

Agradecimentos

Em primeiro lugar queria agradecer aos meus dois orientadores deste trabalho, o professor doutor Manuel Galvão Melo e Mota e o professor doutor Carlos Alberto Guerrero, por toda a paciência e disponibilidade prestada.

Queria também agradecer aos seguintes professores doutores: Maria Albertina Gonçalves, Amilcar Manuel Marreiros Duarte, Julio Osório, Gustavo Nolasco, Margarida Machado e Teresa Cruz por todas as sugestões e apoio.

A equipa do Departamento de Entomologia e Nematologia da Universidade da Florida: Dr. William T. Crow, Dr. Donald W. Dickson, Dr. Hearther J. McAuslane, Dr. Robert McSorley, Dr. Janete Brito, Dr. Mengistun, Dr. Debbie Hall, Maria Mendes, Alfredo, Erick, Wenjing, Zhang, Tom e Nicholas Sekora, muito obrigada pela informação e ajuda durante a fase de Identificação.

Agradeço também aos greenkeepers, directores dos campos de golfe, assistentes, operadores de máquinas e jardineiros, onde foram feitas as amostragens, por toda a disponibilidade e informação dada. Em particular queria agradecer ao senhor Fernando da Quinta da Ria/Quinta de Cima por todo o carinho e amizade.

Á equipa do Nematolab: Cláudia, Vera, Margarida, Patrick e Inácia um muito obrigada pela ajuda e amizade.

Á equipa do Laboratório de solos e resíduos: João Duarte, Luísa Coelho e Maria Cidália Santos um grande obrigada pela disponibilidade, paciência, sugestões, amizade e cafés com bolinhos ou amendoins que nos momentos de desespero souberam a caviar.

Á equipa do Laboratório de Nutrição: Teresa Saavedra e Florinda Gama, obrigada por todo o material disponibilizado, e desculpem os funis que entretanto parti.

Agradeço também aos meus melhores amigos que sem eles não tinha tido a força necessária para começar e acabar este trabalho: Janete Brito, Ana Prata e Armando Marques.

E por fim, agradeço á minha família pelo apoio e carinho ao longo dos meus 31 anos de vida; e ao meu cão que conseguiu destruir a casa toda mas deixou ficar o meu computador intacto (excepto o carregador) para acabar este trabalho.

Papá e Mamã este trabalho é vosso.

Obrigada por tudo!

Resumo

Este trabalho teve como objectivos, identificar quais os métodos de extracção mais eficientes para representação da população de nemátodes em *greens* de campos de golfe; e identificar os géneros de nemátodes fitoparasitas existentes, associando-os às diferentes características dos campos: idade do campo, textura do solo, histórico de doenças, entre outros factores.

Para tal foram escolhidos campos com base nos seguintes critérios: com e sem historial de nemátodes fitoparasitas; campos situados em zonas de maior ou menor concentração de turistas; campos pertencentes ao mesmo grupo financeiro e outros com outra gestão, campos com diferentes idades; e campos com diferentes variedades de relvas.

Para os campos do mesmo grupo financeiro (Grupo Oceânico) - Laguna, Millennium, Victória, Old Course, Pinhal, Faldo e O'Connor, foram efectuadas três amostragens em diferentes datas (Julho e Setembro de 2010 e Abril de 2011); e para os restantes campos (de outros grupos) - Grupo Vale de Lobo - Royal/Ocean, Grupo CS - Álamos/Morgado do Reguengo, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Alto Golfe e Benamor, foram realizadas duas amostragens (Março e Maio de 2011).

Em todos os campos foram recolhidos 20 *cores* em 5 *greens* e foi feita a extracção utilizando três métodos diferentes - funil de Baermann, raízes maceradas e flutuação centrífuga.

Durante a avaliação do melhor método de extracção foi observado que apesar da variabilidade da amostra (tipo de solo, textura do solo, material e crivagem) o método mais eficaz foi o método de extracção por flutuação centrífuga. Este método não só apresentou maior variedade de géneros como maior quantidade de nemátodes fitoparasitas.

Em todos os campos de golfe amostrados foram observados os seguintes géneros - *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchorhynchus*, pelo que se concluiu que se tratavam dos géneros mais comuns independentemente das características dos campos amostrados.

Para os dois primeiros géneros foi frequentemente ultrapassado o limite de dano estipulado para a Europa e Estados Unidos e não foram visíveis danos nos relvados. Isto sugere que novos trabalhos deverão ser realizados na tentativa de adaptar esses limites de dano padronizados á realidade portuguesa mais concretamente á região algarvia.

Foram também encontrados em menor número e nunca em todos os campos de golfe amostrados, os seguintes géneros: *Xiphinema*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus*, *Paratrichodorus*, *Hemicycliophora*, *Hemicriconemoides* e *Criconemoides*.

Por fim, não foi possível determinar se havia alguma ligação entre os diferentes campos do mesmo grupo e grupos diferentes uma vez que o número de indivíduos dos géneros encontrados foi pouco significativo.

Abstract

The major objectives of this study were, to identify the most efficient extraction methods that would represent the population of nematodes and to identify the existing genera of plant parasitic nematodes on greens of golf courses from Algarve and to associate them with different golf course characteristics: age of the field, soil texture, history of disease, etc.

Golf courses were selected based on the following criteria: with and without a history in plant parasitic nematodes; golf courses located in areas of greater or lesser concentration of tourists; golf courses belonging to the same or a different financial economic group; golf courses with different ages; and golf courses with different varieties of turfgrass.

For the golf courses of the Oceânico Group - Laguna, Millennium, Victoria, Old Course, Pinhal, Faldo and O'Connor, three sampling times were considered (July and September 2010 and April 2011), and for the remaining golf courses (from others financial groups) - Vale de Lobo Group - Royal / Ocean, CS Group - Álamos / Morgado Reguengo, Quinta da Ria / Quinta de Cima, Alto Golf e Benamor two sampling periods were considered (March and May 2011).

