

# FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS ÀS DOENÇAS DO LENHO: UMA INFORMAÇÃO PROMISSORA PARA UMA VITICULTURA SUSTENTÁVEL



M. Patanita<sup>1\*</sup>, M.D. Campos<sup>1</sup>, J.A. Ribeiro<sup>1</sup>, A. Albuquerque<sup>1</sup>, C. Varanda<sup>2,3</sup>, P. Materatski<sup>1</sup>, N. Garrido<sup>1</sup>, A. Rosa<sup>4</sup>, M.R. Félix<sup>5</sup>

- <sup>1</sup> MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal. \*mpatanita@uevora.pt
- <sup>2</sup> ESAS, UIIPS, Instituto Politécnico de Santarém, Quinta do Galinheiro, S. Pedro, 2001-904 Santarém.
- <sup>3</sup> MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.
- <sup>4</sup> Aluno de Mestrado em Agronomia, Universidade de Évora, Largo dos Colegiais 2, 7004-516 Évora, Portugal.
- <sup>5</sup> MED - Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora, Portugal.

## Abstract / Resumo

Grapevine trunk diseases (GTDs) are among the most important problems that affect the longevity and productivity of vineyards in all the major growing regions of the world. They are slow-progression diseases, caused by several wood-inhabiting fungi with similar life cycles and epidemiology. The simultaneous presence of multiple trunk pathogens in a single plant together with the inconsistent GTDs symptoms expression, their isolation in asymptomatic plants, and the absence of effective treatments, make these diseases extremely complex to identify and eradicate. Aiming to gain a better knowledge of GTDs and search for sustainable alternatives to limit their development, the present work studied the fungal community structure associated with GTDs symptomatic and asymptomatic grapevines, following a metagenomic approach. Two important cultivars from the Alentejo region with different levels of susceptibility to GTDs were selected, 'Alicante Bouschet' and 'Trincadeira'. Deep sequencing of fungal-directed ITS1 amplicon led to the detection of 258 taxa, including 10 fungi previously described as responsible for GTDs. Our results demonstrate that trunk diseases symptoms are intensified by a set of multiple GTDs-associated fungi on the same plant. This study opens new perspectives for the study of GTDs-associated fungi and their relation to the symptomatology in grapevines.

As doenças do lenho da videira (GTDs) estão entre os problemas mais importantes que afetam a longevidade e a produtividade das vinhas em todas as principais regiões vitícolas do mundo. São doenças de progressão lenta, causadas por vários fungos que habitam a zona lenhosa, com ciclos de vida e epidemiologia semelhantes. A presença simultânea de múltiplos fungos do lenho numa única planta, juntamente com a expressão inconsistente dos sintomas das GTDs, o seu isolamento em plantas assintomáticas e a ausência de tratamentos eficazes, tornam estas doenças extremamente complexas de identificar e erradicar. Com o objetivo de obter um melhor conhecimento acerca das GTDs e procurar alternativas sustentáveis para limitar o seu desenvolvimento, este trabalho pretendeu estudar a estrutura da comunidade de fungos associada a videiras sintomáticas e assintomáticas, seguindo uma abordagem metagenómica. Foram selecionadas duas importantes cultivares da região do Alentejo com diferentes níveis de suscetibilidade às doenças do lenho, 'Alicante Bouschet' e 'Trincadeira'. A sequenciação da região ITS, característica dos fungos, levou à deteção de 258 taxa, incluindo 10 fungos previamente descritos como responsáveis pelas GTDs. Os nossos resultados demonstram que os sintomas das doenças do lenho são intensificados por um conjunto de múltiplos fungos associados numa mesma planta. Este estudo abre novas perspetivas no estudo dos fungos associados às doenças do lenho e a sua relação com a sintomatologia na videira.

## Introdução

A principal característica das GTDs é a **colonização do tronco** da videira, seguindo-se dos braços e ramos.

Os principais sintomas associados a este complexo de doenças são:

- **manchas necróticas** bem visíveis quando se fazem cortes transversais na zona lenhosa;
- **necroses no limbo das folhas**, podendo conduzir à sua morte;
- **morte completa** das videiras sintomáticas.



