

Os nemátodes de quisto da batateira: ameaça crescente para os campos de batata em Portugal

Os nemátodes de quisto da batateira são uma ameaça para a cultura da batata, obrigando a um plano nacional de prospecção destes organismos. As prospecções dos últimos anos revelam uma tendência para o aumento da presença de, pelo menos, uma das espécies destes nemátodes.

M.^a Lurdes Inácio, M.^a João Camacho, Filomena Nóbrega, Eugénia Andrade . INIAV, I.P.



Clara Serra . Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária, Tapada da Ajuda, Lisboa

Os nemátodes são animais geralmente vermiformes que podem ser encontrados em quase todos os ambientes, desde que com alguma disponibilidade de água. De todas as espécies, estima-se que cerca de 10% sejam parasitas das plantas (nemátodes fitoparasitas) (Figura 1).

Os nemátodes parasitas das plantas, maioritariamente de reduzidas dimensões (0,2-3 mm) possuem uma estrutura especializada – o estilete (Figura 2) – para se alimentarem, injectando enzimas nas células vegetais e extraíndo de seguida o seu conteúdo, causando elevados prejuízos às culturas agrícolas. Nos solos, eles ocupam sobretudo as camadas superiores aonde a matéria orgânica, as raízes das plantas e outros recursos são mais abundantes.

Os nemátodes de quisto da batateira

Um grupo economicamente importante de nemátodes fitoparasitas são os nemátodes de quisto, em particular os nemátodes de quisto da batateira que podem causar graves danos nesta cultura. Esta designação tem sido utilizada para englobar duas espécies – *Globodera rostochiensis* e *Globodera pallida* – e advém do facto de que o corpo das fêmeas de ambas as espécies, após a sua morte, se transforma num quisto globoso, contendo os ovos (Figura 3). Estes quistos são essenciais para a sobrevivência destes nemátodes, correspondendo a um estágio de maior resistência no seu ciclo de vida.

Origem e ocorrência

Ambas as espécies são originárias da Cordilheira dos Andes, sul do Peru, e têm uma distribuição mundial. Na Europa, *G. rostochiensis* foi detectada na Alemanha em 1880 tendo-se disseminado para outros paí-



Figura 1 – Nemátode fitoparásita, com cerca de 0,5 mm de comprimento: a) zona da cabeça; b) zona da cauda



Figura 2 – Região anterior com o estilete (seta) de nemátode fitoparásita (ampliação x600)

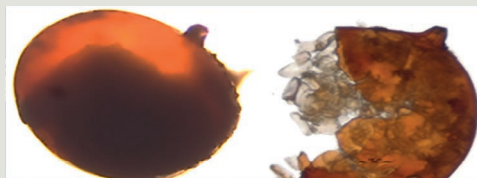


Figura 3 – Quisto de *Globodera* sp. intacto e quisto aberto expondo os ovos (ampliação x80)

ses europeus produtores de batata. A espécie *G. pallida* só seria identificada em 1973, em Inglaterra. *Globodera rostochiensis* foi assinalada pela primeira vez em Portugal num campo de batata-semente em Bragança e encontra-se presente em todas as regiões produtoras de batata do país. Já *G. pallida* só viria a ser detectada em território nacional no ano de 1988, também no norte.

Hospedeiros e importância

As plantas hospedeiras destes nemátodes estão limitadas às solanáceas e são sobretudo a batateira, o tomateiro e a beringela. Quando estas plantas são cultivadas em monocultura por várias temporadas em solos infestados, as densidades de nemátodes podem aumentar para níveis muito elevados, inviabilizando as culturas. Além disso, estes nemátodes também parasitam infestantes como a erva-moira e a figueira-do-inferno, entre outras. Uma vez que a batateira é uma das culturas mais importantes a nível mundial, e em particular no espaço europeu, os estragos causados pelos nemátodes de quisto e o decréscimo da produção ocasionam grande impacto económico nesta cultura.

Ciclo de vida

O ciclo de vida destes nemátodes compreende a fase de ovo e quatro estádios juvenis, separados por quatro mudas, que antecedem a fase de adulto (macho ou fêmea) (Figura 4), e em condições normais completa-se entre 5 a 8 semanas, o que corresponde a uma geração por cada cultura do hospedeiro. O ciclo de vida inicia-se com a formação dos ovos no interior dos quistos, que irão dar origem à próxima geração. No interior de cada ovo ocorre a primeira muda e formam-se os juvenis de primeiro estágio (J1). Os juvenis, já com estilete, quando estimulados pelos exsudados emitidos pelas raízes das plantas, e reunindo boas condições de temperatura e humidade, eclodem dos ovos como juvenis de segundo estágio (J2) (Figura 5). Estas espécies de *Globodera* preferem solos bem drenados, areias ou solos leves com um bom teor de humidade. Temperaturas do solo variando entre 15-20 °C são óptimas para a eclosão dos ovos e infestação das raízes.