In all fields five greens were sampled. From each green 20 soil cores were collected. The extraction of nematodes was made by using three different extraction methods - Baermann funnel, macerated roots and centrifugal flotation.

In the evaluation of the best method of extraction, we observed that despite the variability of the sample (soil type, soil texture, material and screening), the most effective method was the centrifugal flotation method, which showed greater variety and quantity of genera of plant parasitic nematodes.

For all golf courses sampled, and independent of their characteristics, we observed that the most common genera were - *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* and *Tylenchorhynchus*.

For the first two genera, the number of collected nematodes exceeded the damage threshold stipulated for Europe and the USA, whereas no visible damage was seen on the turfgrass. This suggests that further studies should be conducted to adjust those standardized damage thresholds to the Portuguese reality.

The following genera were also found in the different golf courses: *Xiphinema*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus*, *Paratrichodorus*, *Hemicycliophora*, *Hemicriconemoides* and *Criconemoides*. For these genera, the number of collected nematodes were very small suggesting that more sampling and in more different times in a year should be done.

Finally, it was not possible to determine links between the genera and the different golf courses of the same group and within groups.

Índice

Agradecimentos.....	1
Resumo.....	2
Abstract.....	4
I - INTRODUÇÃO.....	9
II - ENQUADRAMENTO TEÓRICO.....	11
1. Biologia geral dos nemátodes fitoparasitas.....	11
1.1. Enquadramento geral.....	11
1.2. Morfologia e estrutura.....	12
1.3. Ciclo de vida e reprodução.....	19
1.4. Factores que influenciam o desenvolvimento dos nemátodes e as suas adaptações	21
1.5. Movimentação.....	23
1.6. Tipos de parasitismo.....	24
2. Géneros mais comuns de nemátodes fitoparasitas dos relvados de golfe.....	27
2.1. Enquadramento geral.....	27
2.2. Nemátodes ectoparasitas.....	30
2.3. Nemátodes endoparasitas.....	39
2.3.1. Nemátodes endoparasitas sedentários.....	39
2.3.2. Nemátodes endoparasitas migratórios.....	40
3. Sintomas dos danos causados pelos nemátodes fitoparasitas.....	41
3.1. Enquadramento geral.....	41
3.2. Sintomas das partes aéreas.....	43
3.3. Sintomas das raízes.....	45
3.4. Nemátodes como transmissores de vírus e fungos.....	47
4. Golfe versus nemátodes.....	49
4.1. Enquadramento geral.....	49

4.2. Limites de dano (<i>damage threshold</i>).....	50
III – MATERIAL E MÉTODOS.....	53
1. Enquadramento geral – Objectivos e procedimentos gerais.....	53
2. Amostragem.....	53
2.1. Local de colheita.....	53
2.2. Número de amostras.....	58
2.3. Data da colheita.....	67
2.4. Procedimento de colheita – material, padrão de amostragem, número de subamostras por amostra e conservação até ao seu processamento.....	68
3. Método de extracção.....	70
3.1. Enquadramento teórico.....	70
3.2. Flutuação Centrífuga (FC).....	71
3.3. Funil de Baermann (FB).....	73
3.4. Raizes maceradas.....	74
4. Identificação dos nemátodes fitoparasitas.....	74
5. Análise estatística.....	79
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
1. Avaliação dos métodos de extracção utilizados no processo de amostragem... 81	
1.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor	81
1.1.1. Resultados.....	81
1.1.2. Discussão.....	90
1.2. Campos de golfe do Grupo Oceânico.....	92
1.2.1. Resultados.....	92
1.2.2. Discussão.....	98

2. Géneros de nemátodes fitoparasitas por campo de golfe e por amostragem... 99	
2.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor 99	
1.1.3. Resultados..... 99	
1.1.4. Discussão..... 107	
2.2. Campos de golfe do Grupo Oceânico..... 108	
2.2.1. Resultados..... 108	
2.2.2. Discussão..... 115	
3. Comparação de géneros por campos de golfe e por amostragem..... 117	
3.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor 117	
3.1.1. Resultados..... 117	
3.1.2. Discussão..... 126	
3.2. Campos de golfe do Grupo Oceânico..... 127	
3.2.1. Resultados..... 127	
3.2.2. Discussão..... 134	
V – CONCLUSÃO..... 135	
VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 138	

I – INTRODUÇÃO

A paisagem algarvia tem mudado muito nas últimas décadas. Com um excelente clima, uma vasta linha de costa e um aeroporto internacional, a região do Algarve tornou-se num destino turístico de diversidade e qualidade.

Uma das economias em larga expansão, no Algarve, está relacionada com a indústria do golfe. Foram vários os anos de trabalho e divulgação deste serviço e felizmente em 2000 e 2006 foi reconhecido mundialmente o seu valor com a atribuição do prémio *Established Golf Destination of the Year*.

Actualmente, em Portugal, a indústria do golfe contribui significativamente para a economia nacional e local (contribui com cerca de 500 milhões de euros para o produto interno bruto nacional (PIB)) (<http://economia.publico.pt>). Devido à crise e à competição com outros países, nomeadamente, os países do Norte de África, torna-se necessário desenvolver uma gestão rigorosa e criativa. Muita dessa estratégia deverá passar por uma manutenção de relvados sustentável a nível ambiental e económico.

O golfe, como serviço de excelência, implica que os campos tenham, fundamentalmente, relvados de elevada qualidade. Isto traduz-se na utilização de práticas culturais e aplicação de fertilizantes e fitofármacos, que apesar de benéficos no imediato podem trazer custos a longo prazo.

