

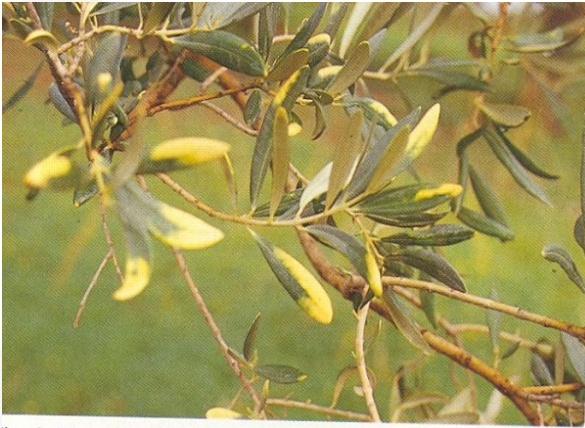
Proteção Fitossanitária do Olival: O contributo para a Investigação na Universidade de Évora



Maria Doroteia Campos

Proteção Fitossanitária na UÉvora

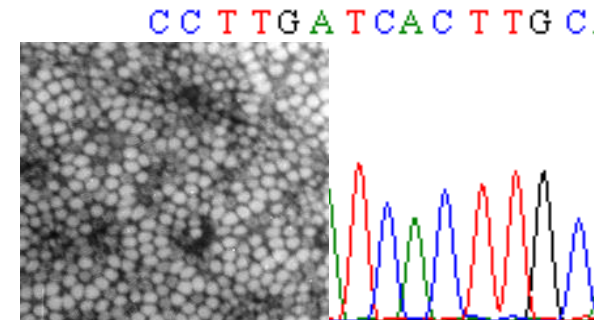
Vírus da oliveira: início do estudo na década de 90