Os J2 após eclodirem penetram nas raízes das plantas hospedeiras, com o auxílio do estilete, e progridem entre as células para o interior da raiz até se fixarem num local de alimentação (endoparasitas sedentários). Ao longo de cerca de quatro semanas sofrem várias mudas até atingir o estado adulto, sejam machos ou fêmeas. Estas, após fecundadas, aumentam de tamanho devido ao desenvolvimento dos ovos, e rompem a epiderme da raiz, ficando com a parte da cabeça no interior da raiz e o resto do corpo no exterior. Nesta fase são visíveis a olho nu, sob a forma de pequenas esferas sendo as de *G. rostochiensis* inicialmente de cor branca e depois amarelo dourado (nemátode dourado da batateira), e em *G. pallida* são de cor branco pérola (Figura 6). Quando os ovos atingem a maturação, as fêmeas de ambas as espécies morrem, a parede dos quistos (cutícula) torna-se mais espessa e escura e o corpo transforma-se num quisto, de parede dura, castanha e resistente à seca. Um quisto pode conter entre 100 a 500 ovos que podem eclodir imediatamente ou permanecer viáveis no solo, em estado latente, por muito tempo (chegam aos 25-30 anos), mesmo na ausência de hospedeiro adequado.

Modos de dispersão

Os quistos podem ser dispersos a longas distâncias através de solo infestado aderente aos tubérculos e às raízes das plantas, ao calçado e à maquinaria agrícola e embalagens. O vento, a chuva e as águas de rega também podem dispersar quistos viáveis, assim como o gado ao alimentar-se (os quistos passam intactos pelo tracto digestivo) e no solo aderente aos cascos. De salientar que a plantação de batata-semente com solo aderente é o principal modo de dispersão destes nemátodes, assim como a água de rega. Uma vez que a dispersão ocorre pela disseminação de alguns quistos pelo campo, os primeiros sintomas só são visíveis quando a praga já está bem estabelecida havendo depois um rápido aparecimento de plantas afectadas.

Sintomas

Durante o período vegetativo, o ataque dos nemátodes de quisto traduz-se pelo aparecimento de manchas nas parcelas, em que as plantas apresentam as folhas mais pequenas que o normal, com uma coloração amarelada e murchas, mesmo após a rega. As folhas superiores enrolam e têm manchas castanhas nas margens dos folíolos (Figura 7). As raízes podem ter lesões castanhas e ramificações anormais, não havendo resposta à

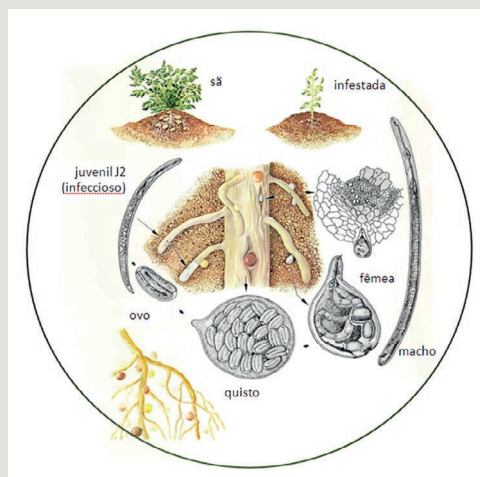


Figura 4 – Ciclo de vida do nemátode da batateira *Globodera rostochiensis* (adaptado de Paap, 2013)

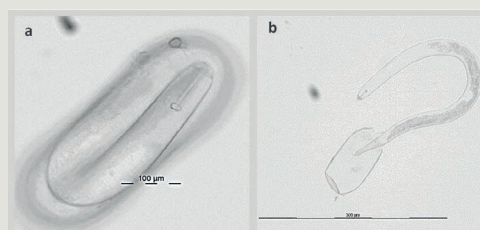


Figura 5 – Juvenil de *Globodera* sp. a) no interior do ovo (presença do estilete com bolbos na base), b) a eclodir do ovo



Figura 6 – Quistos de *Globodera rostochiensis* (a) e *Globodera pallida* (b) em raízes de batateira (fonte: Central Science Laboratory York, UK)



Figura 7 – Sintomas de ataque de nemátodes dos quistos da batateira: folhas da base murchas e cloróticas e as superiores enroladas e com manchas castanhas nas margens

fertilização. Pode também observar-se uma maior proliferação de ervas daninhas junto às plantas afectadas, menos capazes de competir com as infestantes. Os tubérculos são mais pequenos e em menor número e podem ter pequenas lesões à superfície, desvalorizando-os do ponto de vista comercial.