A contínua degradação do equilíbrio a que um relvado está sujeito implica quase sempre o aparecimento de novas doenças e pragas.

Neste último capítulo, são esperados, nos próximos anos, elevados problemas com nemátodes devido a vários factores - globalização, alturas de corte cada vez mais pequenas, tipo de construção de *greens*, excesso no uso de fertilizantes e fitofármacos, alterações climáticas constantes com aumentos graduais de temperatura e adaptações aos nemáticos existentes.

Eliminar os nemátodes de um relvado é tarefa extremamente difícil. A melhor estratégia é manter as plantas em boas condições sanitárias, uma vez que os nemátodes são de fácil propagação, seja pela água da rega, pelo movimento humano, pelas máquinas de corte, pelos detritos do solo e por material vegetal contaminado (Sparks, 2008; Gravato, 2010), e pela identificação da população de nemátodes no solo e pela sua ecologia. Só através da identificação da comunidade de nemátodes (quais os nemátodes endoparasitas, ectoparasitas e ecto-endoparasitas) é possível adaptar a melhor estratégia de manutenção.

Em Portugal não existem estudos sobre nemátodes fitoparasitas associados a relvados, logo não se sabe exactamente quais os géneros mais comuns e quais os mais danosos; assim, o presente trabalho de tese tem por objectivos: identificar quais os métodos de extracção mais eficientes para representação da população de

nemátodes; identificar os géneros de nemátodes fitoparasitas existentes e associá-los a diferentes características dos campos: idade do campo, textura do solo, histórico de doenças, entre outros factores.

II - ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1. Biologia geral dos nemátodes fitoparasitas

1.1. Enquadramento geral

Os nemátodes são animais pseudocelomados, não segmentados e semelhantes a fios (do grego, nema = fio) (De Ley e Blaxter, 2002). Do grupo dos metazoários são os animais mais abundantes da Biosfera (cerca de 80%), sendo conhecidos até agora cerca de vinte mil espécies, contudo estima-se que existam mais de um milhão dispersas pelos mais diversos habitats, sendo a maioria de meio aquático (Bongers, 1988; Briggs, 1991; Boucher e Lamshead, 1995; Perry e Moens, 2006).

Os nemátodes são uma das três principais radiações de organismos multicelulares que têm produzido a maioria das espécies do mundo, sendo as outras restantes radiações os insectos e os fungos (Gaston, 1991).

Esta capacidade de dispersão está muitas vezes relacionada com o tipo de alimentação. Alguns deles são saprófagos, alimentando-se de matéria morta ou em decomposição; outros são predadores, alimentando-se de pequenos animais ou nemátodes; outros são parasitas de animais, incluindo o Homem; e outros são fitófagos, alimentando-se de todo o tipo de tecido vegetal (Santos e Lima, 1985). Existem cerca de 4 000 espécies descritas de nemátodes fitoparasitas, sendo algumas delas altamente polífagas e com ampla distribuição geográfica (Crow e Dunn, 2005).

O grupo de nemátodes fitoparasitas, que representa cerca de dez por cento das espécies do filo, tem vindo a ganhar notoriedade nas últimas décadas devido aos danos causados na agricultura e florestas. No passado, estes prejuízos não estavam associados a nemátodes; o seu tamanho microscópico, a inexistência de registos da sua ocorrência e patogenicidade, e os sintomas causados serem muitas vezes não específicos faziam confundir os entendidos com outras doenças: cansaço das terras, baixo teor de humidade ou deficiente fertilidade do solo (Cole e Coyne, 2007).

No entanto, actualmente sabe-se que são responsáveis pela redução de 11% da produção agrícola global, o que corresponde a uma redução de milhões de toneladas por ano (Barker *et al.*, 1994). E causam em média \$USD 5 biliões/ano de prejuízos nos EUA e mais de \$USD 100 biliões/ano no mundo (Crow, 2005).

1.2. Morfologia e estrutura

Os nemátodes fitoparasitas são animais microscópicos, transparentes e medem geralmente entre 0,25 (*Paratylenchus*) a 12 mm (*Longidorus*) de comprimento e 30 a 100 μm de diâmetro (Figura 1); a característica que os distingue dos restantes nemátodes é a presença de um estilete, estrutura usada para penetrar nas células (Anónimo, 2000). Contudo existem nemátodes não fitoparasitas (p.ex. micófagos) que também possuem estiletos muito semelhantes em forma e função (Crow, 2001).