Testes sorológicos



Testes com indicadores biológicos

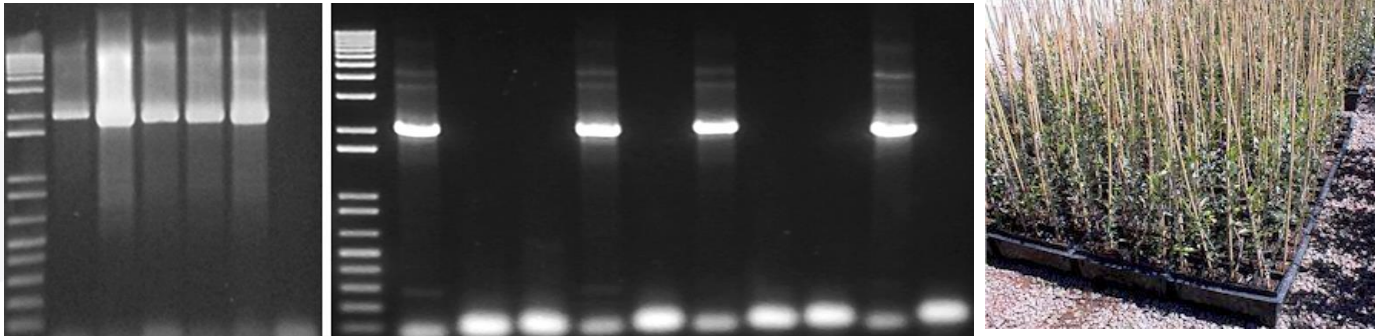


Caracterização biológica e molecular

Proteção Fitossanitária na UÉvora

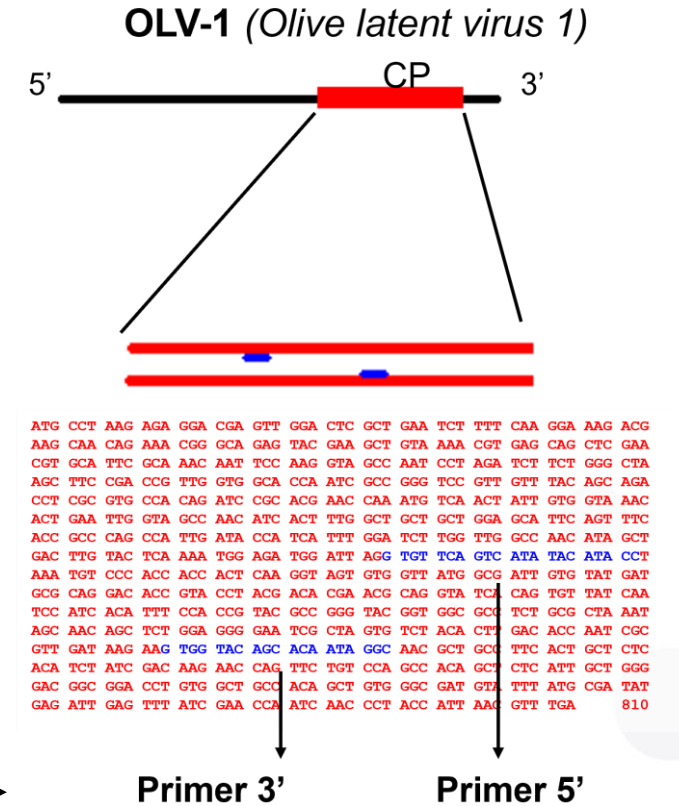
Vírus da oliveira: diagnóstico molecular

Diagnóstico baseado na amplificação de pequenas porções do genoma viral: PCR Convencional para deteção de necrovirus.



Equipamento:
termociclador

Desenho de 'primers'
especificos para cada vírus

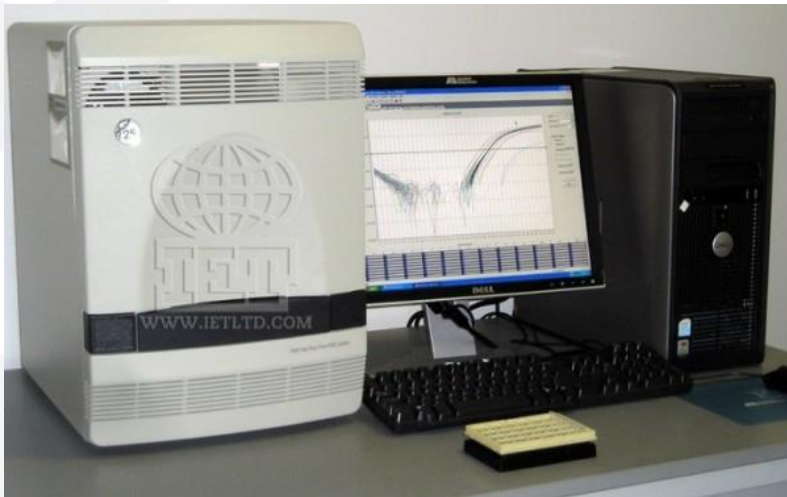


Proteção Fitossanitária na UÉvora

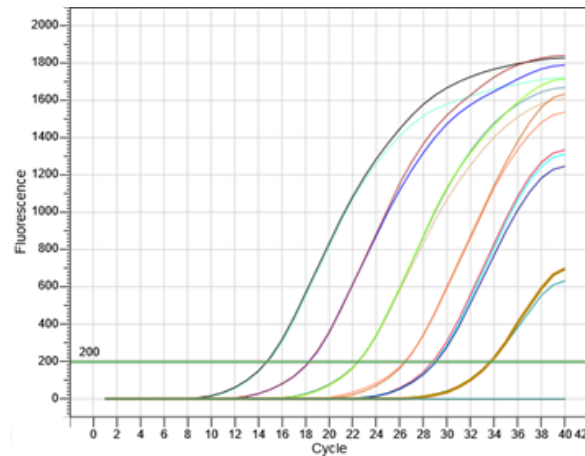
Vírus da oliveira: diagnóstico molecular

Diagnóstico baseado na amplificação de pequenas porções do genoma viral: PCR em Tempo Real