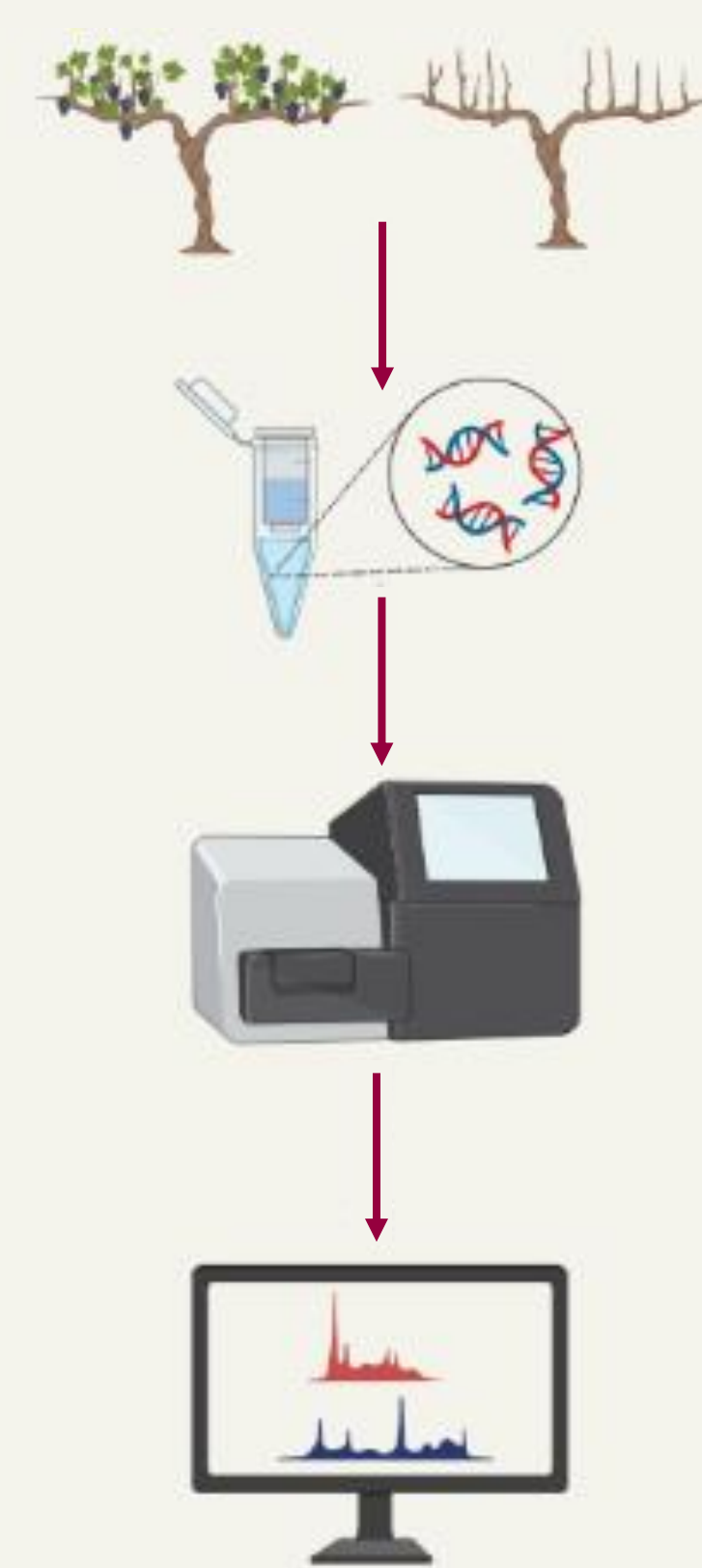
### PRINCIPAIS DIFICULDADES:

- Presença de **múltiplos fungos** numa planta
- Expressão **inconsistente** dos sintomas
- Fungos patogénicos em **plantas assintomáticas**
- Ausência de **tratamentos eficazes**

**Não existe uma estratégia de controlo eficaz!**



## Metodologia e Resultados



Colheita aleatória de raminhos de plantas com e sem sintomas de duas cultivares, 'Alicante Bouschet' e 'Trincadeira', com diferentes níveis de suscetibilidade às GTDs

Extração de DNA total de tecidos de videira

Sequenciação de Nova Geração de DNA a partir da região ITS (Internal Transcribed Spacer), região característica dos fungos

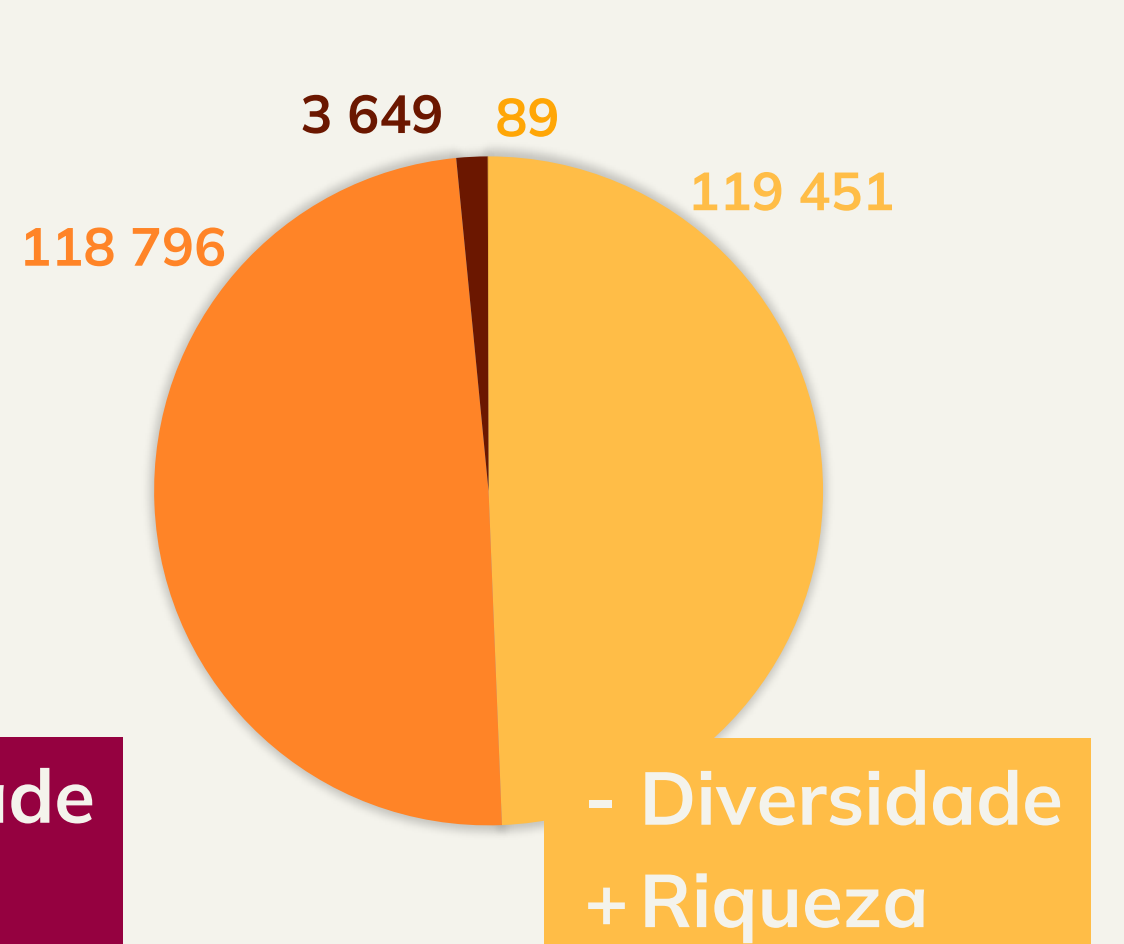
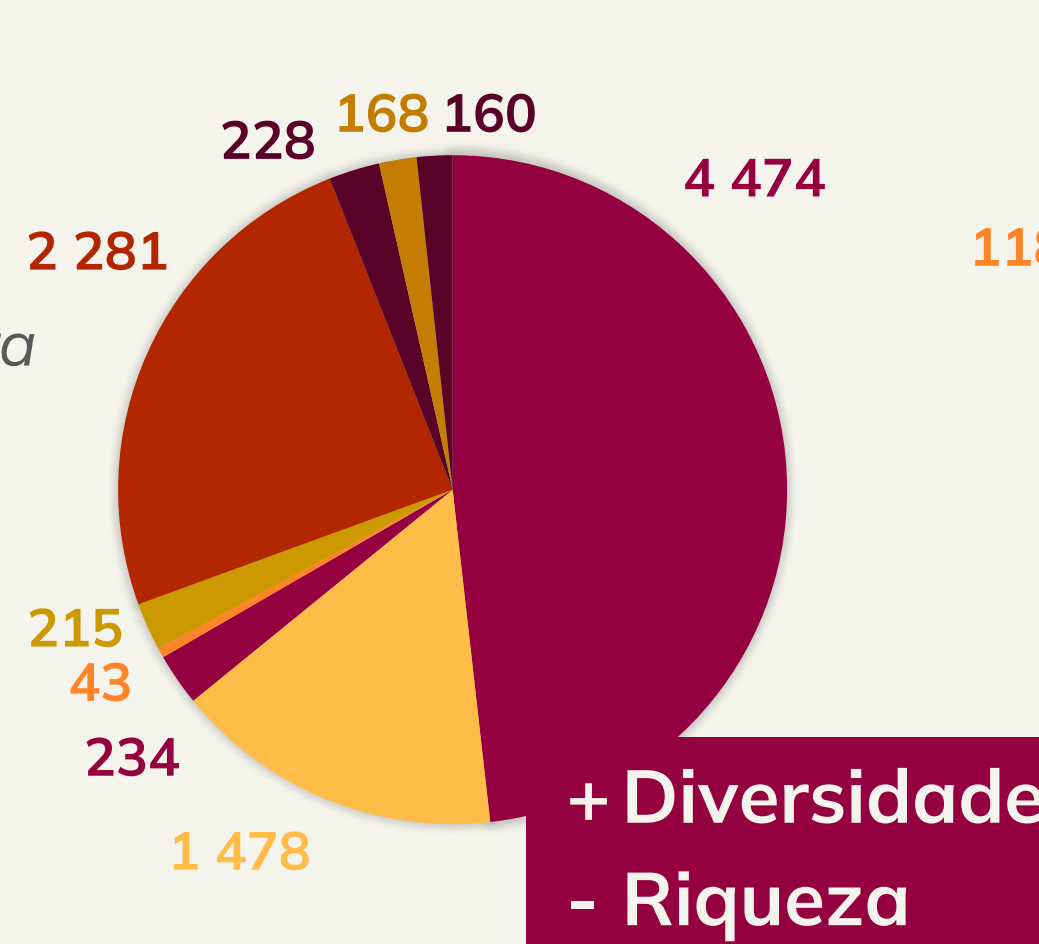
Análise Bioinformática → **258 taxa, incluindo 10 fungos responsáveis pelas GTDs**