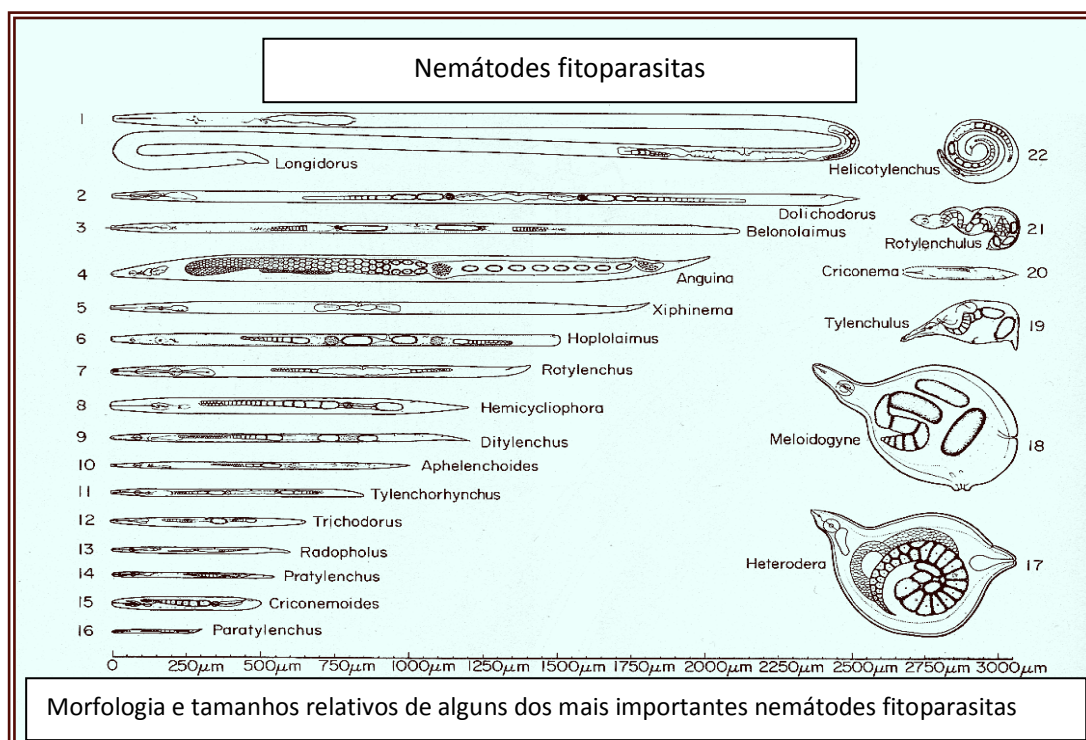


Figura 1 – Nematodes fitoparasitas: diversidade de tamanhos e formas

Adaptado de: Agrios, 2005

São organismos geralmente filiformes e cilíndricos, estreitando o corpo em ambas as extremidades (Figura 2). A extremidade anterior vai afinando gradualmente, terminando na região dos lábios, arredondada e truncada; e a parte posterior pode ser hemisférica, cônica ou, por vezes, filiforme (Santos e Lima, 1985). As fêmeas de algumas espécies têm corpos alargados, por vezes quase esféricos, mas sempre com um pescoço distinto; os machos são sempre mais delgados (Chen *et al.*, 2004). Dispõem dos sistemas muscular, excretor, reprodutor, nervoso e digestivo; contudo, as funções homeostática e circulatória são efectuadas pelo líquido pseudocelómico (Gravato, 2010).

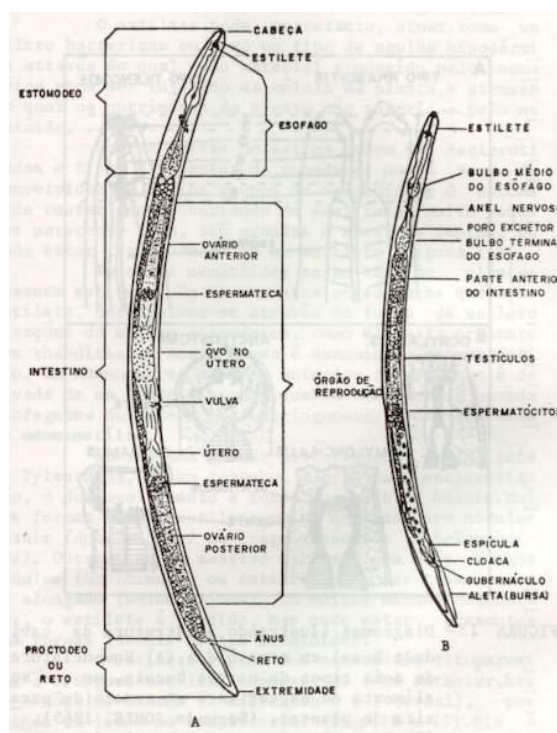


Figura 2 – Morfologia típica de um nemátode fitoparasita. **A** – Fêmea; **B** – Macho

Fonte: Tihohod, 1989

Externamente, os nemátodes fitófagos são revestidos por uma cutícula de composição proteica, constituída por quatro camadas e segregada pela hipoderme (Figura 3). Esta funciona como um exoesqueleto que protege os nemátodes de factores ambientais desfavoráveis, previne a deformação dos mesmos quando os músculos se contraem durante a locomoção, e como é semi-impermeável tem um papel importante na secreção e excreção de substâncias. A estrutura da cutícula é bastante variável não só entre os diferentes taxos mas também intra-especificamente entre sexos, estádios de desenvolvimento e diferentes partes do corpo (Decraemer *et al.*, 2003).

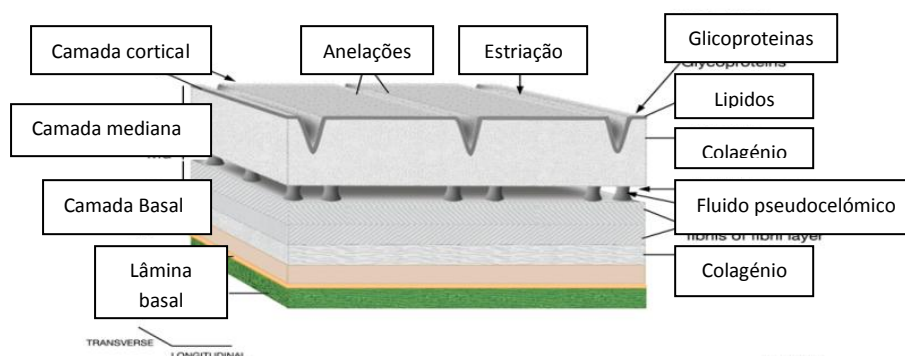


Figura 3 - Estrutura cuticular - ultraestrutura da cutícula e as diferentes camadas que a compõem. Adaptado de: <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/cuticle/Cutframeset.html>

O sistema digestivo é constituído por um tubo que se inicia na região anterior, segue-se a cavidade bucal, o esófago (também designado por faringe), o intestino (anterior, médio e posterior) e no caso das fêmeas, o recto e ânus, porque nos machos segue-se a cloaca (orifício comum ao sistema digestivo e reprodutor) e as estruturas a elas associadas (Figura 2) (Ellis *et al.*, 2008).

É na cavidade bucal que se encontra o estilete, estrutura cuticular que varia em desenvolvimento e estrutura (elemento importante de identificação). Os Tylenchida, apresentam um estomatoestilete que é composto por três partes: uma parte cónica anterior, uma haste média e três bolbos basais (um dorsal e dois ventrais) (Figura 4 - A); e os Dorylaimida apresentam um odontoestilete que possui a ponta em forma de agulha apoiada numa base (Figura 4 - B) (Mota, 2010).

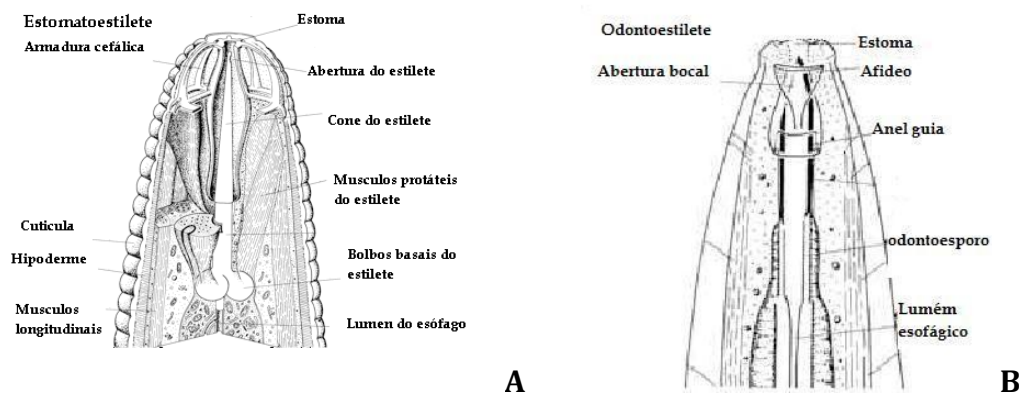


Figura 4 – Tipos de estiletos. **A** – Estomatoestilete; **B** – Odontoestilete

Adaptado de: <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/gene>

O esófago, tal como o estilete, também possui considerável importância na sistemática dos nemátodes. Este pode apresentar diferentes formas (presença de bolbos), estruturas (musculatura, número de glândulas, tipo de válvulas e a sua disposição) e modos de funcionamento, contudo, possui o mesmo plano estrutural.

Nos Tylenchida o esófago é constituído por três partes: corpo (procorpo e metacorpo), istmo e bolbo basal (Figura 5 - A); nos Dorylaimida é constituído por uma parte anterior não muscular e uma posterior muscular e glandular (Figura 5 - B) (Gravato, 2010).

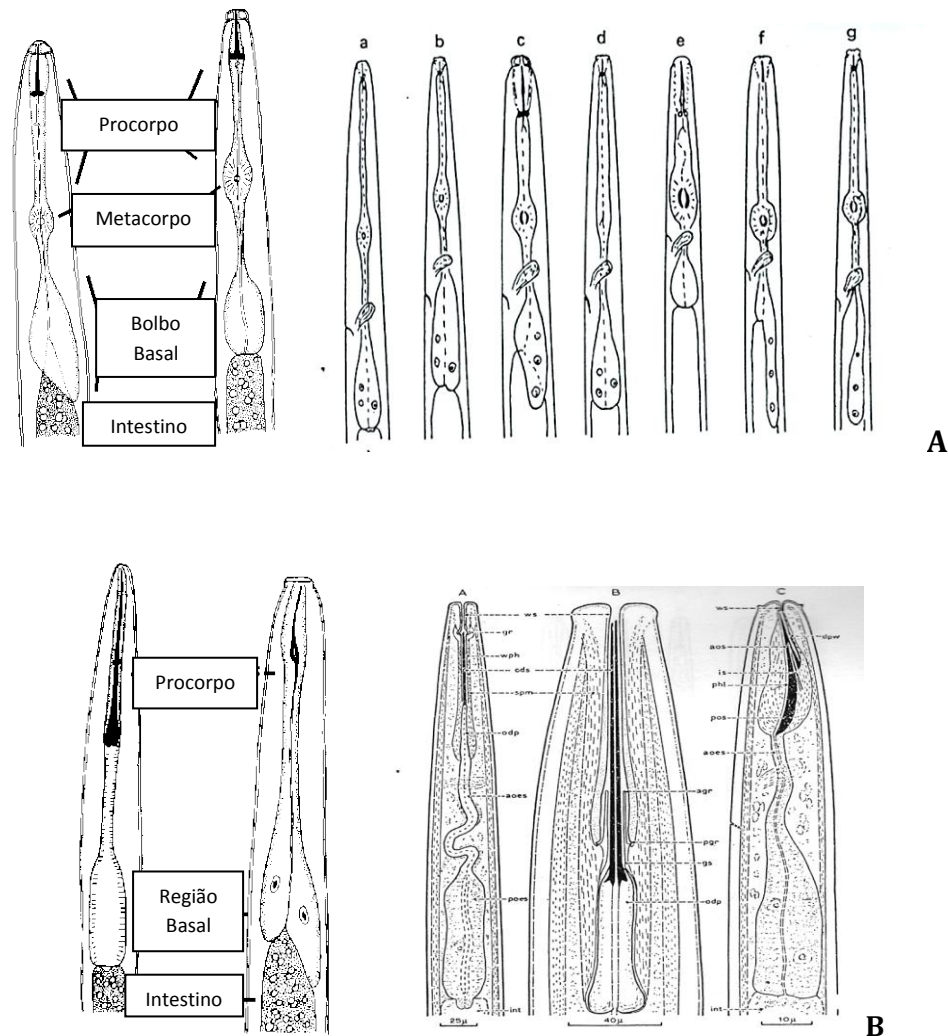


Figura 5 – Tipos de esófagos. **A** – Tylenchida (a - *Tylenchus*, b - *Ditylenchus*, c - *Hoplolaiminae*, d - *Neotylenchidae*, e - *Criconematidae*, g - *Aphelenchus*) (Hooper, 1969); **B** – Dorylaimida (a - *Longidorus elongatus*, b - *Xiphinema diversicaudatum*, c - *Paratrichodorus christiei*) (Hooper, 1973)

Adaptado de: <http://ocid.nacse.org/nematodes/index.php>

Quer o estilete, quer as glândulas esofágicas, são essenciais em vários aspectos do parasitismo (Hussey, 1989; Hussey e Mins, 1990).