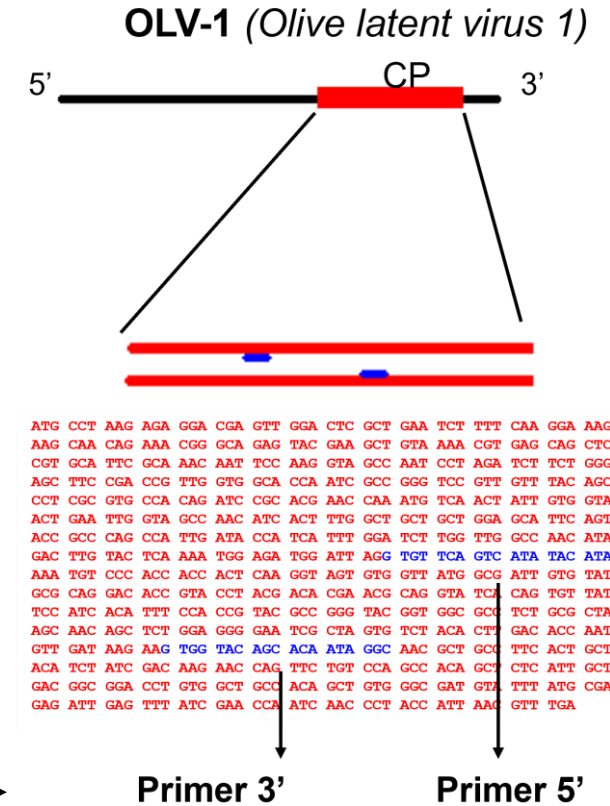
ELEVADA ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE



Equipamento: PCR em tempo-real



Desenho de 'primers' específicos para cada vírus

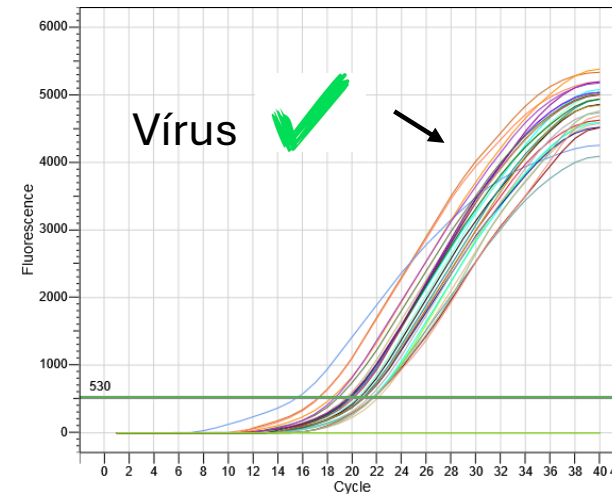
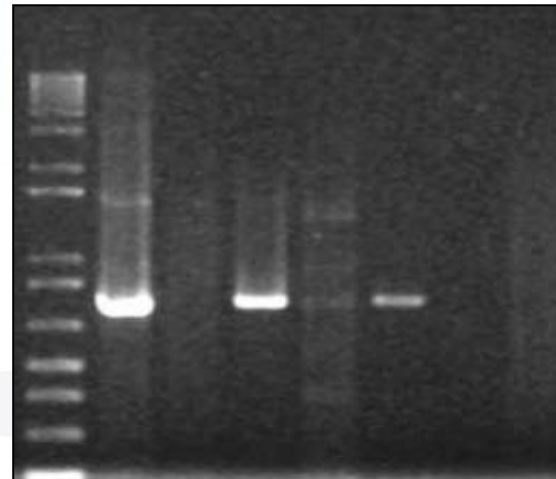