A observação cuidada das raízes poderá permitir a detecção dos pequenos quistos.

Medidas de controlo

Sendo nemátodes de quarentena (lista A2 da OEPP, Organização Europeia e Mediterrânica para a Protecção das Plantas <https://www.eppo.int/>) e representando um risco para a cultura da batata em Portugal e em todo o território comunitário, foi estabelecido o plano nacional de prospecção dos nemátodes de quisto da batateira, que se encontra descrito no decreto-lei 87/2010, de 16 Julho, que transpõe a Directiva 2007/33/CE, de 11 Junho, visando proteger as produções nacionais de batata, e evitar a sua dispersão no território nacional e europeu. Este plano assenta na prospecção dos campos de batata-semente e viveiros de algumas espécies de plantas antes da plantação, bem como dos campos de batata de consumo em qualquer época do ano (0,5% dos campos). Os campos têm de estar isentos de quistos viáveis de ambas as espécies de *Globodera*, ou ficam sujeitos à implementação de medidas fitossanitárias. Quando há detecção de infestações, os campos são colocados sob quarentena sendo o proprietário notificado para aplicação das seguintes medidas fitossanitárias durante 6 anos:

- Proibição de produção de batata-semente;
- Proibição de produção de plantas de viveiro de tomate, pimento e beringela se destinadas a instalação noutra local definitivo;
- Proibição de produção de material de viveiro, excepto se devidamente desinfectado, lavado ou escovado para eliminação da terra aderente na altura da sua colheita, de jovens plantas de alho-francês, beterraba, couves, espargos e morangueiro e de bolbos/tubérculos/rizomas de cebola, chalota, dália, gladiólos, íris, jacintos, lírios, narcisos e tulipas;
- Proibição de plantação de batata de consumo e eliminação de batateiras que emergem a partir de tubérculos deixados no terreno (“zorras”).

Após estes 6 anos, o campo tem de ser novamente prospectado e as medidas só serão levantadas se uma nova análise laboratorial comprovar a ausência de quistos.

No caso da produção de batata de consumo, em alternativa ao período de proibição de plantação durante 6 anos, pode ser autorizado o cultivo exclusivo de variedades resistentes, sendo o período de quarentena de pelo menos 3 anos, em rotação com espécies não hospedeiras.

O controlo destes nemátodes é difícil porque os ovos e os juvenis dos primeiros estádios estão protegidos no interior dos quistos. Assim, e considerando a impossibilidade de erradicação dos nemátodes de quisto da batateira, a estratégia de luta visa limitar a sua dispersão para outras áreas e reduzir as populações nas parcelas infestadas. Adicionalmente, deve assegurar-se a ausência de infestantes hospedeiras e usar batata-semente certificada e variedades resistentes ou menos susceptíveis. Em Portugal, a DGAV publica periodicamente uma lista actualizada de variedades de batata resistentes a *G. rostochiensis* e/ou *G. pallida*. A gestão das populações de *G. pallida* é mais problemática, uma vez que há muito menos variedades resistentes comercialmente interessantes e nenhuma possuindo total resistência a este organismo.

Noutros países, a biofumigação com recurso à utilização de plantas da família Brassicaceae, por exemplo, começa a ser encarada como alternativa em programas de controlo de nemátodes de quisto, sobretudo em agricultura biológica. Já o emprego de nematodocidas resulta geralmente oneroso, pode interferir na restante nematofauna do solo gerando ainda maior desequilíbrio a favor dos fitoparasitas e preocupações de natureza ambiental.

Situação em Portugal

Nas análises efectuadas no INIAV em amostras de solo colhidas em campos de batata de consumo nos anos de 2015 (149 campos) e 2016 (103 campos) em Portugal continental, obteve-se um maior número de detecções de *G. pallida*, o que contraria os dados de anos anteriores e a ideia de que este nemátode teria uma presença muito restrita no nosso país, até porque tem preferência por climas mais frescos (Figura 8). Este resultado leva a questionar se as medidas de controlo estão a ser eficazes ou se se estará a favorecer a dispersão de *G. pallida* ao utilizar variedades resistentes a *G. rostochiensis*, com base nos resultados das prospecções de anos anteriores e nos programas de quarentena adoptados. Esta ocorrência não é inédita e tem vindo a verificar-se noutros países da zona OEPP, nomeadamente no Reino Unido aonde o controlo dos nemátodes de quisto da batateira tem estado assente sobretudo na utilização da var. Maris Piper, com plena resistência à população do Reino Unido de *G. rostochiensis*: na ausência de meios adicionais de combate a estes organismos, as populações de *G. pallida* têm vindo a aumentar. Neste âmbito, são ne-

cessários trabalhos para avaliar a dispersão de *G. pallida* no nosso país e determinar a eficácia das medidas fitossanitárias implementadas. Assim, o plano nacional de prospecção dos nemátodes de quisto da batateira levado a cabo pela DGAV deve abranger a maior área possível de produção de batata, com particular atenção para os campos de batata-semente, para cumprimento da isenção de ambas as espécies. Para tal, é requerida uma identificação precisa que permita distinguir cada uma das espécies em causa.