O sistema muscular é constituído por dois tipos de músculos: somáticos, fusiformes, orientados longitudinalmente, responsáveis pelos movimentos gerais do corpo (Figura 6); e músculos não estriados, especializados na alimentação (cefálicos, esofágicos e anais) e reprodução (vulvulares, espiculares e bursais) (Perry e Moens, 2006).

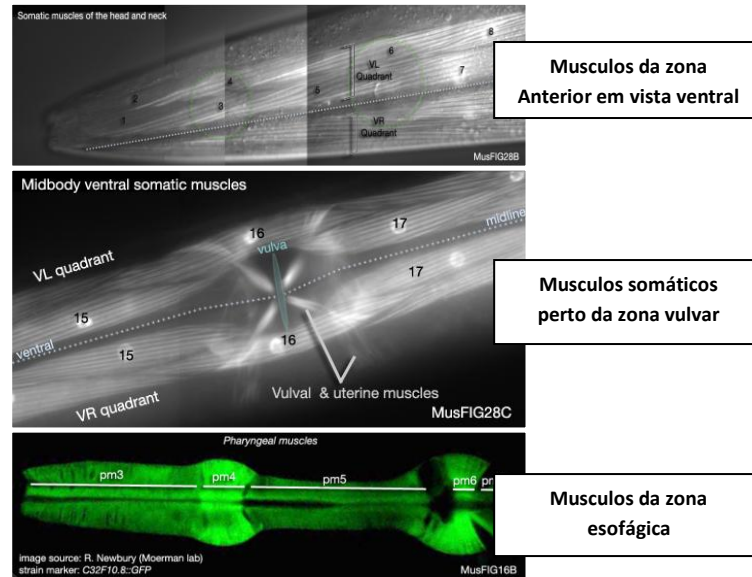


Figura 6 – Tipos de músculos – Músculos somáticos

Adaptado: <http://www.wormatlas.org/ver1/handbook/mesodermal.htm/musclepartIII.htm>

O sistema nervoso tem como estrutura principal o anel nervoso (Figura 7). Este é formado por gânglios associados entre si por meio de fibras nervosas e situada ao redor do esófago, próximo do poro excretor. Desses gânglios partem nervos longitudinais para a parte posterior e anterior do corpo onde se encontram a maioria dos órgãos dos sentidos especializados: papilas, relacionadas como o sentido do tacto, em diversas regiões do corpo; um par de anfídios, de forma variável, que são órgãos quimio-receptores, na região cefálica; e um par de fasmídios, também quimio-receptores, geralmente situados na região posterior (Santos e Lima, 1985).

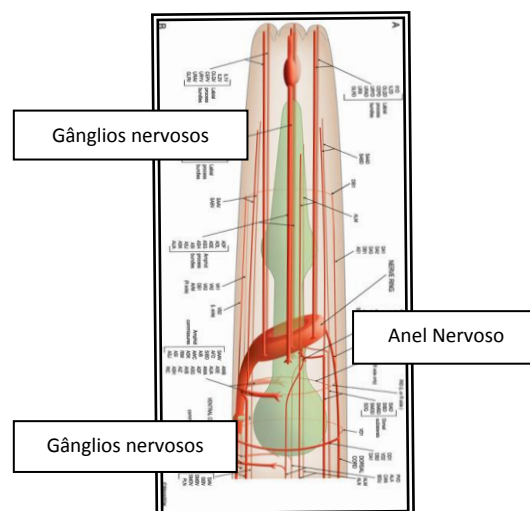


Figura 7 – Sistema nervoso. Anel nervoso com gânglios longitudinais que se estendem para a parte anterior e posterior do corpo

Adaptado de: <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/nervous/Neuroframeset.html>

Esta complexidade do sistema nervoso está relacionada com a percepção que o nemátode adquire do seu hospedeiro. Os sinais quimio-receptores emitidos pelas plantas não só atraem os nemátodes como indicam quais os locais apropriados para a alimentação (Perry, 1996).

O sistema excretor pode ser de dois tipos: glandular, constituído por uma ou duas grandes células glandulares, situadas ventralmente, na região posterior do esófago ou anterior do intestino, das quais parte um canal que se abre no poro excretor (Figura 8 - A); ou do tipo tubular, constituído por dois canais excretores, que se iniciam posteriormente e percorrem os campos longitudinais laterais em toda a extensão, terminando no poro excretor situado na face ventral da região esofágica. Geralmente os canais excretores longitudinais desdobram-se em ramos anteriores e ramos posteriores, assumindo uma forma de H (Figura 8 - B) (Gravato, 2010).