Proteção Fitossanitária na UÉvora

Vírus da oliveira: obtenção de material certificado

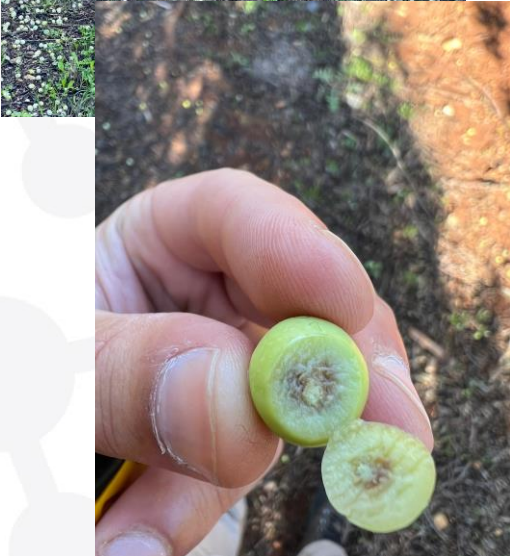


Amplificação por PCR de
Necrovirus



Proteção Fitossanitária na UÉvora

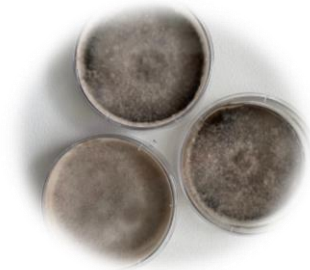
Alternariose: estudo de suscetibilidade de variedades e formas de controlo



**Amostragem de
azeitonas**



Frutos das variedades 'Arbequina' and 'Arbosana' com necrose na zona do pedúnculo.



**Isolamento dos
fungos**



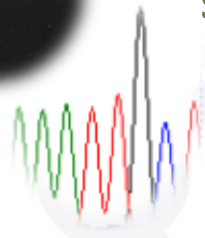
Seleção de isolados em cultura pura com características morfológicas de *Alternaria* sp.



**Amplificação e
sequenciação**



Identificação molecular de *Alternaria alternata*.



Proteção Fitossanitária na UÉvora

Alternariose: estudo de suscetibilidade de variedades e formas de controlo

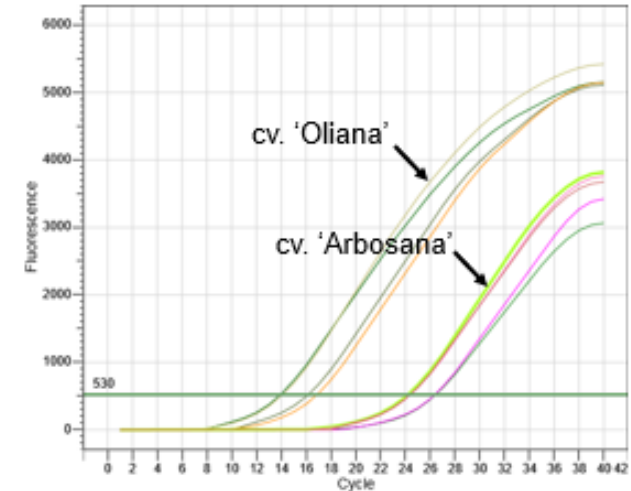


```
ATG CCT AAG AGA GGA CGA GTT GGA CTC GCT GAA TCT TTT CAA GGA AAG ACG
AAG CAA CAG AAA CGG GCA GAG TAC GAA GCT GTA AAA CGT GAG CAG CTC GAA
CGT GCA TTC GCA AAC AAT TCC AAG GTA GCC AAT CCT AGA TCT TCT GGG CTA
AGC TTC CGA CCG TTG GTG GCA CCA ATC GCC GGG TCC GTT GTT TAC AGC AGA
CCT CGC GTG CCA CAG ATC CGC ACG AAC CAA ATG TCA ACT ATT GTG GTA AAC
ACT GAA TTG GTA GCC AAC ATC ACT TTG GCT GCT GCT GGA GCA TTC AGT TTC
ACC GCC CAG CCA TTG AEA CCA TCA TTT GGA TCT TGG TTG GCC AAC AEA GCT
GAC TTG TAC TCA AAA TGG AGA TGG ATT AGG TGT TCA GTC ATA TAC AEA CCT
AAA TGT CCC ACC ACC ACT CAA GGT AGT GTG GTT ATG GCG ATT GTG TAT GAT
GCG CAG GAC ACC GTA CCT ACG ACA CGA ACG CAG GTA TCA CAG TGT TAT CAA
TCC ATC ACA TTT CCA CCG TAC GCC GGG TAC GGT GGC GCG TCT GCG CTA AAT
AGC AAC AGC TCT GGA GGG GAA TCG CTA CTG TCT ACA CTG GAC ACC AAT CGC
GTT GAT AAG AAG TGG TAC AGC ACA AEA GGC AAC GCT GCG TTC ACT GCT CTC
ACA TCT ATC GAC AAG AAC CAG TTC TGT CCA GCC ACA GCT CTC ATT GCT GGG
GAC GGC GGA CCT GTG GCT GCG ACA GCT CTG GGC GAT GTA TTT ATG CGA TAT
GAG ATT GAG TTT ATC GAA CCA ATC AAC CCT ACC ATT AAG GTT TGA 810
```

Primer 3'

Primer 5'

'primers' e sonda específica para *Alternaria* spp.



