



Image Generator: ChatGPT

BIOSSENSORES PARA A DETEÇÃO DE PRAGAS E DOENÇAS NO SETOR AGROFLORESTAL

Os biossensores para deteção de pragas e doenças representam uma revolução no setor agroflorestal, permitindo uma identificação rápida e precisa dos inimigos das plantas. Esta tecnologia inovadora promove uma gestão mais sustentável, reduzindo o uso de pesticidas e otimizando a sanidade das culturas e das nossas florestas.

Maria João Camacho, Eugénia de Andrade e Maria Lurdes Inácio

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



Há novas ferramentas a revolucionar a agricultura: os sensores

Os sensores são, geralmente, instrumentos miniaturizados capazes de detetar e medir um sinal físico, químico ou biológico e convertê-lo num sinal elétrico de fácil leitura por um “software” específico para interpretação pelo utilizador final. Hoje em dia, já são utilizados diferentes tipos de sensores como parte integrada na gestão da produção agrícola, com o objetivo de melhorar a produtividade e promover a sustentabilidade das culturas. Estes sensores de aplicação agrícola desempenham um papel central na recolha de dados em tempo real, durante o ciclo de crescimento das culturas, desde a plantação até à colheita, os quais depois de tratados fornecem aos produtores uma grande quantidade de informação que lhes permite otimizar a tomada de decisão e o uso de recursos.

Os sensores foram inicialmente desenvolvidos para detetar sobretudo parâmetros físico-químicos dos solos (como pH, temperatura, humidade, condutividade elétrica, entre outros). O seu sucesso levou ao desenvolvimento de sensores para uso em outros setores, como a deteção de deficiências nutritivas nas plantas, a localização e movimento de animais nas pastagens, a deteção de sinais vitais e comportamento de animais, as condições ambientais em estufas, a deteção de “stresses” abióticos, de pragas e doenças agrícolas. Para esta última utilização, tornou-se necessário recorrer a biossensores, que combinam um transdutor com um recetor biológico. O crescente desenvolvimento de biossensores, juntamente com tecnologias de informação e nanotecnologias, está a abrir novas oportunidades para a agricultura de alta precisão.

A agricultura de precisão já dispõe de equipamentos e “softwares” especializados, no entanto, a interpretação dos dados obtidos necessita do conhecimento integrado em vários domínios científicos, tais como a fitossanidade e a informática. O ponto crítico para melhorar a gestão fitossanitária de uma cultura passa pela combinação de diferentes tecnologias, permitindo aos agricultores a deteção precoce, rápida e precisa de pragas, doenças e infestantes no campo agrícola (“Point of care” – POC)

e é aqui que a deteção com biossensores pode fazer a diferença. A deteção precoce é fundamental na gestão de pragas, doenças e infestantes, particularmente se tal acontecer antes da ocorrência de sintomas ou estragos significativos nas culturas. Quando se consegue identificar a presença de pragas, doenças ou infestantes numa fase inicial é possível atuar de forma direcionada, preventiva ou curativa, evitando a propagação e reduzindo a necessidade de muitos tratamentos químicos. Os métodos tradicionais de identificação de pragas e doenças nas culturas normalmente envolvem inspeções visuais e a identificação de sintomas. Estes métodos, além de exigirem muito tempo e recursos humanos especializados, só têm sucesso quando os sintomas já são muito visíveis ou os danos são substanciais. Nesta fase, o controlo é menos eficiente, leva a perdas significativas na produtividade, exige a aplicação intensiva de pesticidas e reduz a qualidade dos produtos para a alimentação.

Assim, o uso de tecnologias de deteção precoce, como os sensores, permite uma intervenção atempada e eficaz, assegurando a gestão da proteção integrada e sustentável das culturas, a obtenção de alimentos seguros e a proteção dos territórios agrícolas nacionais e europeus.

Sensores para deteção de pragas e doenças das culturas

Atualmente, os sensores óticos e térmicos acoplados a “drones” e/ou a satélites são utilizados durante as campanhas agrícolas para detetar, no campo, manchas de plantas afetadas por agentes patogénicos ou por pragas. Contudo, estas tecnologias apresentam dificuldades em identificar/diferenciar com precisão se os estragos e os sintomas são causados por pragas e doenças das plantas, respetivamente, ou se são resultantes de fatores abióticos (Shao *et al.*, 2023). Para ultrapassar esta incapacidade, nas últimas décadas foram desenvolvidos diferentes biossensores para a deteção de agentes patogénicos/parasitas de plantas, tais como:

- imunossensor eletroquímico para a deteção precoce de *Xanthomonas arboricola* em amostras de nogueiras (Regiart *et al.*, 2017);

- biossensores eletroquímicos para detecção do vírus da *sharka* em ameixeira (“*Plum Pox Virus*” – PPV) (Jarocka *et al.*, 2011; Malecka *et al.*, 2014);
- biossensores para detecção de ADN de agentes patogénicos de plantas através de sondas associadas a nanopartículas de ouro (Lau *et al.*, 2017). Estes biossensores envolvem a amplificação da sequência de ADN-alvo que, posteriormente, vai hibridar com a sonda desenhada especificamente para identificar *Pseudomonas syringae* em amostras de plantas infetadas;
- biossensores de fluxo lateral, com base em nanopartículas de ouro, para identificar diferentes agentes patogénicos de plantas, incluindo o vírus X da batateira (“*Potato Virus X*” – PVX) (Drygin *et al.*, 2012), *Phytophthora infestans* em batateira e tomateiro (Zhan *et al.*, 2018), ou espécies de *Fusarium* no milho (Xu *et al.*, 2019);
- nanoelétrodo de ouro acoplado a nanopartículas de cobre para detecção de níveis de ácido salicílico em sementes oleaginosas infetadas com *Sclerotinia sclerotiorum* (Dubey *et al.*, 2016);
- nariz eletrónico (“e-nose”) e cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (GC-MS) para detetar a infeção por podridão basal de *Fusarium* em cebolas (Labanska *et al.*, 2022), a morte descendente da mangueira e a doença do Panamá (TR4) em bananeiras (Ratnayake *et al.*, 2024);
- nariz bioeletrónico com base em ADN de cadeia simples e num nanotubo de carbono de parede única para identificar p-etilfenol, libertado por morangos infetados com *Phytophthora cactorum* (Wang *et al.*, 2020).

Sensores no INIAV

Nos últimos anos, o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV), na sua qualidade de Laboratório Nacional de Referência para a Sanidade Vegetal, tem vindo a encorajar todos os agricultores a explorar o potencial dos sensores e de outras ferramentas digitais para melhorar as suas práticas. Assim, os investigadores deste instituto têm colaborado em equipas multidisciplinares para desenvolver/adaptar dispositivos eletrónicos à base de sensores para detecção de pra-

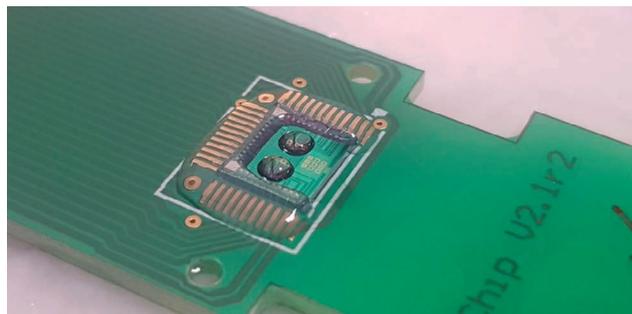


Figura 1 – Sensor magnetorresistivo utilizado para detetar *Globodera pallida*, o nemátode-de-quisto da batateira.



Figura 2 – Protótipo utilizado para detecção de *Globodera pallida*, o nemátode-de-quisto da batateira.

gas e doenças que afetam a sanidade das plantas, assim como para desenvolver métodos específicos de detecção aplicáveis a sensores já existentes, nomeadamente:

- sensores magnetorresistivos (Figura 1), com base em nanopartículas magnéticas, para detecção de *Globodera pallida* (nemátode-de-quisto da batateira) (Figura 2). A detecção do nemátode envolve a amplificação de um fragmento do seu ADN por PCR assimétrico (Camacho *et al.*, 2023) ou por uma reação isotérmica em “loop” – LAMP (Camacho *et al.*, 2024) que, posteriormente, vai hibridar com a sonda desenhada especificamente para identificar *Globodera pallida*. Este trabalho decorreu numa parceria com o Instituto de Engenharia de Sistemas e Computadores – Microsistemas e Nanotecnologias (INESC-MN, Portugal);
- elétrodos de carbono (Figura 3) funcionalizados com vancomicina para detetar bactérias Gram-positivas (Figura 4) (Novakovic *et al.*, 2024),



Figura 3 – Biossensores eletroquímicos utilizados para detetar bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* foram testados como organismo-tipo).

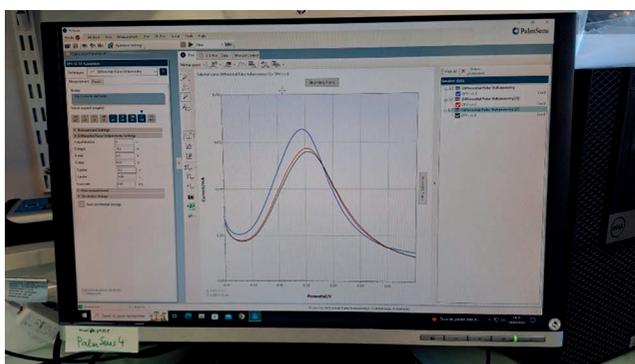


Figura 4 – “Software” para deteção eletroquímica de bactérias Gram-positivas.

numa parceria com o Institut National de Recherche pour l’Agriculture, l’Alimentation et l’Environnement (INRAe, França) e com o INESC-MN. Neste trabalho, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* foram testados como organismos de referência;

- sensores magnetorresistivos para deteção de *Salmonella* (com base em anticorpos e em sequências de ADN específico), numa parceria com o BioSense Institute (Sérvia) e com o INESC-MN;
- métodos LAMP para utilizar com sensores moleculares como o B-cube, Hyris Lda., e o DoctorVida, StabVida (Figura 5). Estes sensores moleculares são portáteis e podem ser facilmente utilizados no campo de cultura juntamente com “kits” de deteção específicos para certas pragas e doenças. O “kit”, para comercialização junto do agricultor, o método de deteção do nemáto-

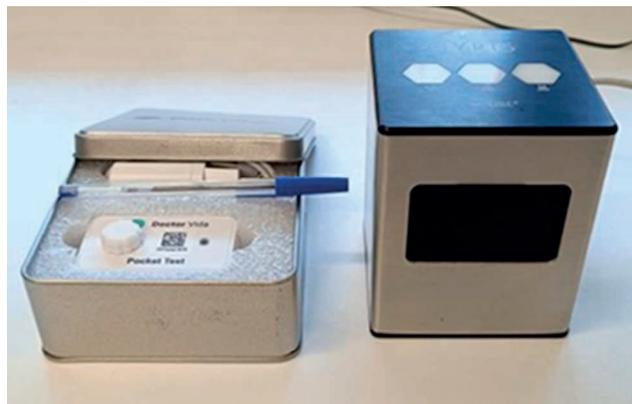


Figura 5 – Equipamentos com sensores moleculares (DoctorVida desenvolvido pela StabVida e B-cube desenvolvido pela Hyris Lda.), utilizados para deteção de pragas e doenças agrícolas, associados a métodos LAMP desenvolvidos no laboratório de OGM do INIAV.

de *Globodera pallida* e o método para a deteção precoce de mildio na rúcula selvagem, encontra-se já na fase de adaptação. O laboratório de OGM do INIAV encontra-se ainda a desenvolver outros métodos para adaptação a “kit” comercial numa colaboração com o ICAR – Indian Agricultural Research Institute, Nova Deli.

- “e-noses” para deteção de voláteis emitidos por pragas florestais e agrícolas – *Phytophthora ramorum*, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa armigera*, *Halyomorpha halys* e *Bursaphelenchus xylophilus* (Figura 6). Neste momento, estes sen-



Figura 6 – Protótipo do Projeto PurPest a ser testado no campo para recolha de compostos orgânicos voláteis para deteção de pragas (<https://www.purpest.eu>).

sores estão a ser desenvolvidos no âmbito do projeto europeu PurPest (<https://www.purpest.eu>), que visa o desenvolvimento destas novas tecnologias, no qual investigadores do laboratório de Nematologia do INIAV são parceiros.

No laboratório de Nematologia do INIAV tem havido uma forte aposta na investigação e desenvolvimento de “smart technology” para a deteção de nemátodes fitoparasitas, quer em culturas agrícolas, quer no setor florestal. O objetivo é permitir a deteção precoce destes agentes nos campos de cultura e, no caso concreto do nemátode-da-madeira-do-pinheiro, nos postos de entrada de mercadorias em paletes, assim como nas unidades de tratamento de madeira e mesmo no pinhal. Embora já tenham passado cerca de duas décadas desde o aparecimento dos primeiros artigos sobre o tema, estas tecnologias não têm ainda uma grande aplicação, necessitando de mais investimento e pesquisa para o desenvolvimento de novos dispositivos. ☹

Bibliografia

- Camacho, M.J. et al. (2023). A Lab-on-a-Chip approach for the detection of the quarantine potato cyst nematode *Globodera pallida*. DOI: 10.3390/s23020647.
- Camacho, M.J. et al. (2024). FTA-LAMP based Biosensor for a rapid in-field detection of *Globodera pallida* – the pale potato cyst nematode. DOI: 10.3389/fbioe.2024.1337879.
- Chaudhary, M. et al. (2021). Graphene oxide based electrochemical immunosensor for rapid detection of groundnut bud necrosis orthotospovirus in agricultural crops. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122717.
- Dubey, A. et al. (2016). Nanofertilisers, Nanopesticides, Nanosensors of Pest and Nanotoxicity in Agriculture. In: Lichtfouse, E. (eds) *Sustainable Agriculture Reviews*. DOI: 10.1007/978-3-319-26777-7_7.
- Jarocka, U. et al. (2011). Impedimetric immunosensor for detection of plum pox virus in plant extracts. DOI: 10.1002/elan.201100152.
- Drygin, Y. et al. (2012). Highly sensitive field test lateral flow immunodiagnosics of PVX infection. DOI: 10.1007/s00253-011-3522-x.
- Labanska, M. et al. (2022). Preliminary studies on detection of *Fusarium* basal rot infection in onions and shallots using electronic nose. DOI: 10.3390/s22145453.
- Lau, H. et al. (2017). Specific and sensitive isothermal electrochemical biosensor for plant pathogen DNA detection with colloidal gold nanoparticles as probes. DOI: 10.1038/srep38896.
- Malecka, K. et al. (2014). Ion-channel genosensor for the detection of specific DNA sequences derived from plum pox virus in plant extracts. DOI: 10.3390/s141018611.
- Novakovic, Z. et al. (2024). Rapid detection and identification of vancomycin-sensitive bacteria using an electrochemical apta-sensor. DOI: 10.1021/acsomega.3c08219.
- Ratnayake, W. et al. (2024). Electronic Nose & GC-MS Analysis to Detect Mango Twig Tip Dieback in Mango (*Mangifera indica*) and Panama Disease (TR4) in Banana (*Musa acuminata*). DOI: 10.3390/chemosensors12070117.
- Regiart, M. et al. (2017). Development of a nanostructured immunosensor for early and *in situ* detection of *Xanthomonas arboricola* in agricultural food production. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.07.086.
- Shao, H. (2023). Current advances in the identification of plant nematode diseases: from lab assays to in-field diagnostics. DOI: 10.3389/fpls.2023.1106784.
- Wang, H. et al. (2020). Bioelectronic nose based on single-stranded DNA and single-walled carbon nanotube to identify a major plant volatile organic compound (p-ethylphenol) released by *Phytophthora cactorum* infected strawberries. DOI: 10.3390/nano10030479.
- Xu, S. et al. (2019). Lateral flow immunoassay based on polydopamine-coated gold nanoparticles for the sensitive detection of zearalenone in maize. DOI: 10.1021/acscami.9b08789.
- Zhan, F. et al. (2018). A gold nanoparticle-based lateral flow biosensor for sensitive visual detection of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*. DOI: 10.1016/j.aca.2018.06.083.