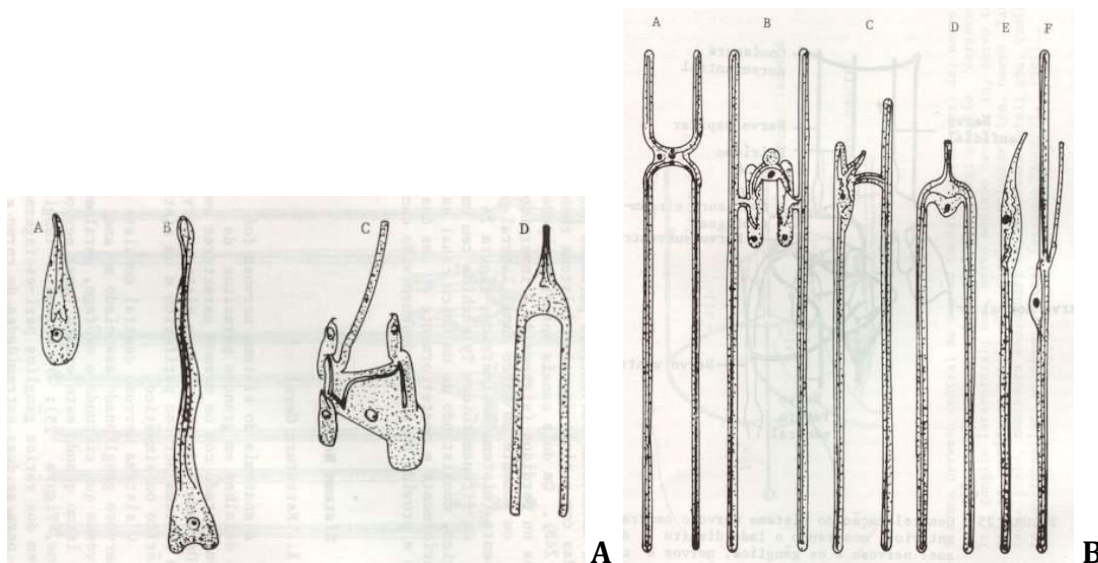


Figura 8 – Sistemas excretores. A – Tipo glandular; B – Tipo Tubular

Fonte: Tihohod, 1989

Os nemátodes fitoparasitas apresentam pouco dimorfismo sexual excepto no tocante às gónadas, forma da cauda, e presença de espículas copulatórias ou a vulva. Excepcionalmente, existem alguns géneros como *Meloidogyne*, *Heterodera* e *Globodera*, que apresentam acentuado dimorfismo sexual, enquanto os machos apresentam uma forma vermiforme, as fêmeas têm forma de pêra ou limão (Williams e Bridge, 1983).

O sistema reprodutor quer dos machos quer das fêmeas é geralmente tubular. O sistema reprodutivo feminino é formado por um ou dois ovários, o

oviducto, o útero, a vagina e a vulva; por vezes existe uma espermateca (Figura 9). Os machos têm, por regra, um só testículo. Ao testículo segue-se a vesícula seminal e o canal deferente que abre na cloaca. Na região da cloaca existem duas espículas copulatórias. Pode existir ainda uma peça acessória, o gubernáculo, que tal como as espículas é variável em forma e tamanho, apresentando valor taxonómico (Figura 10). Em algumas espécies a cutícula da região caudal dos machos pode expandir-se, formando uma bursa (Santos e Lima, 1985).

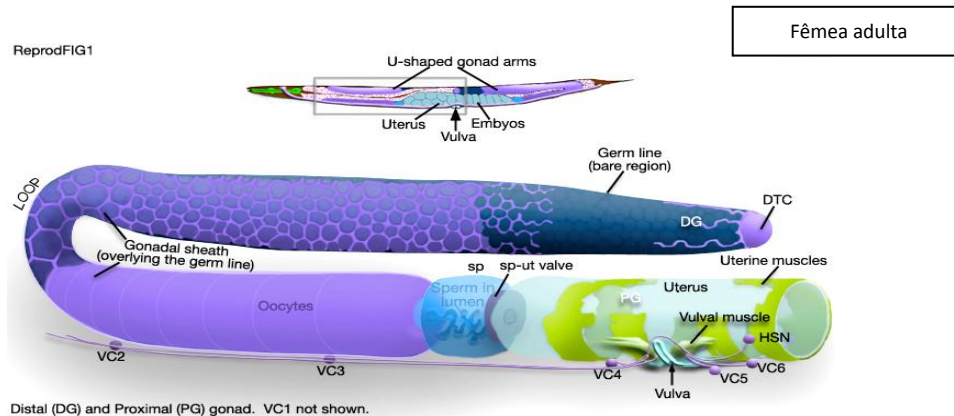


Figura 9 - Aparelho reprodutor feminino

Fonte: <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/reproductive/Reproframeset.html>

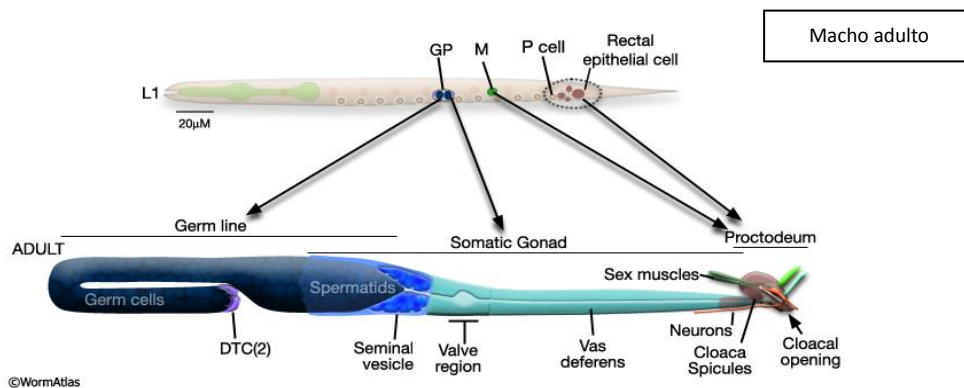


Figura 10 - Aparelho reprodutor masculino

Fonte: <http://www.wormatlas.org/male/reproductive/Reprointroframeset.html>

1.3. Ciclo de vida e reprodução

O ciclo de vida da maioria dos nemátodes fitoparasitas é semelhante. Este é constituído por seis estádios: ovo, quatro estádios juvenis (designados por J1, J2, J3 e J4) e adulto (Figura 11). A duração de qualquer estádio no ciclo de vida difere consoante a espécie e também depende de factores tais como temperatura, humidade e planta hospedeira (Tabela 1).

