenway) e para a determinação do teor em sólidos solúveis totais (SST) foi usada uma gota do sumo obtido e a leitura foi efetuada num refratómetro digital (PR-101, Atago, Japão). A acidez titulável (AT) (em g de ácido cítrico por 100 g⁻¹ de PF) foi determinada pela diluição do volume de sumo obtido com igual volume de água destilada seguida de uma titulação com NaOH a 0,1 mol L⁻¹, até obtenção de pH 8,1.

2.7. Análise foliar

2.7.1. Trocas gasosas

A medição das trocas gasosas foi realizada usando um analisador de gás por radiação infravermelha (IRGA LC pro+, ADC Bioscientific Ltd, Hoddesdon, Inglaterra), com uma câmara foliar de 2,5 cm² num modo diferencial e em circuito aberto. As medições foram feitas logo após o início do período diurno da câmara de crescimento, em folhas adultas e bem expostas sob condições ambientais e irradiância artificial com valor de densidade de fluxo fotónico fotossinteticamente ativo de 1200 µmol fotões m⁻² s⁻¹. O cálculo da taxa de transpiração

(E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração do CO_2 intercelular (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e a taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), foram feitos a partir das equações desenvolvidas por von Caemmerer e Farquhar (1981). A eficiência intrínseca do uso da água foi calculada pela razão A/g_s .

Todos os resultados são expressos como a média de quatro repetições ($n=4$) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo desvio padrão (DP).

2.7.2. Fuga de eletrólitos

Para avaliação dos danos membranares existentes, foi também analisada a fuga de eletrólitos. Para isso, foram retirados discos foliares de 8 mm de diâmetro de 3 plantas de cada tratamento e colocados em tubos falcon de 15 mL onde foram previamente colocados 10 mL de água ultrapura. Incubaram-se os tubos em banho-maria, com agitação, a 25°C , durante 24 h. Fez-se uma primeira leitura no condutivímetro (Mettler Toledo), colocando-se de seguida as amostras no autoclave, a 121°C , durante 15 min. Após arrefecimento até 25°C , fez-se nova leitura no condutivímetro. O aumento da condutividade da água devido à perda de eletrólitos será tanto maior quanto maior for o dano membranar.

Todos os resultados são expressos como a média de três repetições ($n=3$) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo DP.

2.7.3. Conteúdo relativo em água

Para avaliação do estado hídrico das plantas, foi recolhida 1 folha sã por planta de cada RR e tratamento e estas foram colocadas imediatamente em tubos Falcon (50 mL), previamente pesados e hermeticamente fechados. No laboratório foram determinados os seguintes parâmetros: peso fresco (PF; g), peso seco (PS; g) e peso túrgido (PT; g). O PF foi imediatamente determinado no laboratório, com a folha selada dentro do tubo, e a esse peso foi posteriormente retirada a tara do tubo. Posteriormente, os pecíolos foliares foram imersos em água destilada a 4°C por 24 h. Seguiu-se a remoção do excesso de água da folha e a determinação do PT. Finalmente, o PS foi determinado após a desidratação total das folhas numa estufa a 60°C , durante pelo menos 48 h, até atingirem um peso constante. A determinação do conteúdo relativo em água (RWC- relative water content, %) fez-se a partir da seguinte equação:

$$RWC = \frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso túrgido} - \text{Peso seco}} \times 100$$

Todos os resultados são expressos como a média de três repetições (n=3) efetuadas em cada tratamento e RR com o respetivo DP.

2.7.4. Pigmentos fotossintéticos e metabolitos foliares

Foram recolhidos, aleatoriamente, três folíolos terminais de entre os vasos de cada tratamento em cada RR, perfazendo um total de vinte e sete amostras. Cada folha recolhida foi macerada individualmente, em azoto líquido, constituindo assim três réplicas biológicas em cada tratamento e RR. Cada réplica biológica foi analisada em duplicado no laboratório, num total de 6 réplicas por tratamento.

2.7.4.1. Pigmentos fotossintéticos

Relativamente à determinação dos pigmentos fotossintéticos, seguiu-se o procedimento de Arnon (1949) e Sesták *et al.* (1971) para a quantificação das clorofilas (clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total) e aplicaram-se as fórmulas de Mackinney (1941). A quantificação dos carotenoides totais foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Lichtenthaler (1987). Tendo em conta que os pigmentos são foto e termo sensíveis, todo o processo de extração e quantificação foi realizado ao abrigo da luz e calor. Pesaram-se 10 mg de cada amostra macerada para um tubo plástico de centrífuga e adicionaram-se 4 mL de acetona a 80%. Agitaram-se todas amostras no vortéx e colocaram-se em gelo, no escuro, durante 30 min. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (Sigma 3K30) a 4000 rpm, 4°C durante 5 min. Com recurso a uma micropipeta colocaram-se 200 µL de cada amostra numa microplaca de 96 poços (em duplicado) e efetuou-se a leitura da absorvância nos comprimentos de onda 470, 645 e 663 nm.

A partir dos resultados obtidos, procedeu-se ao cálculo dos pigmentos fotossintéticos através das seguintes fórmulas:

- Clorofila *a* (cl_a): $(12,7 * Abs_{663} - 2,69 * Abs_{645}) / 1000$
- Clorofila *b* (cl_b): $(22,9 * Abs_{645} - 4,68 * Abs_{663}) / 1000$
- Clorofila Total (cl_{Total}): $(0,0202 * Abs_{645} + 0,00802 * Abs_{663})$
- Carotenoides Totais ($Carot. Total$): $((1000 * Abs_{470} - 1,82 * cl_a - 85,02 * cl_b) / 198) * 0,001$

Todos os resultados são expressos como a média de seis repetições (n=6) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo DP.

2.7.4.2. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados tendo por base o procedimento de Singleton e Rossi (1965) e Dewanto *et al.* (2002). Pipetaram-se 20 µL de extrato obtido para a quantificação dos pigmentos fotossintéticos e adicionaram-se 100 µL de reagente de Folin-Ciocalteu. De seguida foram adicionados 80 µL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5%. A mistura permaneceu à temperatura ambiente durante 30 min ao abrigo da luz. O branco foi preparado com acetona 80%, reagente Folin-Ciocalteu e Na₂CO₃. Prepararam-se 9 soluções padrão com concentrações conhecidas e crescentes (0 a 100 µg mL⁻¹) de ácido gálico. Procedeu-se à leitura da absorvância no comprimento de onda 765nm e, através de uma reta de calibração, usando as soluções padrão ($y = 0,0084x + 0,0118$; $R^2 = 0,9996$), converteu-se o valor de Abs₇₆₅ em µg mL⁻¹.

Todos os resultados são expressos como a média de seis repetições (n=6) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo DP.

2.7.4.3. Atividade antioxidante

Tendo como referência os procedimentos de Brand-Williams *et al.* (1995), Sánchez-Moreno *et al.* (1998) e Siddhuraju e Becker (2003), a avaliação da atividade antioxidante foi determinada a partir do efeito bloqueador dos radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Misturaram-se 285 µL de solução de DPPH com 15 µL de extrato (obtido para a quantificação dos pigmentos fotossintéticos) e agitou-se vigorosamente a mistura, guardando-se, de seguida, no escuro à temperatura ambiente durante 30 min. O branco foi preparado com acetona 80%. Posteriormente procedeu-se à leitura da absorvância a 517 nm. A partir dos resultados obtidos, procedeu-se à determinação da atividade antioxidante através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Inibição DPPH} = \frac{\text{Abs}_{\text{branco}} - \text{Abs}_{517}}{\text{Abs}_{\text{branco}}} \times 100$$

Todos os resultados são expressos como a média de seis repetições (n=6) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo DP.

2.7.4.4. Açúcares solúveis

A metodologia utilizada para a determinação dos açúcares solúveis foi baseada no procedimento de Irigoyen *et al.* (1992).

Pesaram-se cerca de 10 mg de amostra fresca para um frasco de rosca com 5 mL de etanol a 80% e colocaram-se os frascos bem fechados no banho-maria (aberto) a 80°C durante 1h. De seguida, retiraram-se 200 µL de extrato alcoólico para um tubo de ensaio, adicionaram-se 3 mL de antrona e agitou-se a mistura no vórtex. Posteriormente os tubos foram colocados em banho-maria (aberto) a 100°C, durante 10 min. Procedeu-se à preparação de uma solução mãe de glucose de 500 µg mL⁻¹ e prepararam-se, a partir dessa, 9 soluções padrão, com concentrações compreendidas entre 0 e 100 µg mL⁻¹. À semelhança das amostras, também se colocaram 200 µL de cada padrão em tubos de ensaio e adicionaram-se 3 mL de antrona, levando-se de seguida os tubos a 100°C. Colocaram-se, de seguida, 200µL de cada amostra de extrato e de cada solução padrão na microplaca e procedeu-se à leitura da absorvância no comprimento de onda 625 nm. A partir da reta de calibração ($y = 0,0122x + 0,0009$; $R^2 = 0,9997$) converteu-se o valor de Abs₆₂₅ em µg mL⁻¹.

Todos os resultados são expressos como a média de seis repetições (n=6) efetuadas em cada tratamento e RR com o respetivo DP.

2.7.4.5. Amido

A determinação do amido fez-se segundo o procedimento adaptado de Osaki *et al.* (1991). Eliminou-se o solvente de extração utilizado para a determinação dos açúcares e manteve-se o pellet do material fresco no mesmo frasco. Adicionaram-se 5 mL de ácido perclórico 30% e agitaram-se os tubos no vórtex. De seguida, colocaram-se os frascos sem rosca em banho-maria aberto a 60°C, durante 1h. Num tubo de ensaio adicionaram-se 300 µL de extrato e 3 mL de antrona e agitou-se a mistura no vórtex. O branco foi obtido através da mistura de 300 µL de ácido perclórico 30% com 3 mL de antrona. A partir de uma solução mãe de glucose de 500 µg mL⁻¹ prepararam-se 9 soluções padrão, com concentrações compreendidas entre 0 e 100 µg mL⁻¹. Colocaram-se os tubos em banho-maria, aberto, a 100°C, durante 10 min. Em seguida, após arrefecimento, depositaram-se 200 µL de cada extrato e de cada solução padrão na microplaca e procedeu-se à leitura das absorvâncias no comprimento de onda 625 nm. Através da reta de calibração ($y = 0,0172x + 0,0082$; $R^2 = 0,9990$) converteu-se o valor de Abs₆₂₅ em µg mL⁻¹.

Todos os resultados são expressos como a média de seis repetições ($n=6$) efetuadas em cada tratamento e RR com o respectivo DP.

2.8. Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o software SPSS v26 (SPSS-IBM, Orchard Road-Armonk, Nova Iorque).

3. Resultados e discussão

3.1. Evolução fenológica

A evolução fenológica das plantas de morangueiro (cv. Diamante) dos diferentes tratamentos ao longo do tempo está representada na Figura 9, onde se pode observar um aumento do número total de folhas em todos os tratamentos e em todos os RR desde a 1ª aplicação (t1) até à última aplicação (t6) de bioestimulante (N19-67 e N19-68). No RR 30%, as plantas sem aplicação de bioestimulante (Controlo) e as plantas com aplicação de N19-68 foram as que apresentaram o maior número de folhas no final das aplicações, revelando um grande aumento, essencialmente, a partir da 3ª aplicação (t3), contrariamente ao que se verificou nas plantas tratadas com N19-67 que, na passagem da 4ª (t4) para a 5ª aplicação (t5), sofreram uma quebra do número de folhas. As plantas Controlo, tanto no RR 30-70% como no RR 70%, apresentaram, ao longo do tempo, um número de folhas superior ao das plantas tratadas com ambos os bioestimulantes. De facto, os morangueiros com aplicação dos dois bioestimulantes, nestes dois RR, demonstraram uma evolução do número de folhas semelhante até à data da 4ª aplicação.

Contrariamente à evolução crescente do número de folhas, o número de flores diminuiu ao longo do ensaio. Isto pode ser explicado pelo facto de muitas destas flores terem dado origem a um fruto ou até mesmo terem ficado inviáveis e secarem. No RR 30%, as plantas Controlo e as plantas tratadas com os bioestimulantes N19-67 e N19-68 apresentaram o maior do número de flores entre a 1ª e a 2ª aplicações (t2) tendo-se verificado um decréscimo a partir da 2ª aplicação nas plantas Controlo e a partir da 3ª aplicação nas plantas tratadas com bioestimulante. No RR 30-70%, observou-se um decréscimo, praticamente exponencial, do número de flores em todos os tratamentos sendo que, as plantas com aplicação de bioestimulantes apresentaram um maior número de flores do que as plantas Controlo, no final das aplicações. Já no RR 70%, as plantas Controlo mantiveram o número de flores praticamente constante entre a 1ª e a 3ª aplicações, ocorrendo, de seguida, uma redução. Por outro lado, as plantas tratadas com bioestimulantes após terem atingido o seu número máximo de flores sofreram uma redução, acabando por apresentarem um número de flores semelhante às plantas Controlo, no final das aplicações.

