

Detecção e Medidas de Erradicação de Nematóides Associados a Germoplasma Vegetal Introduzido na Forma Propagativa

Renata Cesar Vilardi Tenente¹
Vilmar Gonzaga²
Ailton Rocha Monteiro³
Regina Gomes Carneiro¹

Summary

The plant germplasm introduced into Brazil, for research purpose, was inspected for plant-parasitic nematodes. The used technique of nematode extraction were the tray technique, sieving and maceration by blender and cyst Flotation. Usually two or more methods are used for vegetatively germplasm analysis. From 1994 to 2000, nematodes were detected in accessions, associated with imported plant materials from different countries. *Globodera* sp. was associated with potato tubers and they were incinerated. *Aphelenchoides* sp. e was associated with garlic bulbs; *Bromelia* seedlings and grape cuttings and these were treated with chemical or thermal therapy, according the species of germplasm. Also, *Aphelenchoides* sp. was found in turf substract. *Ditylenchus* sp. (juvenile) and *D. dipsaci* were detected in *Bromelia* seedlings and garlic bulbs, respectively, and they were incinerated. *Tylenchus* sp. (juvenile) was associated with *Bromelia* seedlings and was treated with carbofuran. *Bromelia* seedlings were also infested with *Helicotylenchus dihystera*; *Paratylenchus* sp., and *Pratylenchus* sp. The nematodes were eradicated from vegetatively

germplasm using those treatments, or incinerated with purpose to minimisy the risks of introduction of new nematode species or races into Brazil.

Conteúdo

O principal objetivo do Laboratório de Quarentena Vegetal (LQV), da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, é prover o sistema de pesquisa no Brasil com germoplasma vegetal de suficiente variabilidade para atender os programas de pesquisa em melhoramento genético, minimizando os riscos de introdução de novas pragas no país. Para este propósito, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é responsável pela importação e introdução de material vegetal exótico ao país. Essa importação, através deste Centro de Pesquisa, vem sendo realizada desde 1974 e tem-se verificado um significativo aumento do número de acessos nos últimos anos.

Reconhece-se a importância da introdução de material genético vegetal e o seu papel fundamental para o desenvolvimento da agricultura no Brasil. Entretanto, a introdução destes materiais tem aumentado os riscos de

¹ Eng. Agr., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., PhD, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, Piracicaba.

introdução de pragas exóticas em função do incremento do número de acessos importados. Em resposta a estes riscos, o LQV se propõe a manusear com segurança esses materiais, através do procedimento da inspeção e quarentena. Poucos acessos são recebidos pelo LQV na forma de material de propagação vegetativa, em torno de 20 a 25%, em relação aos recebidos na forma de sementes. Contudo, este tipo de material tem a capacidade de transmitir um número maior de pragas do que as próprias sementes. Portanto, a detecção e erradicação destas pragas disseminadas por materiais de propagação vegetativa importados pelo Brasil são uma das prioridades deste trabalho.

O propósito desta comunicação científica é rever os resultados da inspeção destes materiais, cobrindo o período de 1994 a 2000, com a finalidade de detectar os nematóides fitoparasitas associados a estes materiais introduzidos na forma de propagação vegetativa. Acrescentando a estes resultados, apresenta-se ainda a eficácia de alguns métodos para erradicação destes parasitas, bem como a divulgação das técnicas que não possibilitaram a eliminação dos nematóides.

Vários métodos foram usados para detecção dos nematóides, sendo o exame direto sob microscópio estereoscópio usado para verificação de presença de sintomas (galhas, lesões) ou mesmo sinais da presença de nematóides sedentários (fêmeas, cistos, massas de ovos). Foi também realizada a extração de outros nematóides parasitas ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), usando o método da bandeja modificada (Whitehead & Hemming, 1965) para recuperação de nematóides filiformes. A nossa modificação ao método da bandeja original incluiu o uso de bandejas menores (53x21x5 cm), assim como o uso de uma tela de náilon (2 mm de porosidade) para servir de suporte a uma folha de papel-toalha. Foi adicionada água destilada oxigenada (2%), em quantidade suficiente para cobrir o material vegetal colocado por cima do papel-toalha. Após 6 a 8 horas de imersão, o material foi retirado e a água passou por peneiras de 25mm de abertura. O conteúdo da peneira foi lavado em água corrente e recuperado em um becker, e a seguir procedeu-se ao exame para detecção da presença de nematóides.