Detecção e identificação de *G. rostochiensis* e *G. pallida*

A forma mais segura de identificar nemátodes de quisto da batateira é através da análise ao solo. Sendo um organismo de quarentena, o fluxo analítico, com indicação dos métodos de extracção e identificação possíveis de ser utilizados (procedimentos),

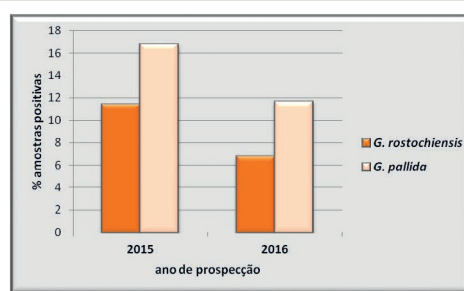


Figura 8 – Amostras de solo (%) dos campos de batata de consumo prospectados em 2015 (149 campos) e 2016 (103 campos), em Portugal, com presença de *Globodera rostochiensis* e *Globodera pallida*

está definido pela OEPP, nomeadamente na Norma PM 7/40 (3). Os nemátodes têm de ser extraídos do solo para a sua posterior identificação, sobretudo os quistos. Estes procedimentos são efectuados no laboratório, designadamente no Laboratório de Nematologia do INIAV, que tem a seu cargo a execução das análises do Plano Nacional de Prospecção dos nemátodes de quisto da batateira, em campos de batata de consumo. Por ser requerida a secagem do solo, esta análise tem sempre uma demora acrescida. Uma vez que se trata de espécies muito semelhantes, é necessário recorrer a métodos robustos, conjugando uma identificação morfológica com a análise molecular. A identificação baseada nas características morfológicas dos juvenis de segundo estágio e na zona terminal do quisto pode ser conclusiva em muitos casos, sobretudo se efectuada por técnicos experientes e com equipamento óptico de levada resolução. No entanto, podem sempre subsistir algumas dúvidas, uma vez que os intervalos das me-

dições do comprimento do corpo, da cauda e do estilete de J2, e da vulva (zona oposta ao “pescoço” do quisto) e da distância ao ânus da fêmea, assim como a forma do estilete (nomeadamente dos bolbos da base) e o padrão vulvar se sobrepõem nas duas espécies. Deste modo, a confirmação da identificação da(s) espécie(s) presente(s) na amostra é feita por análise molecular (anexo 3A, Norma PM7/40), no Laboratório de OGM e Biologia Molecular do INIAV. Esta análise foca-se na detecção e identificação de um fragmento de DNA correspondente ao gene 18S rRNA e à região “Internal Transcribed Spacer 1” – ITS1 que varia entre as duas espécies e é conservada dentro de cada espécie. Por outro lado, apenas exemplares previamente identificados como *Globodera* sp. podem ser enviados para análise molecular, porque outros nemátodes de quisto não pertencentes a este género (como *Heterodera* sp.) podem também ser detetados, baixando a eficiência da reacção de detecção e identificação da espécie e, no extremo, gerar falsos negativos para as espécies de quarentena. Ou seja, a análise molecular confirma a identificação morfológica, mas esta terá sempre de anteceder a abordagem molecular, complementando-se uma à outra na distinção das duas espécies de *Globodera*. Esta distinção torna-se, cada vez mais, necessária com vista à determinação das infestações visando adoptar os melhores procedimentos de gestão das populações dos nemátodes de quisto presentes nos campos de batata portugueses. 🚫

Bibliografia

- Camacho, M.J. (2016) *Identificação morfológica e molecular de Globodera rostochiensis e Globodera pallida presentes em campos de batata portugueses*. Tese de Mestrado em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal, 60 pp.
- EPPO (2013) PM7/40(3) *Globodera rostochiensis e Globodera pallida*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin: 43 (1), 119-138.
- Marks, B.; Brodie, B. (1998) *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford, UK, 408 pp.
- Mota, M. (1989) *Caracterização morfológica e identificação dos nemátodes dos quistos, Heterodera spp. e Globodera spp.* Trabalho de síntese destinado às provas de aptidão pedagógica. Universidade de Évora, Évora, 60 pp.
- Paap, C. (2013) *Globodera rostochiensis* Life cycle. Disponível em: <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G053S2.HTM#LifeCycle>.
- Santos, M.N.S.; Fernandes, M.F. (1988) The occurrence of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in Portugal. *Nematologia Mediterranea*, 16:145.