Relativamente ao número de frutos, no RR 30% as plantas tratadas com bioestimulante atingiram o seu número máximo entre as 3ª e 4ª aplicações. No entanto, as plantas tratadas com N19-68 não produziram qualquer fruto a partir da 4ª aplicação. Por outro lado, as plantas

Controlo atingiram o seu número máximo de frutos antes do início das aplicações sendo que, após algumas aplicações o número de frutos voltou a aumentar, não superando ainda assim o inicial. No RR 30-70%, o número de frutos foi superior em plantas tratadas com bioestimulantes em comparação com as plantas Controlo. Porém, as plantas de cada um dos tratamentos atingiram o número máximo de frutos entre a 1^a e a 3^a aplicações sendo que, desde esta última aplicação, as plantas Controlo e as plantas tratadas com N19-68 sofreram uma redução no seu número de frutos, tendo as plantas Controlo deixado de produzir a partir da 4^a aplicação. Em contrapartida, os morangueiros tratados com N19-67 a partir da 4^a aplicação sofreram um aumento exponencial do seu número de frutos. Por último, o número de frutos das plantas Controlo no RR 70% foi aumentando à medida que as aplicações foram realizadas, ocorrendo um decréscimo a partir da 4^a aplicação. O número máximo de frutos das plantas tratadas com N19-67 verificou-se entre a 1^a e a 2^a aplicações voltando a produzir uma quantidade de frutos semelhante aquando da 5^a aplicação. Quanto aos morangueiros tratados com N19-68, estas plantas revelaram uma produção inconstante de frutos entre a 1^a e a 4^a aplicações, acabando por atingir o seu número de frutos máximo no momento da 5^a aplicação.

De um modo geral, o número de folhas dos morangueiros não foi afetado pela aplicação de bioestimulantes em qualquer um dos RR. Em relação ao número de flores, em situações de conforto hídrico (70% da CC), as plantas com aplicação de N19-68 revelaram maior número de flores, enquanto que em situações de menor disponibilidade hídrica foram as plantas tratadas com o bioestimulante N19-67. Consequentemente, visto existir uma relação entre o número de flores e o número de frutos, o comportamento das plantas relativamente ao número de frutos foi semelhante ao verificado ao nível do número de flores ao longo das diversas aplicações.

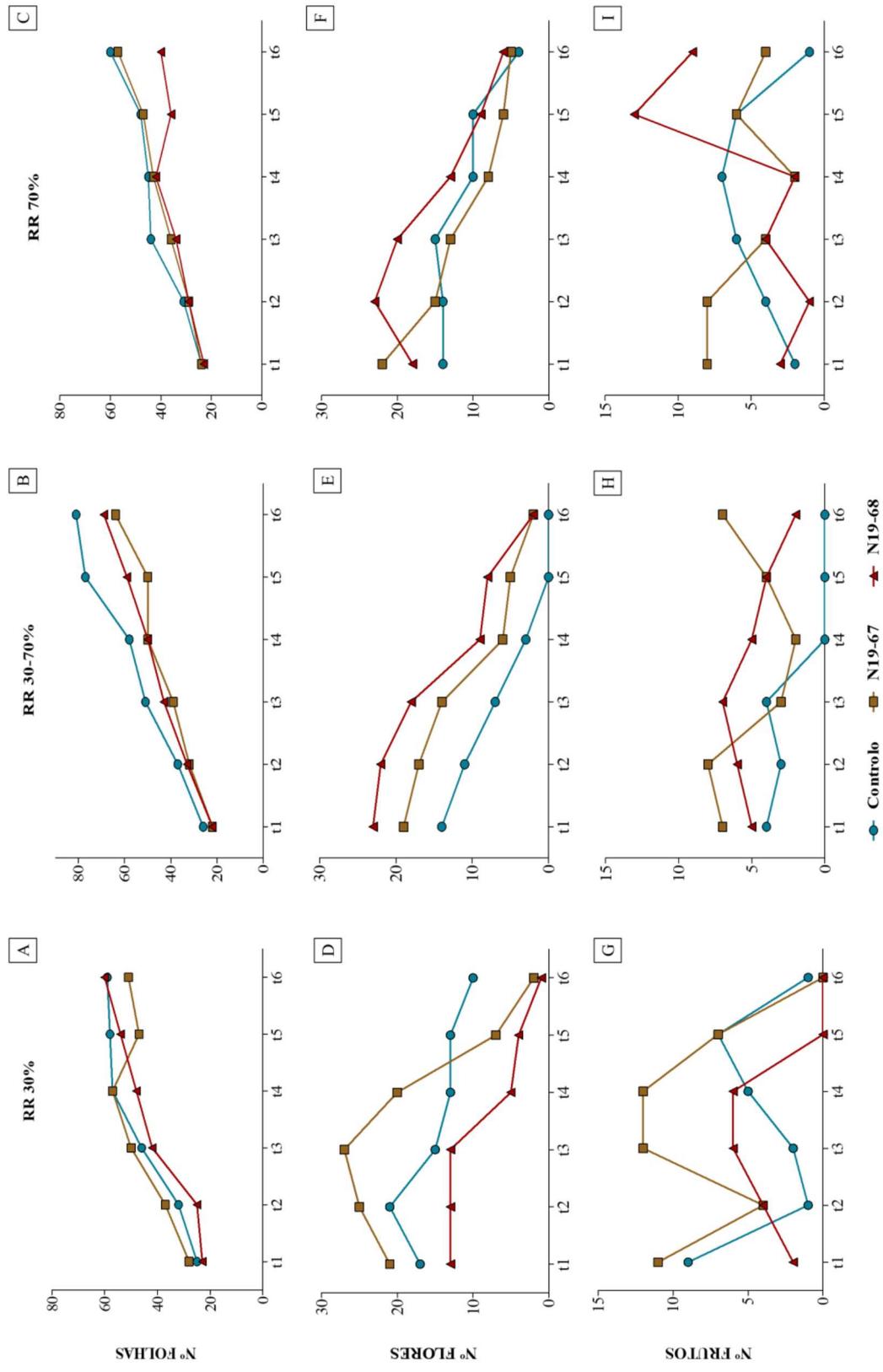


Figura 9. Número total de folhas (A-C), flores (D-F) e frutos (G-I) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controle, N19-67 e N19-68), desde o dia 29 de abril até ao dia 7 de julho. (t1 - 1ª aplicação; t2 - 2ª aplicação; t3 - 3ª aplicação; t4 - 4ª aplicação; t5 - 5ª aplicação; t6 - 6ª aplicação).

3.2. Análise de crescimento

Os resultados obtidos na análise de crescimento das plantas de morangueiro dos diferentes tratamentos, no final do ensaio, estão presentes na Tabela 4.

Em relação ao comprimento máximo da raiz, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos, em nenhum dos RR avaliados. Todavia, dentro de cada RR, foram as plantas tratadas com N19-67 que revelaram um comprimento de raiz ligeiramente maior que as restantes. Relativamente ao efeito da rega nos diferentes tratamentos também não se verificaram diferenças estatisticamente significativas. Porém, tanto as plantas Controlo como as plantas tratadas com N19-67 atingiram o maior comprimento de raiz no RR 30-70% enquanto que, as plantas tratadas com N19-68 obtiveram maior tamanho de raiz no RR 70%.

Também os resultados relativos à biomassa radicular não apresentaram significância estatística entre tratamentos, em nenhum dos RR avaliados. Contudo, em todos os RR, as plantas Controlo apresentaram uma biomassa radicular ligeiramente superior às plantas tratadas com bioestimulante. Entre as plantas tratadas com N19-68 nos diferentes RR, foi no RR 30-70% que atingiram o maior valor de biomassa radicular, existindo diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas tratadas com o mesmo bioestimulante no RR 30% ($P=0,017$) e no RR 70% ($P=0,012$). Também as plantas Controlo e as plantas tratadas com N19-67 obtiveram o seu maior valor de biomassa radicular no RR 30-70%, não revelando, no entanto, resultados significativamente diferentes em relação aos mesmos tratamentos nos restantes RR.

O comprimento máximo da parte aérea das plantas de morangueiro no RR 30-70% foi maior nas plantas Controlo, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas tratadas com o bioestimulante N19-67 ($P=0,010$). O mesmo foi verificado nos outros dois RR avaliados (30 e 70%), onde as plantas Controlo apresentaram o maior comprimento da parte aérea, não havendo, no entanto, diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos, em ambos os RR. Apesar de não se verificarem resultados com significância estatística, os tratamentos com bioestimulantes revelaram maior comprimento da parte aérea das plantas de morangueiro no RR 30-70% enquanto que, as plantas Controlo atingiram o seu valor máximo no RR 30%.

A biomassa relativa à parte aérea das plantas de morangueiro não revelou diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos, em nenhum dos RR avaliados. No entanto, em todos os RR, a maior biomassa da parte aérea foi atingida pelas plantas Controlo. Entre as plantas Controlo sujeitas aos diferentes RR, foi no RR 30-70% que atingiram a maior biomassa, verificando-se diferenças estatisticamente significativas relativamente ao mesmo tratamento no RR 30% ($P= 0,041$) e no RR 70% ($P= 0,009$). Quanto às plantas tratadas com os bioestimulantes N19-67 e N19-68, foi também no RR 30-70% que obtiveram a maior biomassa da parte aérea, não apresentando, no entanto, diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas igualmente tratadas nos outros dois RR.

A razão de área foliar (RAF) não apresentou resultados estatisticamente significativos entre os diferentes tratamentos, em nenhum dos RR avaliados. No entanto, no RR 30% este parâmetro foi mais elevado em plantas tratadas com N19-68, enquanto que, no RR 30-70% e no RR 70% a RAF foi superior em plantas tratadas com N19-67. As plantas tratadas com N19-68 atingiram a sua menor RAF no RR 30-70%, apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas com o mesmo tratamento no RR 30% ($P= 0,004$) e no RR 30-70% ($P= 0,009$). As plantas Controlo atingiram a sua RAF máxima no RR 30% enquanto que, as plantas tratadas com N19-67 mostraram maior RAF no RR 70%.

Os resultados obtidos demonstraram que, de uma forma geral, a aplicação de bioestimulantes não teve uma influência significativa em nenhum dos parâmetros avaliados em plantas de morangueiro nos diferentes RR. Estes resultados são semelhantes aos obtidos num estudo, em tomateiro, levado a cabo por Crouch e Van Staden (1992), em que não foram observados efeitos significativos da aplicação foliar de bioestimulantes, em condições hídricas normais. No entanto, Ali *et al.* (2019), Kasim *et al.* (2015) e Di-Vaio *et al.* (2021) observaram um efeito positivo na atividade vegetativa de tomateiros e pimenteiros, plantas de trigo e macieiras, após a aplicação de bioestimulantes à base de algas marinhas. Por outro lado, Klamkowski e Treder (2008) verificaram que, em situação de seca, a área foliar dos morangueiros foi consideravelmente reduzida e que os comprimentos das raízes não sofreram qualquer alteração significativa. Apesar disso, no presente estudo, foi observada uma influência positiva da aplicação dos bioestimulantes na RAF, nos diferentes RR, contrariando esta tendência de redução da área foliar em plantas sob stresse hídrico.

A composição dos bioestimulantes ou a concentração utilizada, podem explicar os resultados obtidos em relação ao desenvolvimento vegetativo do morangueiro. Segundo Rayorath *et al.* (2008), a origem das algas e a sua época de colheita podem promover uma variação da sua composição química, o que pode afetar o seu modo de atuação. De facto, diversos autores demonstraram a possibilidade de se obterem resultados distintos no comportamento das plantas após a aplicação do mesmo bioestimulante, em diferentes concentrações (Kumari *et al.*, 2011; Abad *et al.*, 2019; do Rosário Rosa *et al.*, 2021).

Tabela 4. Análise de crescimento (comprimento e biomassa da raiz, comprimento e biomassa da parte aérea e razão de área foliar (RAF)) efetuada no final do ensaio, em plantas de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).

Regime Rega (RR)	Tratamento (T)	Comprimento		Biomassa Raiz (g)	Comprimento P. Aérea (cm)		Biomassa P. Aérea (g)	RAF (dm ² g ⁻¹)
		Raiz (cm)			Aérea (cm)			
30%	Controlo	32,87 ± 4,06 Aa		4,45 ± 0,69 Aa	25,37 ± 4,81 Aa	8,05 ± 1,84 Aa	49,86 ± 7,88 Aa	
	N19-67	33,53 ± 3,15 Aa		4,15 ± 2,17 Aa	19,77 ± 4,26 Aa	7,23 ± 2,10 Aa	44,68 ± 14,51 Aa	
	N19-68	30,73 ± 8,36 Aa		2,93 ± 0,89 Aa	22,00 ± 5,91 Aa	7,11 ± 0,67 Aa	58,86 ± 9,47 Ab	
30-70%	Controlo	36,43 ± 3,33 Aa		9,32 ± 4,95 Aa	25,13 ± 2,17 Ba	11,57 ± 2,44 Ab	48,14 ± 10,30 Aa	
	N19-67	40,37 ± 7,92 Aa		6,11 ± 4,93 Aa	20,33 ± 3,29 Aa	8,02 ± 4,08 Aa	51,99 ± 10,56 Aa	
	N19-68	35,65 ± 3,87 Aa		8,29 ± 4,95 Ab	23,97 ± 1,56 ABa	8,72 ± 3,64 Aa	37,33 ± 9,44 Aa	
70%	Controlo	34,07 ± 5,52 Aa		6,17 ± 4,27 Aa	21,07 ± 2,64 Aa	7,03 ± 2,45 Aa	48,07 ± 11,97 Aa	
	N19-67	38,67 ± 7,12 Aa		3,11 ± 1,76 Aa	20,03 ± 3,90 Aa	5,99 ± 2,96 Aa	58,47 ± 11,98 Aa	
	N19-68	37,42 ± 5,67 Aa		2,60 ± 0,92 Aa	19,12 ± 2,36 Aa	5,41 ± 1,93 Aa	56,72 ± 10,18 Ab	

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=6). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.3. Qualidade dos frutos

3.3.1. Biometria

Em relação aos parâmetros biométricos analisados (peso, altura, diâmetro maior e menor) (Tabela 5), não se verificaram diferenças significativas entre qualquer um dos tratamentos aplicados, em nenhum dos RR avaliados. Apesar disso, dentro do RR 30%, as plantas tratadas com N19-68 apresentaram frutos ligeiramente maiores e mais pesados. Por outro lado, no RR 30-70% foram as plantas tratadas com o bioestimulante N19-67 que revelaram frutos com valores médios mais elevados em qualquer um dos parâmetros estudados. No RR 70%, os frutos das plantas tratadas com N19-68 revelaram, de uma forma geral, frutos maiores e mais pesados.