- ✓ Detecção de *Alternaria* spp. em azeitonas de diferentes cultivares.
- ✓ Resultados preliminares revelaram uma maior presença na cultivar 'Oliana' do que na 'Arbosana'.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Alternariose: estudo de suscetibilidade de variedades e formas de controlo



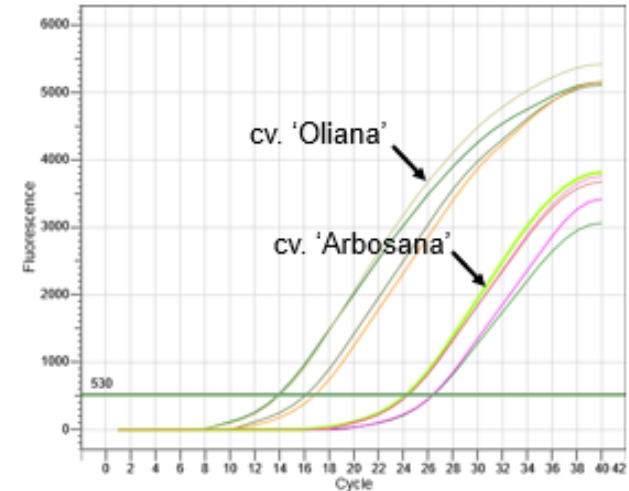
Organ	<i>Alternaria</i> spp. Cq values
Fallen fruits	23.37 ^a
Fruits	28.79 ^b
Branches	27.00 ^c
Leaves	28.34 ^{bc}

Different superscript values indicate significant differences between organs ($p < 0,05$).

- ✓ O ensaio permitiu a deteção de *Alternaria* em azeitonas caídas, azeitona na árvore, ramos e folhas.



O diagnóstico precoce da alternariose, é fundamental para a utilização adequada de estratégias de defesa.



- ✓ Deteção de *Alternaria* spp. em azeitonas de diferentes cultivares.
- ✓ Resultados preliminares revelaram uma maior presença na cultivar 'Oliana' do que na 'Arbosana'.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Gafa da azeitona: diversas abordagens de estudo!



Diferentes comunidades de fungos endofíticos associadas a variedades portuguesas com diferentes níveis de suscetibilidade à gafa da azeitona.



‘Galega vulgar’ com os níveis mais elevados de infeção por *Colletotrichum* spp, com predominância da espécie *C. nymphaeae*.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Gafa da azeitona: diversas abordagens de estudo!



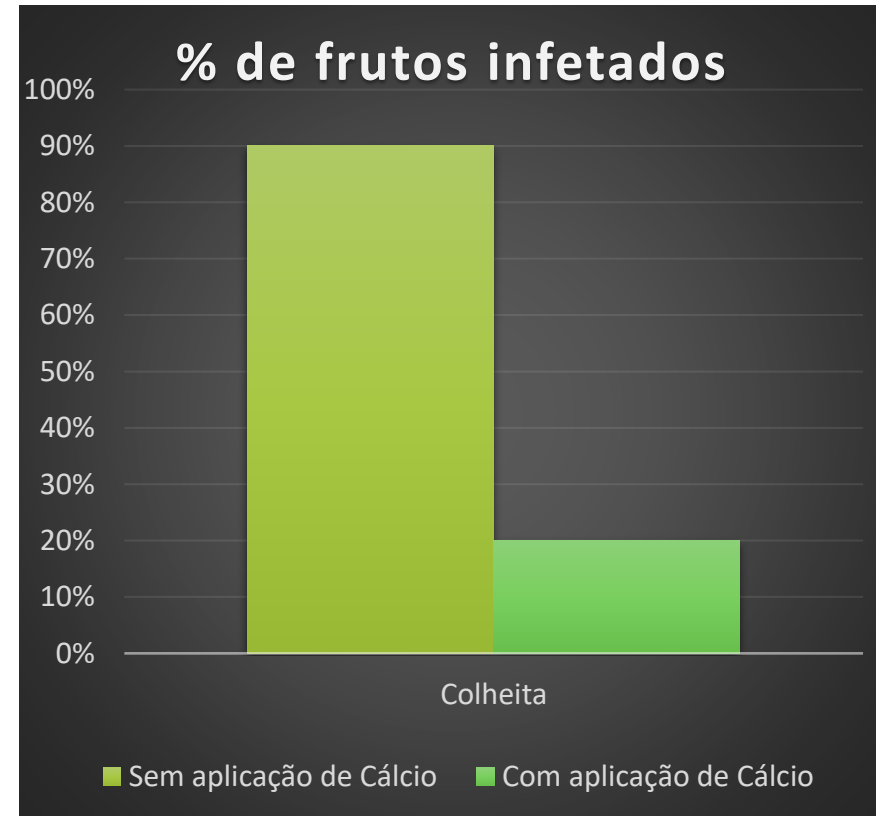
Deslocação do fungo *C. nymphaeae* de forma sistémica na oliveira.