Para detecção de cistos, partes do material, cortado em pequenos pedaços ($\pm 2\text{cm}$), foram colocadas em balão de vidro com 500 ml de água destilada e agitado automaticamente durante 10 minutos. A seguir, acrescentou-se solução de açúcar mais Separan (400g/l de água mais 12,5ppm de Separan) até o início do gargalo do balão e agitou-se por mais 10 minutos. Adicionou-se, cuidadosamente, a solução de açúcar até a parte de cima do gargalo de vidro e deixou-se a solução, mais o material de extração, descansando por mais 10 minutos.

Posteriormente, passou-se 1/3 desta suspensão através do papel-de-filtro (Whatman) colocado em funil de porcelana de Buckner. O material retido no papel-de-filtro foi examinado ao microscópio estereoscópico (Carvalho et al., 1953).

Para atender a erradicação, utilizou-se principalmente o tratamento químico, mais que o térmico, sendo o Carbofuran o principal produto utilizado. Não sendo possível a eliminação dos nematóides, através de algum destes dois métodos, utilizou-se a cultura de meristema para tentar a erradicação do parasita. O tratamento térmico úmido utilizado foi à temperatura entre 52°C e 54°C com o período de exposição que variou de 10 a 20 minutos. A solução de Carbofuran foi de 2,4g i.a./l e o material ficou imerso por 15 minutos (Tenente et al., 1986; 1994; 1996a). A seguir, o material foi plantado em solo esterilizado e mantido em casa de vegetação até a avaliação. O período de tempo dos respectivos tratamentos dependeu das espécies vegetais utilizadas, variando de 1 a 6 meses.

A cultura de tecido foi o tratamento de maior sucesso para limpeza do germoplasma contaminado por fitonematóides. Os materiais cresceram em meio específico, à temperatura de 20°C a 22°C , e foram incubados durante 12 horas com regime de luz. Após o período de 1 a 2 meses, o material foi checado para presença ou não dos nematóides e transplantado para solo, sob condições controladas da casa de vegetação. Após verificada a erradicação dos fitonematóides, o material foi liberado ao usuário (Tenente et al., 1983a; b; 1985 e 1996b).

Muitos dos nematóides detectados nestes materiais encontram-se em estágio de desenvolvimento, denominado juvenil, o que impede a identificação da espécie. A relação de germoplasma infectado, assim como os nematóides detectados e as técnicas de erradicação utilizadas encontram-se na Tabela 1.

Estes resultados, assim como os anteriores relatados por Manso et al., 1994; 1997; Tenente, 1985; Tenente et al., 1983b; c; 1993a; b; 1996a; b, indicam claramente a necessidade de se ter uma inspeção rigorosa e um serviço de quarentena eficiente para minimizar os riscos de introdução e disseminação de nematóides associados ao material vegetal importado.