Relativamente ao efeito da rega nos diferentes tratamentos, os resultados ao nível do peso, altura e diâmetro menor também não revelaram significância estatística. Porém, tanto as plantas Controlo como as plantas tratadas com N19-68 produziram frutos com maior peso, altura e diâmetro menor no RR 70% enquanto que, os frutos das plantas com aplicação de N19-67 atingiram os seus maiores valores nesses parâmetros no RR 30-70%. Em contrapartida, os frutos produzidos pelas plantas Controlo atingiram valores médios mais elevados de diâmetro maior no RR 70%, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação aos frutos produzidos pelas plantas Controlo no RR 30% ($P=0,004$). Entre as plantas tratadas com N19-67, foi no RR 30-70% que os frutos produzidos atingiram valores mais elevados de diâmetro maior, existindo diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas tratadas com N19-67 no RR 30% ($P=0,022$). Das plantas tratadas com N19-68, foi no RR 70% que os frutos atingiram um maior valor médio de diâmetro maior, apesar de os resultados não apresentarem significância estatística.

Perante isto, apesar de não apresentarem significância estatística, os resultados demonstraram que os bioestimulantes tiveram uma ligeira influência nos parâmetros biométricos dos morangos, principalmente, em plantas que se mantiveram ou passaram por condições de menor disponibilidade hídrica (30 e 30-70% da CC). Tal como verificado no presente estudo, também Mzibra *et al.* (2021) e Di-Vaio *et al.* (2021) observaram uma influência positiva da aplicação de bioestimulantes com base em extratos de algas nas características biométricas, essencialmente ao nível do peso fresco e do diâmetro do tomate e da maçã, respetivamente. Parkash (2020) observou que a diminuição da disponibilidade hídrica resultou na diminuição significativa da altura, do diâmetro e do peso do pepino, contrariamente

aos resultados obtidos por Şimşek *et al.* (2005) que não observaram qualquer influência da rega na sua altura e no seu diâmetro. Por outro lado, Adak *et al.* (2018) no seu estudo, verificou que a exposição do morangueiro a condições de stresse hídrico foi determinante para a redução do peso fresco dos seus frutos.

Tabela 5. Parâmetros biométricos (peso fresco, altura, diâmetro menor (Dm) e diâmetro maior (DM)) dos frutos de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).

Regime Rega (RR)	Tratamento (T)	Peso Fresco (g)	Altura (mm)	Dm (mm)	DM (mm)
30%	Controlo	4,36 ± 2,01 Aa	21,86 ± 5,50 Aa	18,31 ± 3,15 Aa	19,90 ± 3,10 Aa
	N19-67	5,68 ± 2,58 Aa	26,34 ± 6,14 Aa	19,38 ± 3,42 Aa	21,28 ± 3,50 Aa
	N19-68	5,71 ± 2,05 Aa	26,42 ± 4,39 Aa	20,13 ± 3,77 Aa	22,00 ± 3,14 Aa
30-70%	Controlo	4,72 ± 2,66 Aa	22,79 ± 4,96 Aa	18,27 ± 3,90 Aa	20,78 ± 4,33 Aab
	N19-67	8,76 ± 5,21 Aa	29,66 ± 7,76 Aa	23,09 ± 5,72 Aa	25,18 ± 5,16 Ab
	N19-68	6,58 ± 4,20 Aa	25,89 ± 6,80 Aa	21,24 ± 4,62 Aa	22,73 ± 4,99 Aa
70%	Controlo	9,03 ± 5,31 Aa	28,99 ± 9,91 Aa	23,45 ± 5,40 Aa	26,51 ± 4,46 Ab
	N19-67	7,24 ± 2,99 Aa	28,90 ± 5,91 Aa	21,83 ± 2,96 Aa	23,77 ± 2,54 Aab
	N19-68	9,33 ± 4,30 Aa	30,05 ± 5,87 Aa	23,73 ± 4,07 Aa	25,75 ± 5,36 Aa

Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.3.2. Sólidos solúveis totais (°Brix), pH e acidez titulável

A partir do momento em que se iniciou a colheita dos frutos para a realização destas análises, verificou-se que tanto as plantas tratadas com N19-68 no RR 30% como as plantas Controlo no RR 30-70% não produziram mais fruto (a partir da 4ª e 5ª aplicações, respetivamente), tal como é possível observar no número total de frutos por tratamento (Figura 9 e Tabela 6). De salientar ainda que, todos os frutos colhidos anteriormente em cada um dos tratamentos foram submetidos à análise biométrica e congelados a -80°C para posteriores análises fitoquímicas do projeto NASPA, no qual esta dissertação de mestrado está inserida. Assim, os resultados referentes aos parâmetros químicos analisados nos frutos de plantas de morangueiro estão presentes na Tabela 6.

Em relação aos sólidos solúveis totais (SST), os morangos provenientes de plantas tratadas com N19-67 no RR 30% apresentaram um teor significativamente mais elevado do que

os frutos das plantas Controlo ($P= 0,001$). Tanto no RR 30-70% como no RR 70%, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. No entanto, no RR 30-70% os morangos de plantas tratadas com N19-68 apresentaram um teor em sólidos solúveis totais ligeiramente superior aos morangos de plantas tratadas com N19-67. Dentro do RR 70%, os frutos das plantas Controlo revelaram ter um teor de sólidos solúveis totais tendencialmente mais elevado do que os frutos de plantas tratadas com bioestimulante. Entre as plantas tratadas com N19-67, foi no RR 30% que os frutos atingiram um valor mais elevado de sólidos solúveis totais, existindo diferenças significativas em relação ao RR 30-70% e ao RR 70% ($P= 0,013$ e $P= 0,015$, respetivamente). Os frutos das plantas Controlo apresentaram um teor de sólidos solúveis mais elevado no RR 70% enquanto que nas plantas tratadas com N19-68 foi no RR 30-70%, não se verificando, no entanto, diferenças estatisticamente significativas.

Relativamente ao pH dos morangos, os resultados não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos nem entre RR. Porém, no RR 30%, o pH foi ligeiramente mais elevado em frutos de plantas com aplicação de N19-67 do que em plantas Controlo, contrariamente ao que se verificou no RR 70%. Dos frutos analisados no RR 30-70%, foram os de plantas tratadas com N19-68 a apresentar maior pH. Entre os frutos analisados das plantas Controlo, foi no RR 70% que estes atingiram o seu maior valor de pH. Por outro lado, os frutos de plantas tratadas com N19-67 atingiram o seu pH máximo no RR 30% enquanto que os de plantas tratadas com N19-68 foi no RR 30-70%.

No RR 30%, a acidez titulável (AT) foi significativamente maior nos frutos provenientes das plantas tratadas com N19-67 em comparação com os frutos das plantas Controlo ($P= 0,001$). Todavia, tanto no RR 30-70% como no RR 70% não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo, no entanto, os frutos de plantas tratadas com N19-68 que apresentaram valores de acidez titulável ligeiramente maiores. Entre os frutos analisados das plantas Controlo, o valor da acidez titulável foi superior no RR 30%, verificando-se diferenças significativas em relação aos frutos do RR 70% ($P= 0,044$). O maior valor de acidez titulável atingido por frutos de plantas tratadas com N19-67 também foi atingido no RR 30%, existindo diferenças estatisticamente significativas em relação aos frutos do RR 30-70% e do RR 70% ($P= 0,031$ e $P= 0,017$, respetivamente). Por outro lado, entre os frutos das plantas tratadas com N19-68, verificou-se uma maior acidez titulável nos frutos do RR 70%, apesar das diferenças não apresentarem significância estatística.

No presente estudo, os resultados demonstraram que, no geral, a aplicação de bioestimulantes não teve uma influência significativa nos parâmetros químicos analisados nos frutos, principalmente em situações de maior disponibilidade hídrica. Estes resultados vão de encontro aos obtido por Dias (2020) que não verificou qualquer efeito significativo da aplicação destes bioestimulantes nos mesmos parâmetros analisados, no seu estudo em tomateiro. Também Di-Vaio *et al.* (2021) obtiveram resultados semelhantes, não tendo verificado qualquer efeito significativo da aplicação de bioestimulante nos sólidos solúveis totais, acidez titulável e pH na maçã. Por outro lado, Soppelsa *et al.* (2019) e Irani *et al.* (2021) em estudos com morango e uva, respetivamente, verificaram um aumento generalizado dos sólidos solúveis totais após a aplicação de bioestimulantes. No entanto, os valores mais elevados de sólidos solúveis totais, pH e de acidez titulável foram atingidos em situações de défice hídrico o que, de acordo com Barbagallo *et al.* (2008) e Birhanu e Tilahun (2010), pode ser justificado pelo aumento do teor de matéria seca dos frutos como resultado da redução do seu teor em água.

Tabela 6. Parâmetros químicos (Sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez titulável (AT)) dos frutos de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).

Regime Rega (RR)	Tratamento (T)	Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	pH	Acidez Titulável (% ácido cítrico)
30%	Controlo	9,70 ± 0,07 Aa	3,37 ± 0,39 Aa	1,66 ± 0,00 Ab
	N19-67	13,93 ± 0,25 Bb	3,89 ± 0,35 Aa	1,70 ± 0,01 Bb
	N19-68	—	—	—
30-70%	Controlo	—	—	—
	N19-67	8,17 ± 1,50 Aa	3,54 ± 0,20 Aa	1,25 ± 0,29 Aa
	N19-68	11,20 ± 2,33 Aa	3,65 ± 0,28 Aa	1,47 ± 0,23 Aa
70%	Controlo	10,40 ± 3,34 Aa	3,76 ± 0,19 Aa	1,38 ± 0,17 Aa
	N19-67	8,73 ± 2,41 Aa	3,41 ± 0,25 Aa	1,22 ± 0,09 Aa
	N19-68	9,28 ± 1,03 Aa	3,50 ± 0,21 Aa	1,50 ± 0,18 Aa

Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4. Análise foliar

3.4.1. Trocas gasosas

Os resultados obtidos na determinação das trocas gasosas estão presentes na Tabela 7. Apesar de não apresentar diferenças significativas, a taxa de transpiração (E) foi ligeiramente

superior nos morangueiros com aplicação de N19-67, em todos os RR. Por outro lado, em todos os tratamentos (Controlo, N19-67 e N19-68) verificou-se uma maior E no RR 30-70%, com diferenças significativas em relação ao RR 30% ($P= 0,021$; $P= 0,014$ e $P= 0,005$, respetivamente para cada tratamento).

A condutância estomática (gs), quer no RR 30% quer no RR 30-70%, foi aparentemente superior com a aplicação de N19-67, enquanto que, no RR 70%, as plantas Controlo apresentaram uma gs ligeiramente superior aos restantes tratamentos, não se verificando, no entanto, diferenças significativas entre tratamentos. Comparando os diferentes RR avaliados, verificou-se que as plantas Controlo obtiveram uma maior gs no RR 70% e no RR 30-70% comparativamente ao RR 30% ($P= 0,000$ e $P= 0,002$, respetivamente). Também os morangueiros com aplicação do bioestimulante N19-68 apresentaram o mesmo perfil para a gs , com os RR 30-70% e 70% a apresentarem valores significativamente mais elevados do que as plantas do RR 30% ($P= 0,002$ e $P= 0,027$, respetivamente). Por outro lado, as plantas com aplicação de N19-67 revelaram maior gs no RR 30-70% do que no RR 30% ($P= 0,028$).

A concentração de CO_2 intercelular (C_i) no RR 30% foi superior em plantas tratadas com N19-67, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em comparação com as plantas Controlo ($P= 0,038$). No RR 30-70%, as plantas de morangueiro tratadas com N19-67 e N19-68 apresentaram valores de C_i mais elevados do que as plantas Controlo, verificando-se diferenças estatisticamente significativas entre as plantas tratadas com N19-68 e as plantas Controlo ($P= 0,040$). Por outro lado, no RR 70%, os valores mais elevados de C_i foram obtidos nas plantas Controlo e tratadas com N19-67, existindo diferenças com significância estatística entre as plantas Controlo e tratadas com N19-68 ($P= 0,019$). No RR 30%, as plantas Controlo apresentaram os valores mais baixos de C_i , com diferenças significativas em relação aos restantes RR ($P= 0,002$ para o RR 30-70% e $P= 0,000$ para o RR 70%). Entre os morangueiros tratados com N19-67, os valores de C_i foram semelhantes no RR 30-70% e RR 70%, existindo diferenças estatisticamente significativas destes dois RR em relação ao RR 30%, que, à semelhança dos resultados obtidos para as plantas Controlo, apresentou também os valores mais baixos ($P= 0,003$ e $P= 0,010$, respetivamente). Em relação às plantas tratadas com o bioestimulante N19-68, foi no RR 30-70% que se verificou a C_i mais elevada, apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 30% e ao RR 70% ($P= 0,000$ e $P= 0,022$, respetivamente).

A taxa fotossintética (A) dentro do RR 30% e do RR 30-70% não apresentou diferenças com significância estatística entre os três tratamentos aplicados. No entanto, no RR 30%, a A foi ligeiramente mais elevada nos morangueiros tratados com N19-68, enquanto que no RR 30-70% as plantas tratadas com ambos os bioestimulantes apresentaram uma A tendencialmente superior à das plantas Controlo. No RR 70%, as plantas Controlo apresentaram maior A em relação aos outros tratamentos, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas tratadas com N19-68 ($P= 0,015$). A maior A entre as plantas Controlo foi obtida no RR 70%, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas sujeitas ao RR 30% ($P= 0,006$). Em plantas tratadas com N19-67, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos RR, no entanto, a maior A foi obtida no RR 30-70%. Por outro lado, a maior A do tratamento N19-68 verificou-se no RR 30-70%, apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 30% e ao RR 70% ($P= 0,006$ e $P= 0,017$, respetivamente).

Relativamente à eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), não se verificaram diferenças com significância estatística entre os diferentes tratamentos dentro dos diferentes RR. Todavia, tanto no RR 30% como no RR 70%, as plantas Controlo registaram uma A/g_s ligeiramente mais elevada do que as plantas tratadas com N19-67 e N19-68. Por outro lado, no RR 30-70% foram as plantas tratadas com N19-68 que registaram valores de A/g_s mais elevados. Tanto nas plantas Controlo como em plantas tratadas com o bioestimulante N19-67 não existiram diferenças estatisticamente significativas entre os RR. No entanto, as plantas Controlo atingiram maior A/g_s no RR 30%, enquanto que as tratadas com N19-67 atingiram o seu maior valor no RR 30-70%. Quanto às plantas tratadas com N19-68, estas atingiram maior A/g_s no RR 30%, com diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 70% ($P= 0,036$).

De um modo geral, ainda que estatisticamente não significativos, os resultados demonstram que os bioestimulantes tiveram influência nas trocas gasosas, essencialmente, em condições de menor disponibilidade hídrica. De acordo com Atkinson *et al.* (2011) e Morales *et al.* (2015) os estomas presentes nas folhas, em resposta à diminuição da disponibilidade hídrica, têm tendência a fechar de modo a reduzir a g_s e, conseqüentemente a A e a E . No presente estudo isto é possível observar-se no RR 30% em comparação com os outros RR, contudo, plantas que sempre estiveram ou passaram por situações de déficit hídrico (RR 30% e RR 30-70%) aparentam apresentar valores de E , A e g_s mais elevados comparativamente às

plantas no RR 70%. Também do Rosário Rosa *et al.* (2021) verificaram que em plantas de soja submetidas a déficit hídrico e tratadas com bioestimulante à base de extrato de algas revelaram valores mais elevados destes parâmetros, essencialmente após reidratação do solo (equivalente ao RR 30-70%). Elansary *et al.* (2016) observaram também que a aplicação de extratos de algas em folhas de *Spiraea nipponica* aumentou os valores médios de A , E e g_s em situações de irrigação reduzida, enquanto que Kałużewicz *et al.* (2017) não reconheceram qualquer efeito da aplicação de bioestimulantes em situações de seca ao nível de A e de g_s , em brócolos. Relativamente à A/g_s , apesar de não existir significância estatística, verifica-se que em situações de stresse hídrico ocorre uma melhor utilização da água por parte da planta. Isto pode ser explicado pelo facto de em condições de stresse ocorrer uma redução da g_s , diminuindo as perdas de água por transpiração e promovendo uma melhor eficiência da sua utilização por parte da planta (Warren *et al.*, 2004; Chaves *et al.*, 2009). Em relação à C_i , verifica-se que os seus valores no RR 30-70% foram superiores em plantas com aplicação dos bioestimulantes do que nas plantas Controlo, enquanto que no RR 70% foi observado o perfil contrário, com as plantas Controlo a apresentarem os valores mais elevados. Segundo do Rosário Rosa *et al.* (2021), as plantas tratadas no RR 30-70% podem ter acumulado uma C_i durante o período de carência de água, enquanto que as plantas Controlo no RR 70% podem ter recuperado dos danos bioquímicos causados pelo stresse hídrico aplicado.

Tabela 7. Trocas gasosas foliares (*E*- taxa de transpiração, *gs*- condutância estomática, *C_i*- concentração do CO₂ intercelular, *A*- taxa fotossintética, *A/g_s*- eficiência intrínseca do uso da água) avaliadas em folha de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).

Regime Rega (RR)	Tratamento (T)	<i>E</i> (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	<i>gs</i> (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	<i>C_i</i> (μmol.mol ⁻¹)	<i>A</i> (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	<i>A/g_s</i> (μmol.mol ⁻¹)
30%	Controlo	0,42 ± 0,25 Aa	19,37 ± 12,40 Aa	347,93 ± 181,05 Aa	2,89 ± 1,29 Aa	193,21 ± 106,78 Aa
	N19-67	0,44 ± 0,15 Aa	20,38 ± 6,92 Aa	616,44 ± 97,59 Ba	2,25 ± 1,89 Aa	99,53 ± 62,92 Aa
	N19-68	0,43 ± 0,22 Aa	18,25 ± 11,90 Aa	592,87 ± 132,96 ABa	3,37 ± 2,54 Aa	184,65 ± 65,17 Ab
30-70%	Controlo	1,10 ± 0,37 Ab	58,87 ± 22,49 Ab	822,72 ± 130,06 Ab	8,74 ± 4,45 Aab	145,99 ± 50,91 Aa
	N19-67	1,35 ± 0,50 Ab	83,61 ± 39,85 Ab	999,74 ± 129,61 ABb	10,11 ± 6,63 Aa	131,28 ± 87,23 Aa
	N19-68	1,12 ± 0,30 Ab	61,82 ± 17,66 Ab	1082,69 ± 115,80 Bc	10,04 ± 2,64 Ab	164,28 ± 24,78 Aab
70%	Controlo	1,05 ± 0,27 Ab	80,43 ± 19,32 Ab	1085,66 ± 130,73 Bb	14,53 ± 5,03 Bb	181,44 ± 45,32 Aa
	N19-67	1,12 ± 0,42 Aab	70,02 ± 34,14 Aab	927,95 ± 140,54 ABb	8,35 ± 5,68 ABa	123,80 ± 80,26 Aa
	N19-68	0,73 ± 0,12 Aab	46,91 ± 6,76 Ab	838,10 ± 47,51 Ab	4,39 ± 1,83 Aa	93,26 ± 32,52 Aa

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=4). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4.2. Fuga de eletrólitos

Dentro do RR 30%, verificou-se uma maior fuga de eletrólitos (Figura 10) nas plantas Controlo (26,46%), existindo diferenças estatisticamente significativas em relação aos morangueiros com aplicação de N19-67 (16,88%) e de N19-68 (15,13%) ($P= 0,007$ e $P= 0,003$, respetivamente). Apesar de os resultados não apresentarem significância estatística, tanto no RR 30-70% como no RR 70%, o tratamento N19-67 foi o que apresentou uma maior fuga de eletrólitos.

Relativamente às plantas Controlo, verificou-se uma fuga de eletrólitos significativamente superior no RR 30% comparativamente ao RR 30-70% e ao RR 70% ($P= 0,044$; $P= 0,004$, respetivamente). Em relação às plantas com aplicação de N19-67 e N19-68, apesar de não apresentarem diferenças estatisticamente significativas, revelaram uma percentagem de fuga de eletrólitos no RR 30-70% ligeiramente superior ao RR 30% e ao RR 70%.

Em suma, através da observação da Figura 10, verifica-se que os morangueiros sem aplicação de bioestimulantes (Controlo) e com o RR mais baixo (30%) apresentaram uma maior fuga de eletrólitos, mostrando o potencial papel protetor dos bioestimulantes contra os danos membranares, em situações de stresse hídrico. De facto, de acordo com Langaro *et al.* (2014) o stresse hídrico pode provocar danos celulares que resultam no aumento da permeabilidade das membranas, podendo provocar a fuga de eletrólitos dos compartimentos celulares. À semelhança dos resultados obtidos neste trabalho, El-Sharkawy *et al.* (2017) também verificaram que a aplicação de extrato de algas marinhas sob situações de stresse salino em folhas de alfalfa resultou numa menor fuga de eletrólitos. À semelhança dos resultados obtidos neste trabalho, El-Sharkawy *et al.* (2017) também verificaram que a aplicação de extrato de algas marinhas sob situações de stresse salino em folhas de alfalfa resultou numa menor fuga de eletrólitos. O mesmo foi observado por El-Mageed *et al.* (2018) que verificaram que a fuga de eletrólitos em folhas de abóbora foi reduzida após a aplicação de um bioestimulante em relação ao controlo (água).

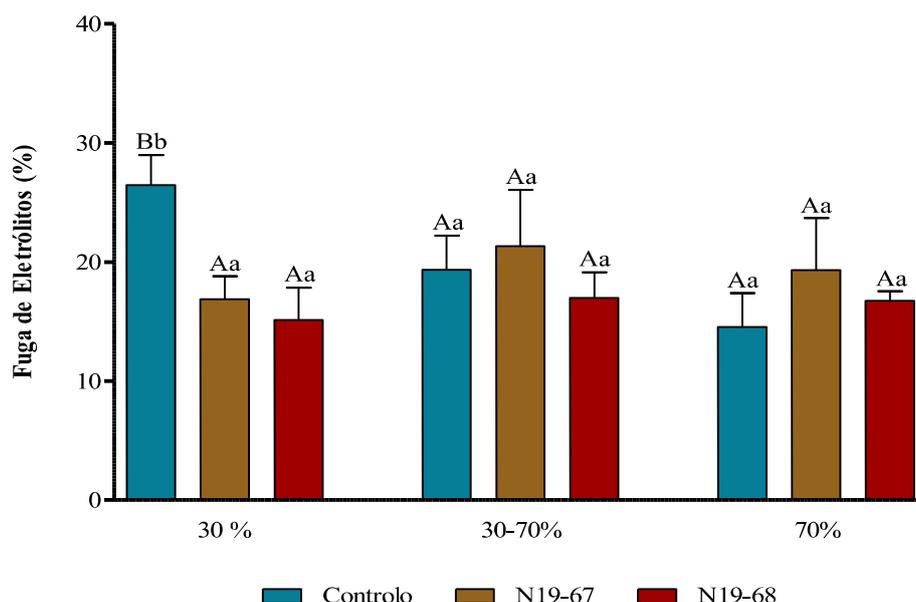


Figura 10. Fuga de eletrólitos (%) avaliada em folha de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4.3. Conteúdo relativo em água

No que diz respeito ao conteúdo relativo em água (RWC) (Figura 11), no RR 30% as plantas de morangueiro tratadas com N19-67 (77,60%) e N19-68 (87,18%) registaram um conteúdo relativo em água significativamente mais elevado do que o Controlo (42,01%) ($P = 0,041$; $P = 0,015$, respetivamente). Tanto no RR 30-70% como no RR 70% observou-se um comportamento semelhante das plantas em todos os tratamentos, não existindo diferenças estatisticamente significativas.

As plantas Controlo mantidas no RR 30-70% e no RR 70% apresentaram valores de RWC estatisticamente superiores em relação às plantas Controlo do RR 30% ($P = 0,000$; $P = 0,000$, respetivamente). Por outro lado, os morangueiros tratados com N19-67 e com N19-68 não apresentaram diferenças significativas entre os três RR, sendo que os valores de RWC obtidos nas plantas do RR 30-70% e do RR 70% foram ligeiramente superiores.

Assim sendo, observando o gráfico, verifica-se que quanto maior o RR maior foi o RWC em qualquer um dos tratamentos aplicados. Xu e Leskovar (2015) e Anjorin *et al.* (2016) também observaram que o RWC, em folhas de espinafre e de milho, aumentava à medida que

os níveis de rega aumentavam. As folhas de morangueiro em situação de conforto hídrico apresentaram valores de RWC semelhantes em qualquer um dos tratamentos. No entanto, em situações de carência hídrica, a aplicação dos bioestimulantes N19-67 e N19-68 proporcionou um aumento do RWC, mostrando mais uma vez a importância da aplicação destes bioestimulantes em situações de stresse hídrico. Diversos autores também verificaram que, em folhas de alfalfa e espinafre, o RWC foi sempre mais elevado após a aplicação de extratos de algas marinhas, principalmente em plantas sob situações de stresse salino e de seca, respectivamente (Xu e Leskovar, 2015; El-Sharkawy *et al.*, 2017).

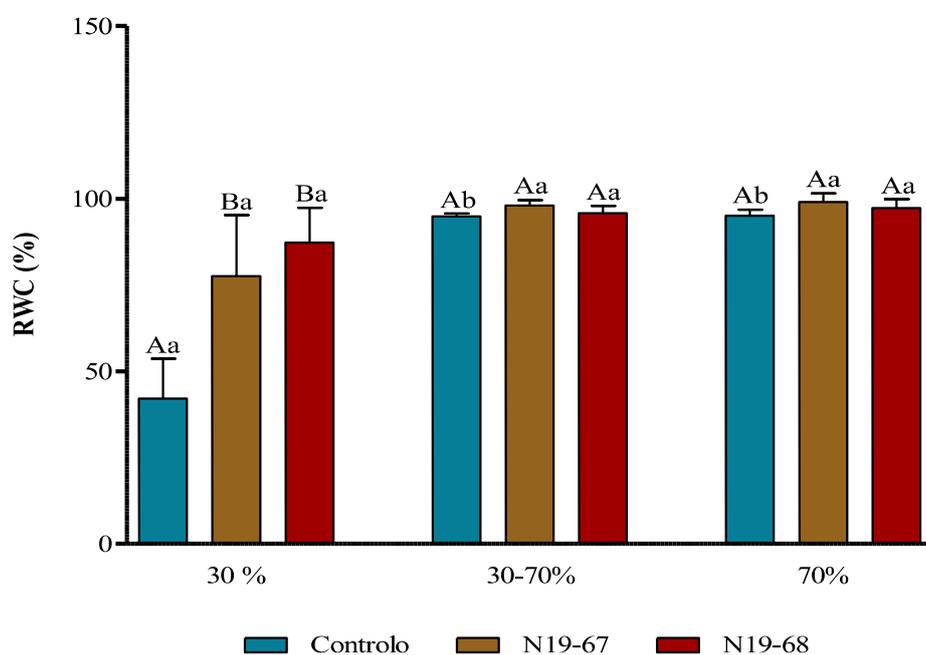


Figura 11. Conteúdo relativo em água (%) nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três regimes de rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão ($n=3$). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4.4. Pigmentos fotossintéticos e metabolitos foliares

3.4.4.1. Pigmentos fotossintéticos

Nos resultados relativos à concentração de pigmentos fotossintéticos quantificados (Cl_a , Cl_b , Cl_{total} e $Carot_{Total}$) (Tabela 8), tanto no RR 30% como no RR 30-70%, verificou-se que as plantas tratadas com N19-67 apresentaram uma concentração de Cl_a , Cl_b e Cl_{total} ligeiramente superior à das plantas Controlo e tratadas com N19-68, apesar de as diferenças não apresentarem significância estatística. No entanto, no RR 30%, a concentração de

Carot.*Totais* em plantas com aplicação de bioestimulantes N19-67 e N19-68 foi semelhante entre si e significativamente superior à das plantas Controlo ($P= 0,008$; $P= 0,041$, respetivamente). Por outro lado, a concentração de Carot.*Totais* em plantas sujeitas ao RR 30-70% foi semelhante em todos os tratamentos, não existindo diferenças significativas entre os resultados. As plantas no RR 70% não apresentaram diferenças com significância estatística, no entanto, apresentaram maior concentração de Cl_a , Cl_b e Cl_{total} quando tratadas com N19-68 e concentrações de Carot.*Totais* semelhantes em todos os outros tratamentos.

Em relação aos RR, as plantas Controlo sujeitas ao RR 30-70% apresentaram maior concentração de Cl_a , Cl_b e Cl_{total} do que no RR 30% e no RR 70%, apesar de as diferenças não serem estatisticamente significativas. No entanto, em relação à concentração de Carot.*Totais*, as plantas Controlo no RR 30-70% foram as que apresentaram maior concentração, com diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 30% ($P= 0,043$). Tanto as plantas tratadas com N19-67 como com N19-68 não apresentaram resultados estatisticamente significativos em qualquer RR. No entanto, em plantas tratadas com N19-67, as concentrações de Cl_a , Cl_b , Cl_{total} e Carot.*Totais* no RR 30% e no RR 30-70% são semelhantes e ligeiramente superiores às que se verificaram no RR 70%. Em plantas tratadas com N19-68 a concentração de Cl_a , Cl_b e Cl_{total} no RR 30% foi semelhante à que se verificou no RR 70% e ligeiramente superior à observada no RR 30-70%. Já a concentração de Carot.*Totais* foi semelhante no RR 30% e RR 30-70% e tendencialmente mais baixa no RR 70%.

Apesar da maioria das diferenças observadas não apresentar significância estatística, os tratamentos com os bioestimulantes N19-67 e N19-68 influenciaram positivamente a concentração dos pigmentos fotossintéticos em todos os RR. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Dias (2020) num estudo em tomateiro, onde se procedeu à aplicação dos mesmos bioestimulantes. Esta tendência vai de encontro a um estudo desenvolvido por Al-Shatri *et al.* (2020), em que os autores verificaram uma maior concentração de clorofila na folha de morangueiro após a aplicação de extratos de algas em plantas em conforto hídrico. Também Shehata *et al.* (2011) e Murtic *et al.* (2018) observaram que a aplicação de extratos de algas contribuiu para o aumento da concentração de clorofila e carotenoides em folhas de aipo e tomate. De acordo com Blunden *et al.* (1996), a aplicação de extratos de algas permite obter maior concentração de clorofila pois estes contêm betaínas, capazes de abrandar a degradação da clorofila ao invés de aumentar o seu conteúdo.

Tabela 8. Concentrações de pigmentos fotossintéticos nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%; 30-70% e 70% da CC) e após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68).

Regime Rega (RR)	Tratamento (T)	Cl _a (mg g ⁻¹ PF)	Cl _b (mg g ⁻¹ PF)	Cl _{total} (mg g ⁻¹ PF)	Carot.Totais (mg g ⁻¹ PF)
30%	Controlo	0,87 ± 0,16 Aa	0,38 ± 0,07 Aa	1,25 ± 0,23 Aa	0,21 ± 0,03 Aa
	N19-67	1,29 ± 0,26 Aa	0,52 ± 0,09 Aa	1,81 ± 0,36 Aa	0,37 ± 0,04 Ba
	N19-68	1,16 ± 0,15 Aa	0,49 ± 0,07 Aa	1,65 ± 0,22 Aa	0,34 ± 0,05 Ba
30-70%	Controlo	1,13 ± 0,31 Aa	0,46 ± 0,12 Aa	1,59 ± 0,43 Aa	0,36 ± 0,11 Ab
	N19-67	1,27 ± 0,08 Aa	0,54 ± 0,03 Aa	1,82 ± 0,11 Aa	0,37 ± 0,05 Aa
	N19-68	1,05 ± 0,09 Aa	0,44 ± 0,04 Aa	1,49 ± 0,13 Aa	0,33 ± 0,02 Aa
70%	Controlo	1,04 ± 0,16 Aa	0,41 ± 0,07 Aa	1,48 ± 0,22 Aa	0,29 ± 0,04 Aab
	N19-67	1,05 ± 0,23 Aa	0,42 ± 0,10 Aa	1,47 ± 0,33 Aa	0,29 ± 0,07 Aa
	N19-68	1,14 ± 0,22 Aa	0,45 ± 0,10 Aa	1,59 ± 0,32 Aa	0,30 ± 0,04 Aa

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=3). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4.4.2. Compostos fenólicos totais

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais nas folhas de morangueiro (Figura 12) verificou-se que, no RR 30%, as plantas tratadas com N19-67 (21,22 mg g⁻¹ PF) apresentaram um valor médio destes compostos mais elevado, apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas Controlo (12,18 mg g⁻¹ PF) ($P= 0,028$). No RR 30-70%, foram as plantas tratadas com N19-68 (24,15 mg g⁻¹ PF) que apresentaram maior teor em compostos fenólicos totais comparativamente às plantas Controlo (24,49 mg g⁻¹ PF) e às plantas tratadas com N19-67 (16,10 mg g⁻¹ PF), apresentando diferenças estatisticamente significativas com as plantas tratadas com N19-67 ($P= 0,028$). No RR 70%, verificou-se que, as plantas Controlo (19,51 mg g⁻¹ PF) e tratadas com N19-68 (18,70 mg g⁻¹ PF) apresentaram um teor em compostos fenólicos totais semelhante, e significativamente superior ao das plantas tratadas com N19-67 (7,67 mg g⁻¹ PF) ($P= 0,001$ e $P= 0,001$, respetivamente).

As plantas Controlo no RR 30-70% apresentaram um teor em compostos fenólicos totais significativamente maior em comparação com o mesmo tratamento no RR 30% ($P= 0,036$). Entre plantas tratadas com o bioestimulante N19-67, verificou-se um teor em compostos fenólicos totais significativamente superior no RR 30% em relação ao RR 30-70% ($P= 0,042$).

e ao RR 70% ($P= 0,000$). Por fim, apesar de não existirem diferenças estatisticamente significativas entre plantas tratadas com N19-68 em cada RR, verificaram-se valores mais elevados de compostos fenólicos totais no RR 30-70%.

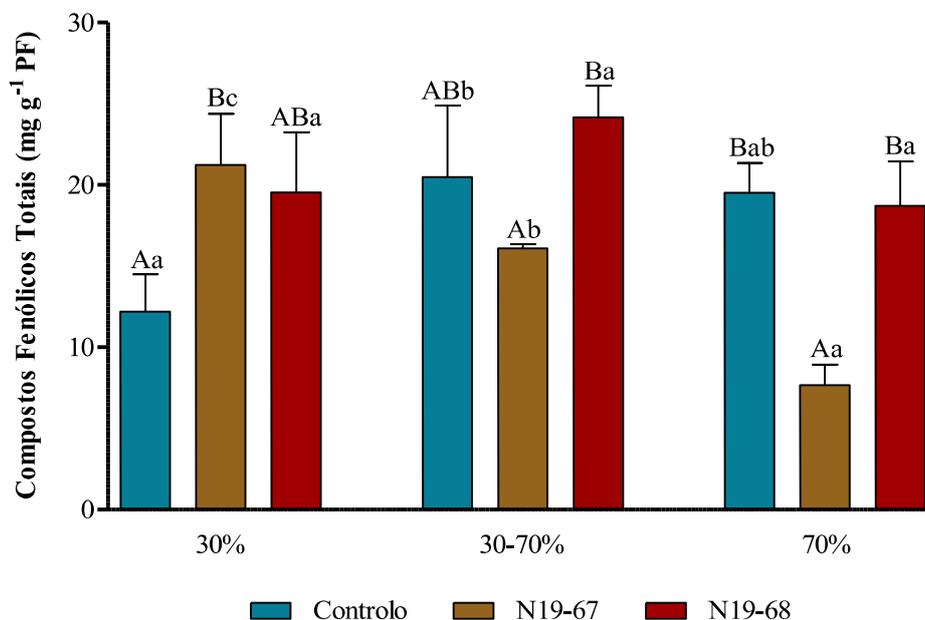


Figura 12. Teor em compostos fenólicos totais nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão ($n=3$). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

3.4.4.2.1. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante (Figura 13) dos morangueiros submetidos ao RR 30% foi estatisticamente superior nas plantas tratadas com o bioestimulante N19-67 (84,6 %), em relação às plantas Controlo (56,6%) ($P= 0,031$). Tanto nos morangueiros sujeitos ao RR 30-70% como ao RR 70%, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos aplicados. No entanto, no RR 30-70%, as plantas Controlo (84,7%) e as plantas com N19-68 (79,2%) apresentaram uma atividade antioxidante ligeiramente superior à das plantas com N19-67 (68,0%) enquanto que, no RR 70% a atividade antioxidante foi semelhante em todos os tratamentos (Controlo – 68,1%; N19-67 – 64,9%; N19-68 – 66,1%).

As plantas Controlo sujeitas ao RR 30-70% apresentaram uma maior atividade antioxidante do que as plantas mantidas nos restantes RR, sendo que foram verificadas diferenças significativas em relação ao RR 30% ($P= 0,047$). Entre as plantas submetidas aos

bioestimulantes N19-67 e N19-68 não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os vários RR aplicados, embora dentro das plantas tratadas com N19-67 se tenha verificado maior atividade antioxidante em plantas sujeitas ao RR 30% enquanto que, dentro das plantas tratadas com N19-68 observou-se uma maior atividade antioxidante no RR 30-70%.

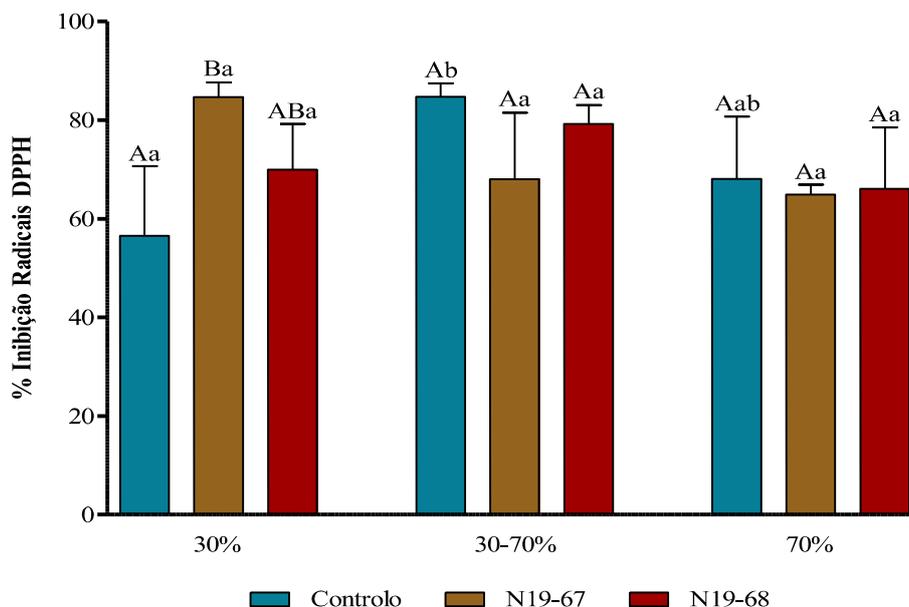


Figura 13. Atividade antioxidante nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

No presente estudo, a aplicação foliar de bioestimulantes proporcionou um aumento do teor em compostos fenólicos e da atividade antioxidante, principalmente em condições de défice hídrico. Segundo Murtic *et al.* (2018) e Pacheco *et al.* (2019), o aumento do conteúdo de compostos fenólicos pode estar relacionado com o facto da planta iniciar uma resposta ao stresse induzido, assim como com o facto de a alga *Ascophyllum nodosum* apresentar na sua constituição substâncias capazes de alterar o metabolismo secundário das plantas. Adak *et al.* (2018) e Ordóñez-Díaz *et al.* (2021) também observaram que, a exposição de morangueiros a situações de stresse hídrico e abiótico (ex.: salinidade), respetivamente, influenciou positivamente a síntese de compostos fenólicos enquanto que, Lola-Luz *et al.* (2013) concluíram que a aplicação regular de extratos de algas marinhas pode aumentar significativamente o conteúdo fenólico total em plantas de repolho. Por outro lado, em plantas em conforto hídrico, apesar de existirem diferenças significativas entre os bioestimulantes N19-

67 e N19-68, a sua aplicação, em geral, não influenciou a concentração de compostos fenólicos. Estes resultados são contrários aos obtidos por Mansori *et al.* (2019), que verificaram um aumento dos compostos fenólicos nas folhas de sálvia em situações de conforto hídrico, após a aplicação de extratos de *Ascophyllum nodosum*.

Comparando os resultados obtidos para os compostos fenólicos totais e para a atividade antioxidante, foi verificado um perfil semelhante entre estes dois parâmetros, tanto a nível do RR como entre os tratamentos. Isto pode ser explicado pelo facto de os compostos fenólicos serem importantes metabolitos secundários sintetizados pelas plantas, comportando-se como o principal recurso antioxidante encontrado nas culturas hortícolas (Elansary *et al.*, 2016). Tal como no teor em compostos fenólicos totais, a aplicação dos bioestimulantes N19-67 e N19-68 resultou também num aumento significativo da atividade antioxidante no RR 30% em relação ao controlo, sendo que esta influência não foi tão notória nos RR de maior disponibilidade hídrica.

Apesar de existir uma estreita relação entre o perfil dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante, os morangueiros tratados com N19-67 e sujeitos ao RR 70% são uma exceção, uma vez que apresentaram uma baixa quantidade de compostos fenólicos e uma elevada atividade antioxidante, embora mais baixa do que os restantes tratamentos. Isto pode ocorrer devido ao facto de ter sido realizada a extração de compostos fenólicos totais em vez de individuais, pelo que não sabemos quais os compostos fenólicos que estão presentes em maior ou menor quantidade em cada amostra. Ou seja, pode ter ocorrido a extração de compostos com uma estrutura única e com elevada ação quelante nas plantas tratadas com N19-67 e sujeitas ao RR 70%, em que as suas propriedades de oxidação-redução permitam que ajam como agentes redutores (com capacidade de eliminar radicais livres), resultando numa elevada atividade antioxidante (por exemplo ácido ascórbico, taninos e flavonoides) (Sadeghi *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos nestes parâmetros podem ser indício de que o défice hídrico imposto em conjunto com a aplicação de bioestimulantes neste ensaio foi suficiente para despoletar o aumento significativo da síntese de compostos fenólicos e consequentemente da atividade antioxidante.

3.4.4.3. Açúcares solúveis e amido

Dentro das plantas de morangueiro no RR 70%, as que apresentaram maior concentração de açúcares solúveis (Figura 14) foram as plantas Controlo (7,27 mg g⁻¹ PF), verificando-se diferenças estaticamente significativas em relação às plantas com aplicação de N19-67 (4,87 mg g⁻¹ PF) ($P= 0,029$). Em relação às plantas sujeitas ao RR 30% e ao RR 30-70%, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos. No entanto, no RR 30%, as plantas Controlo (11,78 mg g⁻¹ PF) apresentaram um ligeiro aumento do teor de açúcares solúveis enquanto que, no RR 30-70%, o maior conteúdo em açúcares foi observado nas plantas com aplicação de N19-68 (8,72 mg g⁻¹ PF).

Nas plantas Controlo, observou-se uma concentração de açúcares solúveis significativamente superior no RR 30% em comparação com o RR 30-70% ($P= 0,010$) e com o RR 70% ($P= 0,008$). Os morangueiros com aplicação de N19-67 apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre todos os RR, verificando-se uma maior concentração de açúcares solúveis no RR 30% relativamente ao RR 30-70% ($P= 0,010$) e ao RR 70% ($P= 0,000$). Em relação às plantas tratadas com N19-68, foi no RR 30% que se verificou um teor mais elevado de açúcares solúveis, existindo diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 70% ($P= 0,013$).

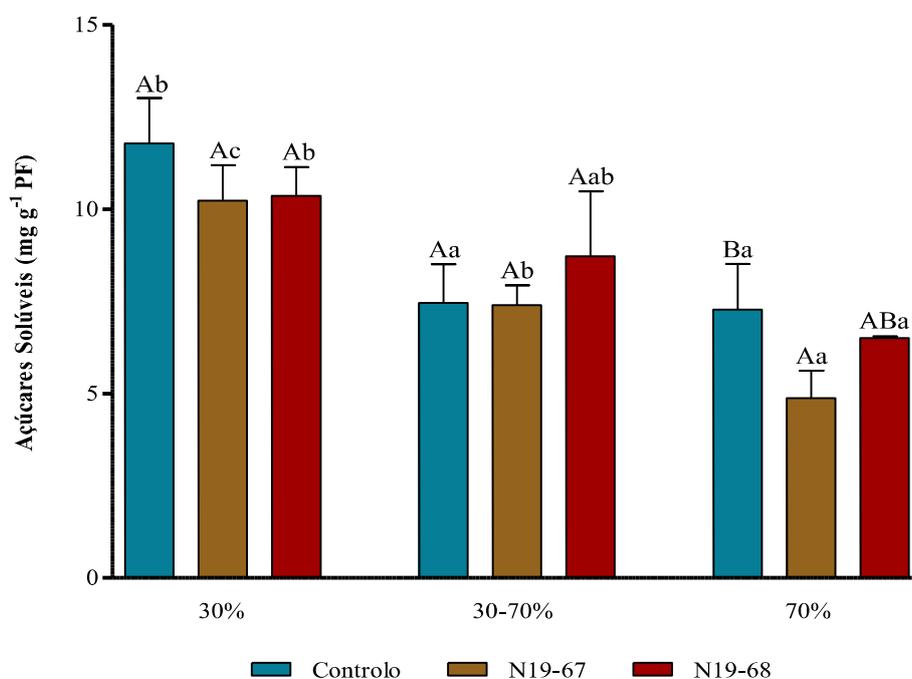


Figura 14. Teor de açúcares solúveis nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão (n=3). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas

($P < 0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

Relativamente aos teores de amido (Figura 15), dentro das plantas sujeitas ao RR 70%, as plantas Controlo ($7,39 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$) apresentaram um teor significativamente superior ao das plantas com N19-68 ($5,34 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$) ($P = 0,005$) e muito superior ao das plantas com N19-67 ($2,84 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$) ($P = 0,000$). Por outro lado, tanto em plantas sujeitas ao RR 30% como ao RR 30-70% não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos, apesar dos teores de amido no RR 30-70% terem sido ligeiramente superiores aos observados em plantas no RR 30%.

Em relação às plantas Controlo, aquelas que apresentaram teores de amido mais elevados encontravam-se no RR 70%, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação às plantas sujeitas ao RR 30% ($P = 0,000$) e ao RR 30-70% ($P = 0,001$). As plantas com aplicação de N19-67 no RR 30% e no RR 30-70% apresentaram concentrações de amido semelhantes, verificando-se diferenças estatisticamente significativas em relação ao RR 70% ($P = 0,024$ e $P = 0,011$, respetivamente). Quanto aos morangueiros com aplicação de N19-68, observou-se que os teores de amido no RR 30-70% e no RR 70% foram semelhantes entre si e ligeiramente superiores aos teores registados no RR 30%, embora não se tenham observado diferenças significativas entre os vários RR.

Perante os resultados obtidos verificou-se que as plantas com bioestimulante N19-67 responderam melhor em situações de stresse hídrico, enquanto que com o bioestimulante N19-68, os teores de amido foram semelhantes entre os diferentes RR.

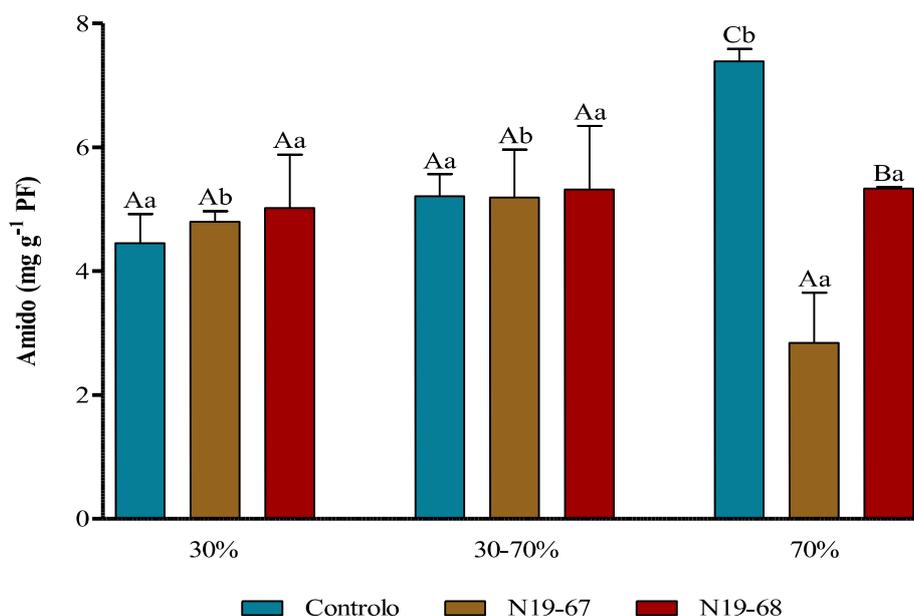


Figura 15. Teor de amido nas folhas de morangueiro (cv. Diamante) nos três Regimes de Rega (30%, 30-70% e 70% da CC) após a aplicação dos tratamentos foliares (Controlo, N19-67 e N19-68). Valores expressos como média \pm desvio padrão ($n=3$). Letras maiúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre tratamentos dentro de cada Regime de Rega; letras minúsculas diferentes correspondem a diferenças significativas ($P<0,05$) entre Regimes de Rega, para o mesmo tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

De um modo geral, os tratamentos com bioestimulantes não influenciaram nem o teor de açúcares solúveis nem de amido nas folhas de morangueiro, exceto nas plantas sujeitas a RR 70%. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Mihálka *et al.* (2020), que não verificaram nenhum efeito claro no teor de açúcares após a aplicação de estimulantes em morangueiros, contrariamente aos resultados obtidos por Kumari *et al.* (2011) que observaram que a aplicação de extratos de algas estimulava processos biológicos responsáveis pelo aumento de hidratos de carbono em folhas de tomateiro. No presente estudo também se verificou que as concentrações mais elevadas de açúcares solúveis foram obtidas em situações de stresse hídrico o que, segundo Jones *et al.* (1980) e Anjorin *et al.* (2016) pode ser justificado pelo facto nestas circunstâncias ocorrer a degradação (hidrólise) do amido resultando no aumento dos açúcares solúveis. Por outro lado, a maior concentração de amido foi obtida nas plantas em conforto hídrico (Controlo 70%). Estes resultados estão em concordância com o que Épron e Dreyer (1996) observaram visto que, no seu estudo, carvalhos submetidos a condições de stresse hídrico revelaram uma redução da concentração de amido nas folhas. Para além destes autores, também Anjorin *et al.* (2016) verificaram um aumento ao nível da concentração de amido em plantas de milho quando submetidas a situações de disponibilidade hídrica.

4. Conclusão

Com a realização deste estudo foi possível concluir que a aplicação de bioestimulantes à base de extratos de algas (*Ascophyllum nodosum*) não apresentou efeitos significativos no desenvolvimento e crescimento vegetativo do morangueiro, independentemente do regime de rega aplicado. Contudo, registou-se um aumento do número de frutos com a aplicação de bioestimulantes, em todos os regimes de rega estudados, o que poderá indicar uma ação positiva dos bioestimulantes na fase produtiva da cultura do morangueiro. Relativamente aos parâmetros qualitativos dos frutos não se registaram efeitos significativos da aplicação dos bioestimulantes nas suas características biométricas e químicas sendo, essencialmente, o regime de rega o fator responsável pelas diferenças observadas.

Nos parâmetros foliares analisados verificou-se um potencial efeito positivo da aplicação de bioestimulantes, em situações de menor disponibilidade hídrica, nas trocas gasosas, na fuga de eletrólitos, no conteúdo relativo em água, no teor de pigmentos fotossintéticos e na concentração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Todavia, as diferenças observadas entre os diferentes tratamentos não apresentaram significância estatística. Por outro lado, as diferenças verificadas no teor de açúcares solúveis e de amido foram essencialmente resultado dos diferentes RR avaliados.

Por fim, tanto em condições hídricas favoráveis como em situações de défice, foi possível observarem-se potenciais efeitos benéficos da aplicação de bioestimulantes na cultura do morangueiro (cv. Diamante), em especial nos parâmetros produtivos. Por forma a comprovar a eficácia da sua utilização, será necessária a realização de novos ensaios, com outras cultivares de morangueiro e/ou usando outras concentrações de bioestimulantes bem como outras frequências de aplicação. De salientar ainda que o facto de o ensaio ter decorrido em vasos pode ter feito com que as plantas não exibissem todo o seu potencial, não permitindo assim o aparecimento de algumas diferenças entre os vários tratamentos.