Importância da aplicação do cálcio foliar na resistência à gafa.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Gafa da azeitona: diversas abordagens de estudo!



Três aplicações de cálcio foliar reduziram em 70% o número de frutos infetados.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

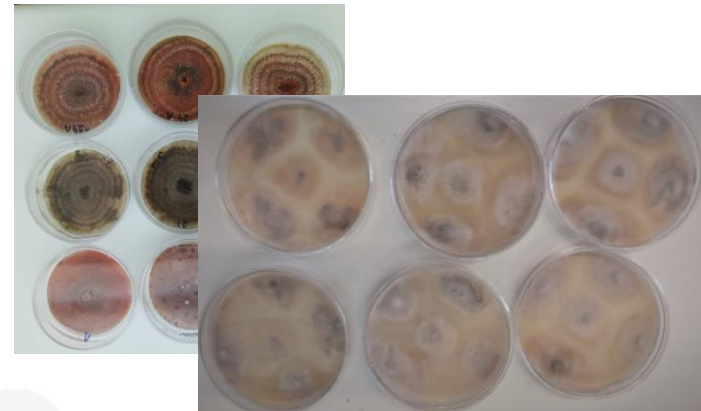
Gafa da azeitona: diversas abordagens de estudo!

Caracterização Biomolecular

Recolha de frutos
sintomáticos com gafa.



Obtenção de isolados
de *Colletotrichum* spp.



Identificação de
variabilidade genética

CCCTTTGTTGACATACCTAACGGTT



Proteção Fitossanitária na UÉvora

Gafa da azeitona: diversas abordagens de estudo!

Estudos de Patogenicidade

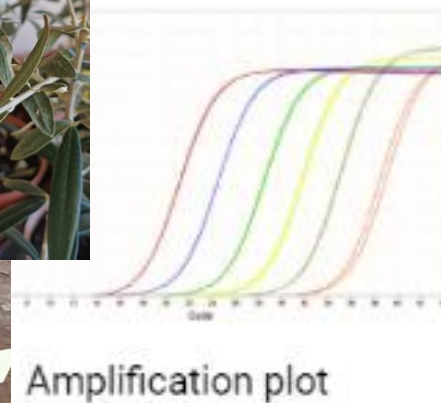
Inoculação com diferentes espécies de *Colletotrichum*.



-Confirmação da infeção
-Identificação das espécies de fungos mais patogénicas.