Referências Bibliográficas

- BATISTA, M. F.; FONSECA, J. N. L.; TENENTE, R. C. V.; MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; OLIVEIRA, M. R. V.; FERREIRA, D. N. Intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal. **Biociência: Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 6, p. 32-39, 1998
- CARVALHO, J. C.; LORDELLO, L. G. E.; O. J. BOOCK. Considerações acerca do nematóide dourado da batatinha. **O Biológico**, São Paulo, v. 19, p. 196-200, 1953.
- FIGUEIRA FILHO, E. S.; BARBARA, A. L.; TENENTE, R. C. V. Tissue culture for nematodes eradication from black pepper. **Nematropica**, Auburn, AL, v. 25, p. 88, 1995.
- MANSO, E. S. B. C.; TENENTE, R. C. V. Deteção, identificação e tratamento de nematóides associados a germoplasma importado. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 18, p. 17, 1994.
- MANSO, E. S. C.; TENENTE, R. C. V.; RAZUCK, R. C. Inspection and treatment of imported plant germplasm, for nematode eradication. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FITOPATOLOGIA, 9, 1997, Montevideo, Uruguai, 1997. **Livro de resúmenes ...** Montevideo : SUF / ALF, 1997.
- TENENTE, R. C. V.; MARQUES, A. S. A.; MARQUES, L. Controle térmico e químico de *Ditylenchus dipsaci* em tubérculos de batata. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE OLERICULTURA DO BRASIL, 23., 1983. Jaboticabal, SP. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 1983a. 27 p.
- TENENTE, R. C. V.; MARQUES, A. S. A. Deteção de nematóides fitoparasitos em germoplasma e importado. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 7, 1983, Brasília, DF. **Resumos...** [S. l.: s. n.], 1983b. 7 p.
- TENENTE, R. C. V.; MARQUES, A. S. A. Transmissão de *Ditylenchus* sp. Através de sementes de feijão, *Phaseolus vulgaris*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE GERENTE, 3, 1983, Campinas, SP. **Resumos...** Campinas: ABRATES, 1983c. 98p.
- TENENTE, R. C. V. Inspeção e quarentena de germoplasma vegetal importado. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 9, p. 53-61, 1985.
- TENENTE, R. C. V.; MARQUES, A. S. A.; MANSO, E. S. B. G. C. Deteção de nematóides em germoplasma vegetal introduzido no Brasil de 1981 a 1985. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 4, p. 1019-1024, 1986.
- TENENTE, R. C. V.; FILHO, E. S. F.; MANSO, E. S. B. G. C. Tratamentos isolados ou combinados na erradicação de nematóides associados a germoplasma importado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 332. 1993b. Suplemento.
- TENENTE, R. C. V.; MANSO, E. S. C.; FILHO E. S. F. Tratamento de germoplasma vegetal visando a erradicação de fitonematóides. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 35-40, 1993c.
- TENENTE, R. C. V.; MANSO, E. S. C. Eradication of nematodes in plant germplasm. **Nematropica**, Auburn, AL, v. 24, p. 92, 1994.
- TENENTE, R. C. V.; MANSO, E. S. C.; FILHO E. S. F. Inspeção e deteção de fitonematóides em introduções de germoplasma no Brasil no período de 1992- 1994. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 19, n. 2, p. 68-73, 1996a.
- TENENTE, R. C. V.; MANSO, E. S. C.; MENDES, M. A. S.; MARQUES, A. S. A.; FILHO, E. F. Quarantine detection of nematodes and procedures for their eradicating from vegetatively materials imported by brazil. **Nematropica**, Auburn, AL, v. 26, n. 2, p. 187-191, 1996b.
- WARWICK, D. R. N.; URBEN, A. F.; TENENTE, R. C. V.; FONSECA, J. N. L. Plant quarantine activities at the national centre of genetic resources (EMBRAPA) in Brazil. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 11, p. 1225-1229, 1983.
- WHITEHEAD, A. G.; HEMMING, J. R. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. **Annals Applied Biology**, Warwickshire v. 55, p. 25-38, 1965.

Comunicado Técnico, 61

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
 Serviço de Atendimento ao Cidadão
 Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) -
 Brasília, DF. CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372
 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
 e.mail: sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição
 1ª impressão (2001): 150 unidades

Comitê de publicações

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias
Secretário-Executivo: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria
 Marta Aguiar Sabo Mendes
 Sueli Correa Marques de Mello
 Vera Tavares Campos Carneiro

Expediente

Supervisor editorial: Miraci de Arruda Câmara Pontual
Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi
 Priscila Rocha Silveira
Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva