



Diagnóstico rápido de Antracnose e Moniliose no amendoal para apoio a uma tomada de decisão eficaz



Por: Maria do Rosário Félix; Mariana Patanita; André Albuquerque; Margarida Basaloco; Joana Amaro Ribeiro; Filipa Santos e Maria Doroteia Campos

O grupo de investigação dos Laboratórios de Micologia e Virologia Vegetal do MED/Universidade de Évora desenvolveu uma tecnologia de fácil acesso e de fácil execução para disponibilizar a técnicos e produtores já a partir de 2026.

O amendoal, como cultura emergente no Alentejo, tem crescido de ano para ano e têm-se imposto como uma das culturas dominantes na região. As cultivares de amendooeira tradicionalmente existentes são as mais bem-adaptadas às condições de solo e clima, e as que apresentam uma maior resiliência. No entanto, a sua baixa produtividade e inadaptabilidade à mecanização veio trazer a necessidade de introduzir novas cultivares, com novos porta-enxertos, adaptados a sistemas de produção mais intensivos e mecanizáveis e com muito maior capacidade produtiva. Estas cultivares, novas na região do Alentejo, trazem associadas a si uma maior suscetibilidade a doenças e pragas, para as quais não estão adaptadas. Se a esta suscetibilidade associarmos outros fatores, como a proximidade e interação com outras culturas e com os seus agentes patogénicos, a instalação dos novos amendoais em solos onde existiam outras culturas que tiveram tempo de proporcionar o crescimento de fungos patogénicos habitantes de solo e a grande utilização de máquinas que são também uma fonte de transporte e disseminação de agentes patogénicos, então vimos ainda mais potenciada a possibilidade da ocorrência de pragas e doenças no amendoal.

Antracnose e Moniliose

De entre as várias dezenas de doenças associadas à amendooeira, a Antracnose e a Moniliose destacam-se pela sua grande incidência, transversal às diferentes cultivares, e causam um impacto altamente destrutivo no amendoal.

A Antracnose, causada por fungos do género *Colletotrichum*, e a Moniliose, causada por fungos do género *Monilinia*, causam a destruição das flores e dos frutos (Figura 1), conduzindo a elevadas quebras de produção, e no caso da Antracnose (Figura 2) pode até levar à morte da árvore e de extensas áreas de amendoal. Estes fungos, durante a sua fase ativa, dispersam-se por pequenos esporos que são transportados pelo vento a vários quilómetros da fonte de infecção inicial. Estas doenças são duas das que mais preocupam os pro-

dutores, não só pelo carácter destrutivo, mas também pela rápida capacidade de dispersão e infecção. Associada a esta preocupação, surge uma gama muito limitada de substâncias ativas disponíveis e a época de maior suscetibilidade da amendooeira a estas doenças que corresponde a uma fase altamente favorável para estes fungos, em termos climáticos, com chuvas frequentes e temperaturas amenas.

O difícil diagnóstico precoce e avaliação da sua presença durante o repouso vegetativo da amendooeira, a impossibilidade de distinguir se estamos em presença de Antracnose ou de Moniliose, e principalmente se temos quantidade de inóculo que justifique tratar, fazem com que, na maioria dos casos, se trate, porque não se pode arriscar a que estes fungos se desenvolvam e causem sintomas. Os tratamentos ocorrem em função das condições climáticas favoráveis e não da presença do agente patogénico, o que faz com que, em primaveras mais chuvosas, se trate com intervalos de oito a dez dias, repetidamente até as condições climáticas deixarem de ser favoráveis ou a amendooeira não estar tão receptiva à infecção.

Esta situação, para além de altamente dispendiosa, fazendo aumentar muito os custos de produção, vem também contrariar o percurso que se pretende rumo à redução de fitofármacos até 2030, ao abrigo do Pacto Ecológico Europeu e à diminuição da pegada carbónica causada sobretudo pela frequente passagem das máquinas para aplicação de fitofármacos.

O desenvolvimento de uma tecnologia de diagnóstico rápido e portátil

De modo a dar resposta à necessidade de diagnóstico destas duas doenças, da quantificação da carga de inóculo no campo, durante as várias fases da cultura da amendooeira, incluindo no repouso vegetativo, e sobre tudo para ajudar à tomada de decisão de quando tratar, para que fungo tratar e por onde começar a tratar no amendoal, o grupo de investigação dos Laboratórios de Micologia e Virologia Vegetal do MED/Universidade de Évora desenvolveu uma tecnologia de fácil acesso e de



Figura 1. Ramo de amendoeira com flores mortas afetadas por uma infecção mista de Antracnose e Moniliose.

fácil execução para disponibilizar a técnicos e produtores. A tecnologia é baseada no diagnóstico molecular, com elevada sensibilidade, direcionado para o DNA de cada um dos géneros de fungos, utilizando sequências específicas que se vão ligar apenas ao DNA de cada género de fungo causador de Antracnose e Moniliose, *Colletotrichum* e *Monilinia*, repetivamente. Isto vai permitir que, em cada teste, se verifique se estamos em presença de um fungo ou de ambos os fungos, e também nos diz qual a quantidade aproximada, em número de moléculas, de fungo (Quadro 1).

Quadro 1. Quantificação do índice e de severidade da infecção que permite definir a prioridade de tratamento

Concentração de Fungo	Número de Cópias de Fungo	Amplificação em Minutos	Intervalos de Amplificação em Minutos	Índice de Severidade
1000 pg/µL	2,72E+08	8,9	7,3 - 10,4	Crítico
100 pg/µL	2,72E+07	10,2	9,3 - 11,1	Grave
10 pg/µL	2,72E+06	11,9	10,8 - 12,9	Moderado
1 pg/µL	2,72E+05	13,4	12 - 14,8	Baixo

Como funciona?

As pequenas sequências específicas de cada género de fungo, presentes em cada tubo de reação, estão ligadas a uma molécula fluorescente. Quando o teste é iniciado, se existirem moléculas de DNA do fungo alvo na amostra, essas sequências vão reconhecer e ligar-se ao DNA presente. Esta ligação ocorre ao longo de aproximadamente 6 a 15 minutos, que corresponde ao tempo total



Figura 2. Frutos com sintomas de Antracnose, onde se podem observar as lesões necróticas em depressão com agregados de esporos alaranjados, típicos da doença.

de execução do teste. No final desse período, o resultado é automaticamente detetado e apresentado através de uma aplicação gratuita no ecrã do telemóvel, tablet ou computador (Figura 3).

No ecrã do equipamento informático poderão aparecer diferentes curvas resultantes de diferentes tempos de amplificação da amostra e que estão diretamente relacionadas com a quantidade de fungo presente na amostra em teste. Esse resultado dá-nos a quantidade

Investigação & Experimentação

em número de moléculas de DNA de fungo, que, por sua vez, está relacionada com a maior ou menor urgência em tratar (Quadro 1).

O equipamento que foi adaptado para estes testes de diagnóstico é o Dr. Vida (Figura 4), desenvolvido pela empresa StabVida. É um equipamento portátil de fácil transporte e utilização, que teve a sua criação inicial para os testes pessoais de COVID-19 e que foi agora adaptado ao diagnóstico de doenças de plantas, para possibilitar um diagnóstico rápido e fiável das principais doenças das culturas mediterrânicas.

O que se pretende?

Com a otimização do Dr. Vida para o diagnóstico de Antracnose e Moniliose, pretende-se colocar à disposição de todos os produtores e técnicos de amendoal uma forma rápida e altamente sensível de avaliar a presença de inóculo dos fungos causadores destas doenças, tanto no repouso vegetativo (gomas dormentes), como durante as várias fases ativas da cultura. O conhecimento da quantidade de estruturas de cada fungo, qual deles estará presente, e em que zona do pomar a carga de

inóculo é mais abundante, permite tomar uma decisão correta e direcionada para tratar corretamente, com uma redução das aplicações de fitofármacos e com a escolha das substâncias ativas corretas para o fungo ou fungos presentes.

Para a correta utilização do equipamento Dr. Vida e avaliação dos diferentes resultados que podem ser obtidos, os investigadores dos Laboratórios de Micologia e Virologia Vegetal do MED/Universidade de Évora irão desenvolver ações de formação, que se irão realizar no início de 2026, com o apoio de diversas associações de agricultores e produtores.

O grupo de investigadores espera, assim, ter criado uma ferramenta de apoio ao diagnóstico e tomada de decisão de quando e onde tratar, de modo a contribuir para uma agricultura mais rentável e sustentável.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pela Agência para a Investigação e Inovação (AI²), através da Bolsa de Doutoramento 2022.13638.BD, atribuída a Joana Amaro Ribeiro, Projeto UIDB/05183 e pelo Projeto AlmondProtect PD23/00014 (Promove - Fundação 'La Caixa'). ■

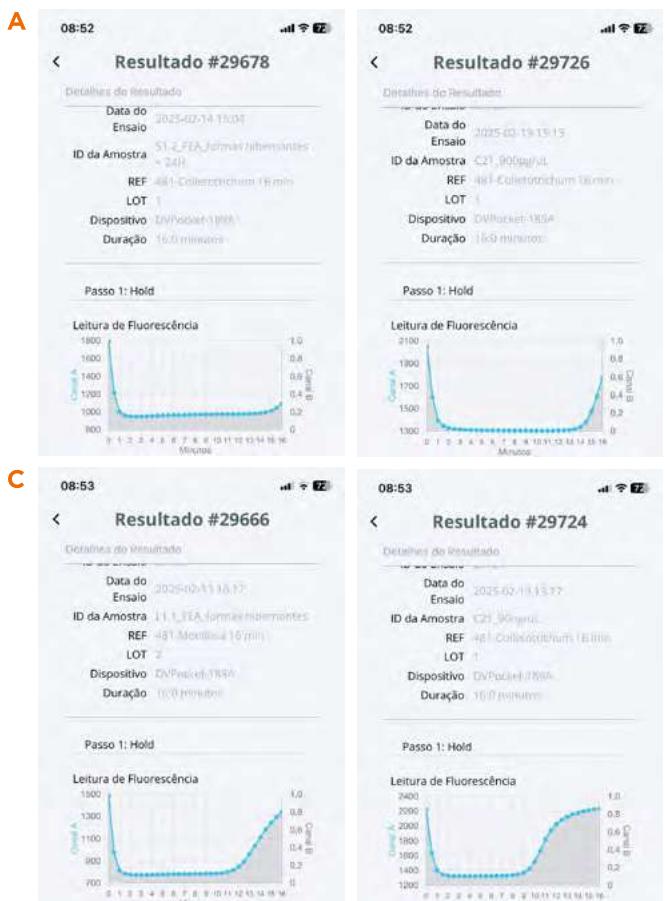


Figura 3. Alguns exemplos de resultados de diferentes testes de diagnóstico, mostrando diferentes níveis de infecção. **A** - Amplificação final negativa, sem a presença de fungo, **B** - Amplificação muito baixa com início da fluo escância aos 14 min (índice de infecção baixo), **C** - Amplificação com início da fluo escância aos 12 min (índice de infecção moderado), **D** - Amplificação com início da fluo escância aos 9 min (índice de infecção critico).



Figura 4. Equipamento portátil de diagnóstico, Dr. Vida.