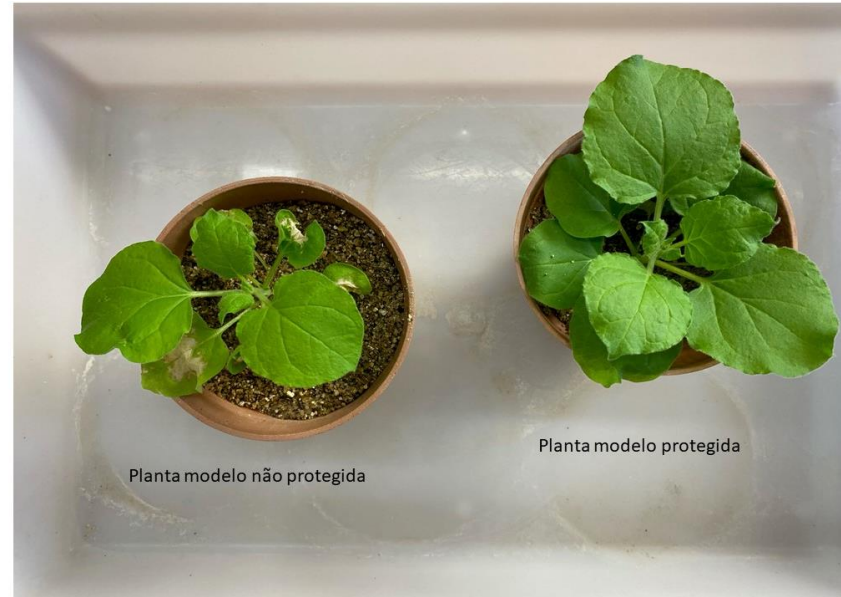
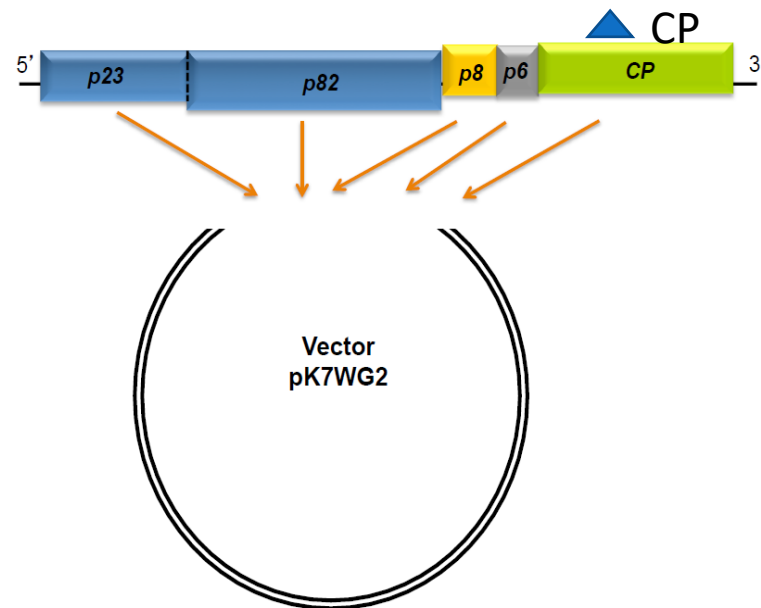
Identificação dos mecanismos de resposta das plantas à infeção



Proteção Fitossanitária na UÉvora

Os Vírus como Aliados: O Papel Protetor dos Vírus na Proteção das Planta

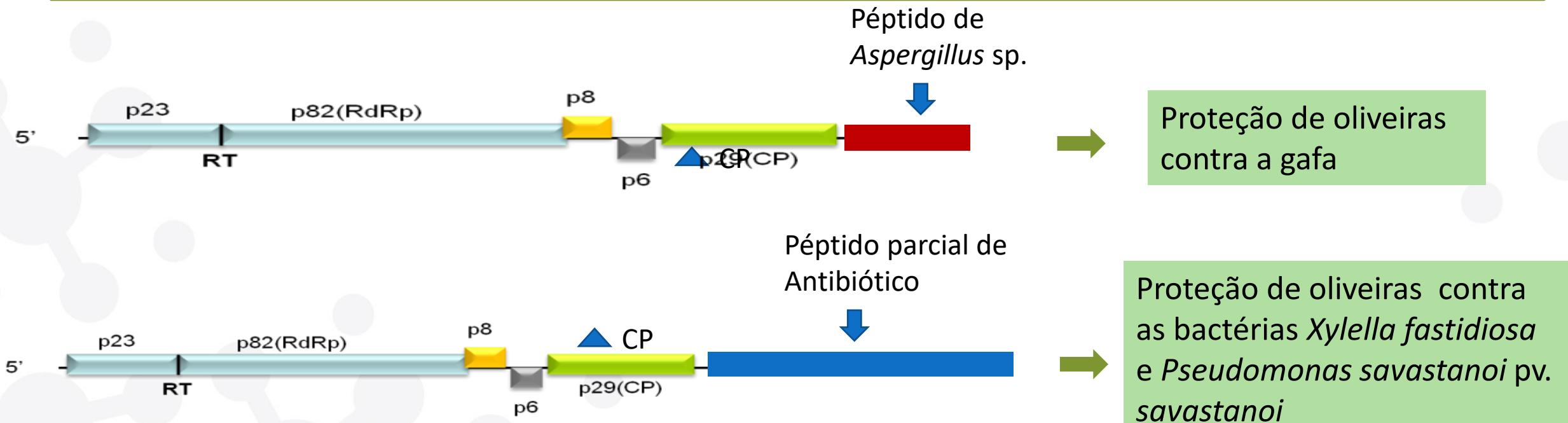
Construção de um vetor viral com modificação na proteína da cápside



Proteção Fitossanitária na UÉvora

Os Vírus como Aliados: O Papel Protetor dos Vírus na Proteção das Planta

O caso dos AMPs (Antimicrobial peptides – Peptidos anti-microbianos): criação de duas construções para proteger as plantas.



Foram feitos dois pedidos de patente europeia para estas construções .

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Bioestimulantes: Uma Solução Sustentável para a Proteção do Olival?

- Quais os mecanismos biológicos essenciais que sustentam a eficácia dessas substâncias?
- Como interagem os bioestimulantes com a oliveira e como influenciam processos de tolerância às diversas situações de stress?



Proteção Fitossanitária na UÉvora

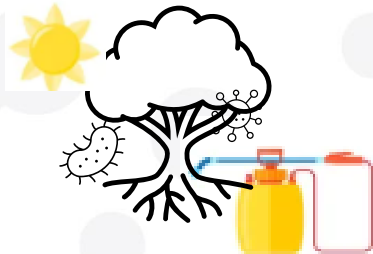
Bioestimulantes: Uma Solução Sustentável para a Proteção do Olival?



Seleção de bioestimulantes (extrato de cavalinha, alga *Ascophyllum nodosum*, quitosano ...) mais adequados.



Aplicação dos bioestimulantes sob condições de **stress biótico e abiótico**.



Testagem em condições de campo.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Prestação de Serviços Especializados



The image shows a screenshot of a web browser displaying the website for the Laboratory of Plant Virology & Mycology at MED-UEVORA. The browser's address bar shows the URL: <https://www.med.uevora.pt/pt/unidades-med/19-laboratorio-de-virologia-vegetal-laboratorio-de-micologia/>. The website header features the MED logo on the left, which includes a stylized green leaf and a globe, and the text "MED Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento". To the right of the logo is a navigation menu with the following items: "Sobre Nós", "Investigação", "Pessoas", "Divulgação", "Publicações", "Informações", and "Educação & Tr". Below the header is a large banner image of a yellow corn cob. Overlaid on the bottom left of the banner is a dark grey box containing the text "Laboratório de Virologia Vegetal & Laboratório de Micologia" and "MED-UEVORA" below it.

Proteção Fitossanitária na UÉvora

Prestação de Serviços Especializados

← ↻ 🔒 <https://www.med.uevora.pt/pt/unidades-med/19-laboratorio-de-virologia-vegetal-laboratorio-de-micologia/> ⋮ ☆

Prestação de serviços

Os laboratórios prestam ainda serviços de diagnóstico de patógenos assim como apoio aos agricultores na área da patologia vegetal, tais como:

- Identificação de agentes fitopatogénicos com recurso a testes microbiológicos e testes moleculares;
- Apoio técnico e prescrição de medidas de prevenção e controlo de doenças.

MATERIAL TESTADO

Fazemos análises de diagnóstico de agentes fitopatogénicos a partir de: plantas (raiz, caule, folhas, frutos, flores e sementes), solo e água.

Equipa do Laboratório de Micologia e Virologia Vegetal da UÉvora



Muito obrigada pela atenção!