5. Referências bibliográficas

- Abad, M. S. F., B. Abedi, e S. H. Ne'emati. 2019. «Studying the Effects of Foliar Spraying of Seaweed Extract as a Bio-Stimulant on the Increase on the Yield and Quality of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.)». *World Journal of Environmental Biosciences* 8(3): 11–17.
- Abbott, J. A. 1999. «Quality Measurement of Fruits and Vegetables». *Postharvest Biology and Technology* 15(3): 207–25.
- Adak, N., H. Gubbuk, e N. Tetik. 2018. «Yield, Quality and Biochemical Properties of Various Strawberry Cultivars Under Water Stress: Properties of Strawberries Under Water Stress». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98(1): 304–11.
- Ali, O., A. Ramsubhag, e J. Jayaraman. 2019. «Biostimulatory Activities of *Ascophyllum nodosum* Extract in Tomato and Sweet Pepper Crops in a Tropical Environment» ed. Y. Lou. *PLOS ONE* 14(5): 1–19.
- Almeida, D. 2006. *II Manual de Culturas Horticolas*. 1ª. Lisboa: Editorial Presença.
- Al-Shatri, A. H. N., M. Pakyürek, e A. Yaviç. 2020. «Effect of Seaweed Application on the Vegetative Growth of Strawberry cv. Albion Grown Under Iraq Ecological Conditions». *Applied Ecology and Environmental Research* 18(1): 1211–25.
- Anjorin, F. B., S. A. Adejumo, L. Agboola, e Y. D. Samuel. 2016. «Proline, Soluble Sugar, Leaf Starch and Relative Water Contents of Four Maize Varieties in Response to Different Watering Regimes». *Cercetari Agronomice in Moldova* 49(3): 51–62.
- Antunes, L., C. Júnior, e J. Schwengber. 2016. *Morangueiro*. 1ª. Brasília, DF: Embrapa.
- Arnon, D. I. 1949. «Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*». *Plant Physiology* 24(1): 15.
- Atherton, J. G., e J. Rudich, eds. 1986. *The Tomato Crop*. 1ª ed. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Atkinson, N. J., T. P. Dew, C. Orfila, e P. E. Urwin. 2011. «Influence of Combined Biotic and Abiotic Stress on Nutritional Quality Parameters in Tomato (*Solanum lycopersicum*)». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(17): 9673–82.
- Barbagallo, R. N, M. Chisari, F. Branca, e G. Spagna. 2008. «Pectin Methylesterase, Polyphenol Oxidase and Physicochemical Properties of Typical Long-Storage Cherry Tomatoes Cultivated Under Water Stress Regime». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88(3): 389–96.
- Batista, J. G. F., e E. R. B. Batista. 2007. *Compostagem: Utilização de Compostos em Horticultura*. Universidade dos Açores-CITA. Angra do Heroísmo.
- Battacharyya, D., M. Z. Babgohari, P. Rathor, e B. Prithiviraj. 2015. «Seaweed Extracts as Biostimulants in Horticulture». *Scientia Horticulturae* 196: 39–48.
- Birhanu, K., e K. Tilahun. 2010. «Fruit Yield and Quality of Drip-Irrigated Tomato Under Deficit Irrigation». *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 10(2): 2139–51.
- Blunden, G., T. Jenkins, e Y. Liu. 1996. «Enhanced Leaf Chlorophyll Levels in Plants Treated with Seaweed Extract». *Journal of Applied Phycology* 8(6): 535–43.
- Bortolozzo, A. R., R. M. Valdebenito-Sanhueza, G. W. B. de Melo, A. Kovaleski, J. Bernardi, A. Hoffmann, M. Botton, J. de M. Freire, L. C. Braghini, L. Vargas, F. F. Calegario, N. J. Ferla e S. M. Pinent 2007. «Produção de Morangos no Sistema Semihidropônico». *Embrapa Uva e Vinho*: 24.
- Branco, J. A. R. 2011. «Projeto de Criação de uma Empresa de Produção de Morango em Substrato e em Produção Integrada». Escola Superior Agrária de Elvas - Instituto Politécnico de Portalegre. Trabalho de Projeto.

- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, e C. Berset. 1995. «Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity». *LWT - Food Science and Technology* 28(1): 25–30.
- Brito, L. M., e I. Mourão. 2012. «Características dos Substratos para Horticultura: Propriedades e Características dos Substratos». *Agrotec: revista técnico-científica agrícola* (2): 32–38.
- Brown, P., e S. Saa. 2015. «Biostimulants in Agriculture». *Frontiers in Plant Science* 6: 1–3.
- Bulgari, R., G. Cocetta, A. Trivellini, P. Vernieri e A. Ferrante 2015. «Biostimulants and Crop Responses: A Review». *Biological Agriculture & Horticulture* 31(1): 1–17.
- von Caemmerer, S., e G. D. Farquhar. 1981. «Some Relationships Between the Biochemistry of Photosynthesis and the Gas Exchange of Leaves». *Planta* 153(4): 376–87.
- Calvo, P., L. Nelson, e J. W. Kloepper. 2014. «Agricultural Uses of Plant Biostimulants». *Plant and Soil* 383(1–2): 3–41.
- Cantillano, R. F. «Árvore do Conhecimento do Morango – Colheita». *ageitec - Agência Embrapa de Informação Tecnológica*. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/morango/arvore/CONT000fmxotm4c02wyiv8065610dp5n4a1k.html>> (15 de julho de 2021).
- Carlile, W.R., M. Raviv e M. Prasad. 2019. «Organic Soilless Media Components». Em *Soilless Culture*, Elsevier, 303–78.
- Charles, M. T., e J. Arul. 2007. «UV Treatment of Fresh Fruits and Vegetables for Improved Quality: A Status Report». *Stewart Postharvest Review* 3(3): 1–8.
- Chauhan, O. P., S. Lakshmi, A.K. Pandey, N. Ravi, N. Gopalan e R.K. Sharma. 2017. «Non-Destructive Quality Monitoring of Fresh Fruits and Vegetables». *Defence Life Science Journal* 2(2): 103.
- Chaves, M. M., J. Flexas, e C. Pinheiro. 2009. «Photosynthesis Under Drought and Salt Stress: Regulation Mechanisms from Whole Plant to Cell». *Annals of Botany* 103(4): 551–60.
- Cheng, J.-H., D.-W. Sun, M. Nagata, e J.G. Tallada. 2016. «Quality Evaluation of Strawberry». Em *Computer Vision Technology for Food Quality Evaluation*, Elsevier, 327–50.
- Cordenunsi, B. R., J. R. Oliveira do Nascimento, M. I. Genovese, e F. M. Lajolo. 2002. «Influence of Cultivar on Quality Parameters and Chemical Composition of Strawberry Fruits Grown in Brazil». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(9): 2581–86.
- Crouch, I. J., e J. van Staden. 1993. «Evidence for the Presence of Plant Growth Regulators in Commercial Seaweed Products». *Plant Growth Regulation* 13(1): 21–29.
- Crouch, I. J., e J. Van Staden. 1992. «Effect of Seaweed Concentrate on the Establishment and Yield of Greenhouse Tomato Plants». *Journal of Applied Phycology* 4(4): 291–96.
- Currey, C. J. 2018. «Strawberries 101: A Production Guide». *Produce Grower*. Disponível em: <<https://www.producegrower.com/article/strawberries-101-a-production-guide/>> (15 de julho de 2021).
- Dewanto, V., X. Wu, K. K. Adom, e R. H. Liu. 2002. «Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10): 3010–14.
- Dias, P. 2020. «Efeito da Aplicação em Pré-colheita de Bioestimulantes no Comportamento Fisiológico e Produtivo do Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e nos Atributos de Qualidade dos Frutos». Dissertação de Mestrado. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Di-Vaio, C., A. Cirillo, D. Cice, C., El-Nakhel e Y. Roupael. 2021. «Biostimulant Application Improves Yield Parameters and Accentuates Fruit Color of Annurca Apples». *Agronomy* 11(4): 715.

- Duarte, F. J., R. J. P. Cunha, D. A. Alvarenga, G. E. Pereira e L. E. C. Antunes. 1999. «Aspectos de Florescimento e Técnicas Empregadas Objetivando a Produção Precoce Em Morangueiros». *Informe Agropecuário* 20(198): 30–35.
- El Boukhari, M. El Mehdi, M. Barakate, Y. Bouhia, e K. Lyamlouli. 2020. «Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems». *Plants* 9(3): 359.
- Elansary, H. O., K. Skalicka-Woźniak, e I. W. King. 2016. «Enhancing Stress Growth Traits as Well as Phytochemical and Antioxidant Contents of *Spiraea* and *Pittosporum* Under Seaweed Extract Treatments». *Plant Physiology and Biochemistry* 105: 310–20.
- El-Mageed, T. A. A., W. M. Semida, R. S. Taha, e M. M. Rady. 2018. «Effect of Summer-Fall Deficit Irrigation on Morpho-Physiological, Anatomical Responses, Fruit Yield and Water Use Efficiency of Cucumber Under Salt Affected Soil». *Scientia Horticulturae* 237: 148–55.
- El-Sharkawy, M., T. El-Beshsbeshy, R. Al-Shal, e A. Missaoui. 2017. «Effect of Plant Growth Stimulants on Alfalfa Response to Salt Stress». *Agricultural Sciences* 08(04): 267–91.
- Épron, D., e E. Dreyer. 1996. «Starch and Soluble Carbohydrates in Leaves of Water-Stressed Oak Saplings». *Annales des Sciences Forestières* 53(2–3): 263–68.
- FAO. 2021. «FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT». Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>> (20 de outubro de 2021).
- Ganhão, R., J. Pinheiro, C. Tino, H. Faria e M. M. Gil. 2019. «Characterization of Nutritional, Physicochemical, and Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of Three Strawberry “*Fragaria ananassa* Duch.” Cultivars (“Primoris”, “Endurance”, and “Portola”) from Western Region of Portugal». *Foods* 8(12): 682.
- Garner, J. «Choosing the Right Soilless Mix: A Good Growing Medium will Ensure that your Plants Get a Healthy Balance of Water and Air». *Fine Gardening*. Disponível em: <<https://www.finegardening.com/article/choosing-the-right-soilless-mix>> (11 de junho de 2021).
- Giampieri, F., S. Tulipani, J. M. Alvarez-Suarez, J. L. Quiles, B. Mezzetti e M. Battino. 2012. «The Strawberry: Composition, Nutritional Quality, and Impact on Human Health». *Nutrition* 28(1): 9–19.
- Grillas, S., M. Lucas, E. Bardopoulou, S. Sarafopoulos e M. Voulgari. 2001. «Perlite Based Soilless Culture Systems: Current Commercial Applications and Prospects». *Acta Horticulturae* (548): 105–14.
- Guérineau, C., C. Raynal-Lacroix, J. J. Pommier, J. C. Navatel, J. Longuesserre e J. Bigey. 2003. *La Culture Du Fraisier Sur Substrat*. Paris: CTIFL/Ciref.
- Guerra, A. P. T. 2018. «O Papel das Algas na Nutrição das Culturas». *Agrotec: revista técnico-científica agrícola* 26: 42–43.
- Heide, O. M. 1977. «Photoperiod and Temperature Interactions in Growth and Flowering of Strawberry». *Physiologia Plantarum* 40(1): 21–26.
- Hoagland, D. R., e D. I. Arnon. 1950. *The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil*. Berkeley, Calif.: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.
- Irani, H., B. ValizadehKaji, e M. R. Naeini. 2021. «Biostimulant-Induced Drought Tolerance in Grapevine Is Associated with Physiological and Biochemical Changes». *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 8(1): 5.

- Irigoyen, J. J., D. W. Emerich, e M. Sanchez-Diaz. 1992. «Water Stress Induced Changes in Concentrations of Proline and Total Soluble Sugars in Nodulated Alfalfa (*Medicago sativa*) Plants». *Physiologia Plantarum* 84(1): 55–60.
- Jones, M. M., C. B. Osmond, e N. C. Turner. 1980. «Accumulation of Solutes in Leaves of Sorghum and Sunflower in Response to Water Deficits». *Functional Plant Biology* 7(2): 193.
- Jorge, F. R. 2014. *Estudo e Acompanhamento da Cultura do Morango na Empresa Valmarques – Sociedade Agro Pecuária, Lda*. Coimbra: Instituto Politécnico de Coimbra - Escola Superior Agrária. Relatório de Estágio.
- Kałużewicz, A., W. Krzesiński, T. Spizewski, e A. Zaworska. 2017. «Effect of Biostimulants on Several Physiological Characteristics and Chlorophyll Content in Broccoli under Drought Stress and Re-Watering». *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 45(1): 197–202.
- Kasim, W. A, E. A. M. Hamada, N. G. S. El-Din, e S. Eskander. 2015. «Influence of Seaweed Extracts on the Growth, Some Metabolic Activities and Yield of Wheat Grown Under Drought Stress». *International Journal of Agronomy and Agricultural Research* 7(2): 173–89.
- Kitir, N., E. Yildirim, Ü. Şahin, M. Turan, M. Ekinci, S. Ors, R. Kul, H. Ünlü e H. Ünlü. 2018. «Peat Use in Horticulture». Em *Peat*, eds. B. Topcuoğlu e M. Turan. InTech.
- Klamkowski, K., e W. Treder. 2008. «Response to Drought Stress of Three Strawberry Cultivars Grown Under Greenhouse Conditions». *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 16(179–188): 10.
- Kumari, R., I. Kaur, e A. K. Bhatnagar. 2011. «Effect of Aqueous Extract of *Sargassum Johnstonii* Setchell & Gardner on Growth, Yield and Quality of *Lycopersicon esculentum* Mill.» *Journal of Applied Phycology* 23(3): 623–33.
- Lang, G. A. 1987. «Dormancy: A New Universal Terminology». *HortScience* 22(5): 817–19.
- Langaro, A. C., M. A. Nohatto, L. T. Perboni, C. P. Tarouco e D. Agostinetto. 2014. «Alterações Fisiológicas na Cultura do Tomateiro devido à Deriva Simulada de Herbicidas». *Revista Brasileira de Herbicidas* 13(1): 40–46.
- Lemaire, F. 1995. «Physical, Chemical and Biological Properties of Growing Medium». *Acta Horticulturae* 396: 273–84.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. «Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes». *Methods in Enzymology* 148: 350–82.
- Lisboa, J. F. O. 2017. «Influência do Substrato na Fenologia, na Biometria, na Produtividade e Qualidade do Fruto das Cultivares de Morangueiro Camarosa, Rábida, San Andreas e Portola». Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia - Universidade de Lisboa.
- Lola-Luz, T., F. Hennequart, e M. Gaffney. 2013. «Enhancement of Phenolic and Flavonoid Compounds in Cabbage (*Brassica oleraceae*) Following Application of Commercial Seaweed Extracts of the Brown Seaweed, (*Ascophyllum nodosum*)». *Agricultural and Food Science* 22(2): 288–95.
- Lopes, A., e A. M. Simões. 2006. *Produção Integrada em Hortícolas: Família das Rosáceas: Morangueiro*. Oeiras: Direcção-Geral de Protecção das Culturas.
- López, C. C. 2005. *Fertirrigación: Cultivos Hortícolas, Frutales y Ornamentales*. Mundiprensa. Madrid.
- Mackinney, G. 1941. «Absorption of Light by Chlorophyll Solutions». *Journal of Biological Chemistry* 140(2): 315–22.
- Maher, M., M. Prasad, e M. Raviv. 2008. «Organic Soilless Media Components». *Soilless Culture: Theory and Practice*: 459–504.

- Mansori, M., IA. Farouk, D. Hsissou, e M. El Kaoua. 2019. «Seaweed Extract Treatment Enhances Vegetative Growth and Antioxidant Parameters in Water Stressed *Salvia officinalis* L.» *Journal of Materials and Environmental Sciences* 10(8): 756–66.
- Maraci, R. W., e K. M. Elsayy. 2017. «Chemical Quality and Nutrient Composition of Strawberry Fruits Treated by γ -Radiation». *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 10(1): 80–87.
- Mariotti, B., S. Martini, S. Raddi, A. Tani, D. F. Jacobs, J. A. Oliet e A. Maltoni. 2020. «Coconut Coir as a Sustainable Nursery Growing Media for Seedling Production of the Ecologically Diverse Quercus Species». *Forests* 11(5): 522.
- Markoska, V., V. Spalevic, e R. Gulaboski. 2018. «A Research on the Influence of Porosity on Perlite Substrate and Its Interaction on Porosity of Two Types of Soil and Peat Substrate». *Agriculture & Forestry* 64(3): 15–29.
- Mejías, R. J., e M. C. Ruano. 1990. *El Cultivo Industrial de Plantas en Maceta*. Reus, España: Ediciones de Horticultura, S.L.
- Mendonça, M. G. 1998. «Efeito da Data de Arranque no Viveiro e do Tratamento pelo Frio no Crescimento e Produtividade do Morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.)». Tese de Doutoramento. Universidade Técnica de Lisboa.
- Mihálka, V., R. Székelyhidi, V. Kapcsándi, e I. Király. 2020. «Sugar and Acid Content of Organically and Conventionally Grown Strawberry (*Fragaria* × *ananassa*)». *Gradus* 7(2): 225–29.
- Miranda, C. S., S. Henriques, L. Rodrigues, A. S. Rodrigues, A. A. Monteiro, J. Caço, M. Reis e L. E. Antunes. 2004. *Manual de Culturas Hortícolas sem Solo*. Associação Interprofissional de Horticultura do Oeste.
- Miranda, F., e T. D. Fernandes. 2001. «Manual de Boas Práticas: Morango». Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica do Porto.
- Mizrach, A. 2008. «Ultrasonic Technology for Quality Evaluation of Fresh Fruit and Vegetables in Pre- and Postharvest Processes». *Postharvest Biology and Technology* 48(3): 315–30.
- Morales, R. G. F., L. V. Resende, I. C. Bordini, A. G. Galvão e F. C. Rezende. 2015. «Caracterização do Tomateiro Submetido ao Déficit Hídrico». *Scientia Agraria* 16(1): 9–17.
- Murtic, S., R. Oljaca, M. Smajic Murtic, A. Vranac, I. Koleska e L. Karic. 2018. «Effects of Seaweed Extract on the Growth, Yield and Quality of Cherry Tomato Under Different Growth Conditions». *Acta agriculturae Slovenica* 111(2): 315–25.
- Mzibra, A., A. Aasfar, M. Khouloud, Y. Farrie, R. Boulif, I. M. Kadmiri, A. Bamouh e A. Douira. 2021. «Improving Growth, Yield, and Quality of Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L.) by the Application of Moroccan Seaweed-Based Biostimulants under Greenhouse Conditions». *Agronomy* 11(7): 1373.
- Ordóñez-Díaz, J. L., V. Cardeñosa, J. M. Muñoz-Redondo, F. Ferreres, G. Pereira-Caro, E. Medrano, J. M. Moreno-Rojas e D. A. Moreno. 2021. «Impact of Abiotic Stresses (Nitrogen Reduction and Salinity Conditions) on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Strawberries». *Processes* 9(6): 1044.
- Ornelas-Paz, J. de J., E. M. Yahia, N. Ramírez-Bustamante, J. D. Pérez-Martínez, M. del Pilar Escalante-Minakata, V. Ibarra-Junquera, C. Acosta-Muñiz, V. Guerrero-Prieto e E. Ochoa-Reyes. 2013. «Physical Attributes and Chemical Composition of Organic Strawberry Fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at Six Stages of Ripening». *Food Chemistry* 138(1): 372–81.
- Osaki, M., T. Shinano, e T. Tadano. 1991. «Redistribution of Carbon and Nitrogen Compounds from the Shoot to the Harvesting Organs During Maturation in Field Crops». *Soil Science and Plant Nutrition* 37(1): 117–28.

- Pacheco, A. C., L. A. Sobral, P. H. Gorni, e M. E. A. Carvalho. 2019. «*Ascophyllum Nodosum* Extract Improves Phenolic Compound Content and Antioxidant Activity of Medicinal and Functional Food Plant *Achillea millefolium* L.» *Australian Journal of Crop Science* 13(3): 418–23.
- Palha, M. G., A. Mexia, A. P. Nunes, A. Cecílio, C. Mateus, C. Santos Andrade, E. Figueiredo, E. Valério, E. Salvado, J. C. Sequeira, L. G. Reis, M. B. Sousa, M. C. Lopes, M. dos Anjos Ferreira, S. Albano e T. Curado. 2005. *Manual Do Morangueiro*. Projeto PO AGRO DE&D nº193: Tecnologias de Produção Integrada no Morangueiro Visando a Expansão da Cultura e a Reconquista do Mercado. INIAP/EAN.
- Papadopoulos, A. P., A. Bar-Tal, A. Silber, U. K. Saha e M. Raviv. 2008. «Inorganic and Synthetic Organic Components of Soilless Culture and Potting Mixes». Em *Soilless Culture*, Elsevier, 505–43.
- Parkash, V. 2020. «Production of Cucumber under Deficit Irrigation and Eggplant under Salinity Stress: Assessment of Physiology, Growth, Yield and Water Use Efficiency». Dissertação de Mestrado. Texas Tech University.
- Phillips, I. D. J. 1975. «Apical Dominance». *Annual Review of Plant Physiology* 26: 341–67.
- Pires, R. C. de M., M. V. Folegatti, F. A. Passos, G. M. B. Ambrosano e K. Minami. 2000. «Profundidade Efetiva do Sistema Radicular do Morangueiro sob Diferentes Coberturas do Solo e Níveis de Água». *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(4): 793–99.
- Pires, R. C. M., F. A. Passos, e M.A.S Tanaka. 1999. «Irrigação Do Morangueiro». *Informe Agropecuário* 20(198): 52–58.
- Rayorath, P., M. N. Jithesh, A. Farid, W. Khan, R. Palanisamy, S. D. Hankins, A. T. Critchley e B. Prithiviraj. 2008. «Rapid Bioassays to Evaluate the Plant Growth Promoting Activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Using a Model Plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh». *Journal of Applied Phycology* 20(4): 423–29.
- Risser, G., J. C. Navatel, e D. Veschambre. 1997. *La fraise: Plant et variétés*. Paris: CTIFL/Ciref.
- Robbins, J. A., e M. R. Evans. 2011. «Growing Media for Container Production in a Greenhouse or Nursery. Part I - Components and Mixes». *Cooperative Extension Service, University of Arkansas, U.S. Dept. of Agriculture and County Governments Cooperating*: 4.
- do Rosário Rosa, V., Farias dos Santos, A. L., Alves da Silva, A., Peduti Vicentini Sab, M., Henrique Germino, G., Barcellos Cardoso, F. e de Almeida Silva, M. 2021. «Increased Soybean Tolerance to Water Deficiency Through Biostimulant Based on Fulvic Acids and *Ascophyllum nodosum* (L.) Seaweed Extract». *Plant Physiology and Biochemistry* 158: 228–43.
- Sadeghi, Z., J. Valizadeh, O. A. Shermeh, e M. Akaberi. 2015. «Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Boerhavia Elegans* (Choisy) Grown in Baluchestan, Iran». 5(1): 1–9.
- Sánchez-Moreno, C., J. A. Larrauri, e F. Saura-Calixto. 1998. «A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76(2): 270–76.
- Sesták, Z., J. Catský, e P. G. Jarvis. 1971. *Plant Photosynthetic Production: Manual of Methods*. The Hague, Netherlands: Dr. W. Junk NV.
- Shehata, S. M., H. S. Abdel-Azem, A. A. El-Yazied, e A. M. El-Gizawy. 2011. «Effect of Foliar Spraying with Amino Acids and Seaweed Extract on Growth Chemical Constitutes, Yield and Its Quality of Celeriac Plant». *European Journal of Scientific Research* 58(2): 257–65.
- Siddhuraju, P., e K. Becker. 2003. «Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2144–55.

- Şimşek, M., T. Tonkaz, M. Kaçira, N. Çömlekçioğlu, Z. Doğan. 2005. «The Effects of Different Irrigation Regimes on Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Yield and Yield Characteristics Under Open Field Conditions». *Agricultural Water Management* 73(3): 173–91.
- Singleton, V. L., e J. A. Rossi. 1965. «Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents». *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144–58.
- Sitta, G. 1983. *L' ABC della Moderna Fragolicoltura*. 3ª ed. Bolonha: Edagricole.
- Skwarek, M., J. Nawrocka, M. Lasoń-Rydel, e K. Ławińska. 2020. «Diversity of Plant Biostimulants in Plant Growth Promotion and Stress Protection in Crop and Fibrous Plants». *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe* 28(4): 34–41.
- Soppelsa, S., M. Kelderer, C. Casera, M. Bassi, P. Robatscher, A. Matteazzi e C. Andreotti. 2019. «Foliar Applications of Biostimulants Promote Growth, Yield and Fruit Quality of Strawberry Plants Grown under Nutrient Limitation». *Agronomy* 9(9): 483.
- TCA. 2019. «Tabela Da Composição de Alimentos». *Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I. P.- INSA. v 4.1*. Disponível em: <<http://portfir.insa.pt/>> (11 de maio de 2021).
- Tuhy, Ľ., J. Chowańska, e K. Chojnacka. 2013. «Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth: Review». *Chemik* 67(7): 636–41.
- UC Davis. «The UC Patented Strawberry Cultivars». *UC Davis: Office of Research*. Disponível em: <<https://research.ucdavis.edu/industry/ia/industry/strawberry/cultivars/>> (17 de agosto de 2021).
- UTAD Jardim Botânico. 2021. «*Fragaria vesca* L.» *Jardim Botânico UTAD*. Disponível em: <https://jb.utad.pt/especie/Fragaria_vesca_subesp_vesca> (20 de fevereiro de 2021).
- de Vasconcelos, A. C. F. e L. H. G. Chaves. 2020. «Biostimulants and Their Role in Improving Plant Growth under Abiotic Stresses». Em *Biostimulants in Plant Science*, eds. S. Mahyar Mirmajlessi e R. Radhakrishnan. IntechOpen. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/biostimulants-in-plant-science/biostimulants-and-their-role-in-improving-plant-growth-under-abiotic-stresses>> (5 de maio de 2021).
- Vavrina, C. S., K. Armbrester, M. Arenas, e M. Pena. 1996. «Coconut Coir as an Alternative to Peat Media for Vegetable Transplant Production». *SSWFREC Station Rpt.-VEG.*: 11.
- Warren, C. R., N. J. Livingston, e D. H. Turpin. 2004. «Water Stress Decreases the Transfer Conductance of Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii*) Seedlings». *Tree Physiology* 24(9): 971–79.
- Wysocki, K., T. Banaszkiwicz, e J. Kopytowski. 2012. «Factors Affecting the Chemical Composition of Strawberry Fruits». *Polish Journal of Natural Sciences* 27(1): 5–13.
- Xiong, J., Y. Tian, J. Wang, W. Liu e Q. Chen. 2017. «Comparison of Coconut Coir, Rockwool, and Peat Cultivations for Tomato Production: Nutrient Balance, Plant Growth and Fruit Quality». *Frontiers in Plant Science* 8(1327): 1–9.
- Xu, C., e D. I. Leskovar. 2015. «Effects of *A. nodosum* Seaweed Extracts on Spinach Growth, Physiology and Nutrition Value Under Drought Stress». *Scientia Horticulturae* 183: 39–47.

6. Anexo

Anexo 1. Reagentes utilizados na preparação da solução nutritiva de Hoagland.

Nutrientes	Solução Stock (g L⁻¹)	Solução Nutritiva (mL L⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de cálcio (Ca (NO ₃) ₂ .4H ₂ O)	236,2	5
Nitrato de potássio (KNO ₃)	101,1	5
Sulfato de magnésio (MgSO ₄ .7H ₂ O)	246,4	2
Dihidrogenofosfato de potássio (KH ₂ PO ₄)	136,1	1
Micronutrientes		
Ácido bórico (H ₃ BO ₃)	2,86	1
Cloreto de manganês (MnCl ₂ .4H ₂ O)	1,81	1
Sulfato de zinco (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	0,22	1
Sulfato de cobre (CuSO ₄)	0,051	1
Molibdato de amônio ((NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O)	0,02	1
Solução de ferro (Fe EDTA)		
Ácido etilenodiamino tetra-acético (Na ₂ EDTA.2H ₂ O)	29,5	1
Sulfato de ferro (FeSO ₄ .7H ₂ O)	24,9	1