Fungos responsáveis pelas GTDs

- *Diplodia* sp.
- *Neofusicoccum cordaticola*
- *Hormonema* sp.
- *Phaeomoniella chlamydospora*
- *Cadophora luteo-olivacea*
- *Diaporthe* sp.
- *Truncatella* sp.
- *Cryptovalsa ampelina*
- *Diatrype stigma*
- *Stereum hirsutum*

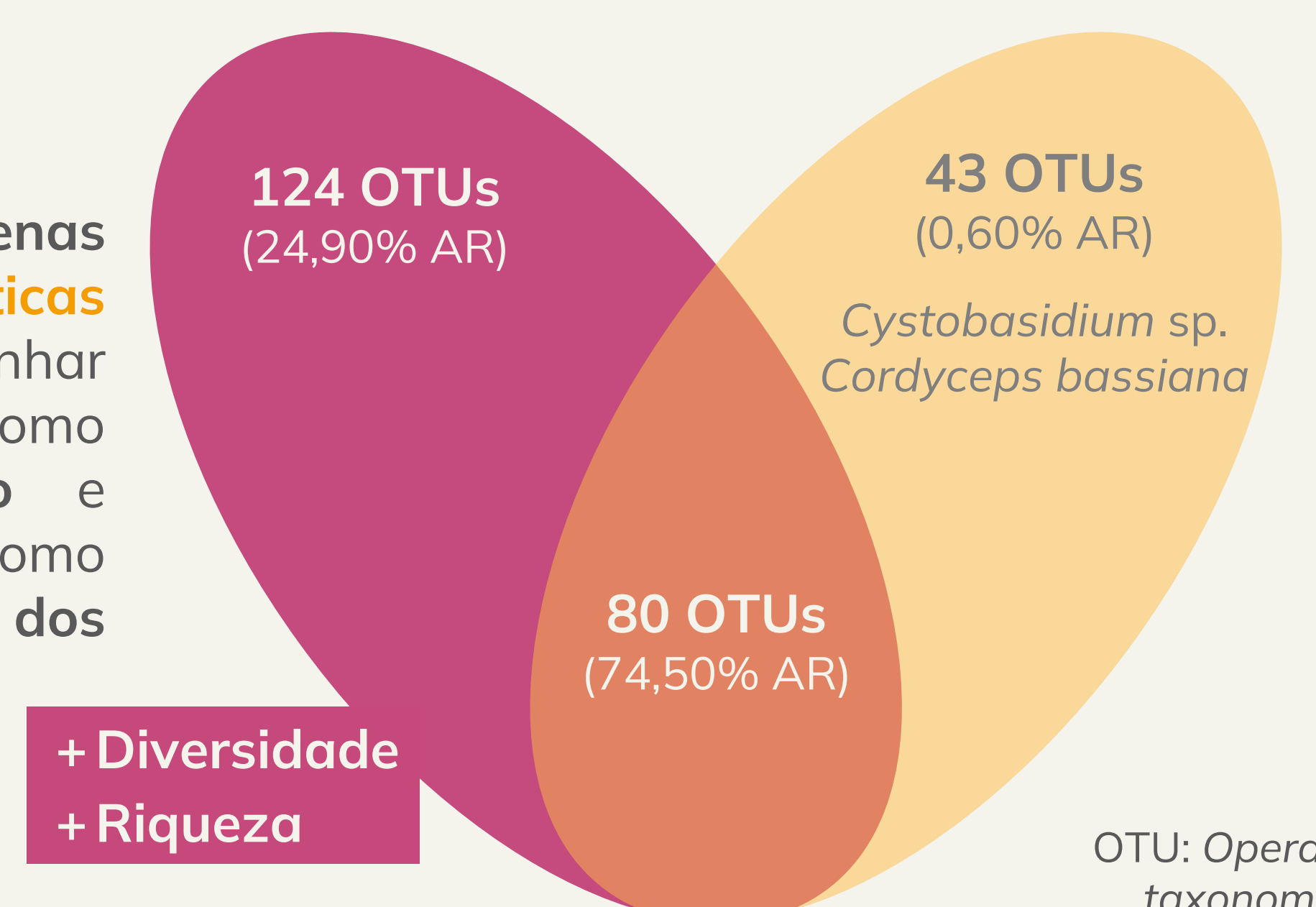
Plantas sintomáticas

Plantas assintomáticas



Fungos Endofíticos

Os fungos presentes **apenas** nas **videiras assintomáticas** podem estar a desempenhar um papel importante como **agentes de biocontrolo** e devem ser estudados como **potenciais antagonistas dos fungos do lenho**.



OTU: Operational taxonomic unit

## Conclusões

- Existe uma tendência global para reduzir a utilização de pesticidas químicos na viticultura, pelo que a gestão das GTDs tornou-se um enorme desafio.
- As comunidades identificadas incluem fungos benéficos e fitopatogénicos que podem ter um impacto significativo na produção da videira.
- Os sintomas das GTDs são intensificados pela presença de múltiplos fungos do lenho associados numa mesma planta.
- A composição das comunidades de fungos foi significativamente diferente de acordo com a sintomatologia, e não foi afetada pela cultivar.
- Este estudo contribui para uma melhor compreensão das interações videira-agente patogénico e para um melhor conhecimento das GTDs e da sua expressão, e pode contribuir para a mitigação e controlo destas doenças, as quais possuem um forte impacto económico a nível mundial.

## Informações Adicionais

**Agradecimentos** M. Patanita e J.A. Ribeiro são apoiadas por Fundos Nacionais Portugueses através da FCT/MCTES no âmbito de bolsas de doutoramento (SFRH/BD/145321/2019 e 2022.13638.BD, respetivamente).

**Financiamento** Este trabalho é financiado por Fundos Nacionais através da FCT no âmbito do Projeto UIDB/05183/2020.