Em condições favoráveis, muitas espécies nos trópicos têm ciclos de vida relativamente curtos, com possibilidade de várias gerações por cada estação do ano (Crow e Dunn, 2005). No entanto, e em condições óptimas, especialmente de temperatura (20 a 30 °C), o ciclo ovo a ovo fica completo entre duas a quatro semanas (Gaugler e Bilgrami, 2004).

Contudo, algumas espécies levam um ano a completar o seu ciclo (Tabela 1) (Anónimo, 2000).

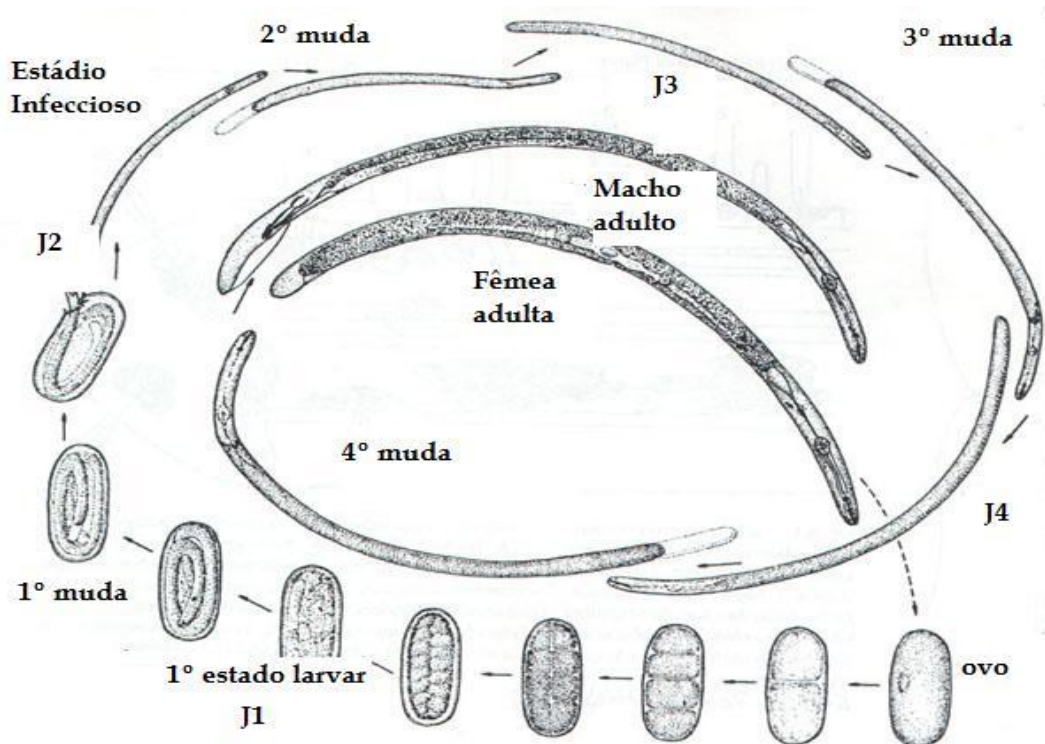


Figura 11 – Ciclo de vida típico de um nemátode fitoparasita

Adaptado: Ayoub, 1980

Tabela 1 – Ciclos de vida e temperaturas óptimas para o desenvolvimento de determinadas espécies de nemátodes fitoparasitas Fonte: Gravato, 2010

Nemátode	Tempo	Temperatura (°C)
<i>Criconemella xenoplax</i>	25-34 dias	24-26
<i>Ditylenchus triformis</i>	16-21 dias	24-26
<i>Helicotylenchus sp.</i>	30 ou 35 dias	32 ou 24
<i>Heterodera betula</i>	52 dias	28
<i>Meloidogyne naasi</i>	39-51 dias	26-29
<i>Pratylenchus penetrans</i>	35 dias	24
<i>Xiphinema americanum</i>	1 ano	

Os ovos são geralmente cilíndricos com uma “casca” fina. Estes podem ser postos individualmente ou em massa, numa matrix gelatinosa (género *Meloidogyne*) ou num quisto formado através do corpo de uma fêmea morta (géneros: *Heterodera* e *Globodera*) (Williamson e Hussey, 1996).

Os quatro estádios juvenis estão separados por mudas onde há substituição da cutícula muitas vezes induzida por factores ambientais ou factores inerentes à própria espécie. No género *Xiphinema* o ciclo está reduzido a três estádios, provavelmente devido à maturação dos gâmetas antes do crescimento completo do corpo (este fenómeno não é invulgar em organismos partenogénicos). Nas famílias Longidoridae e Trichodoridae, os juvenis eclodem dos ovos em J1, ao passo que na infraordem Tylenchomorpha é no estádio J2 (Williams e Bridge, 1983).

Os jovens são na generalidade dos casos semelhantes aos adultos, mas não possuem sistema reprodutor desenvolvido.

Nalguns grupos, um dos estádios juvenis - normalmente J3 mas também pode ser J2 (*Anguina*) ou J4 (*Ditylenchus*) - apresenta maior tolerância aos factores ambientais do que noutros estádios de desenvolvimento. Este estádio - designado por *dauer* - é normalmente especializado na dispersão ou na sobrevivência em condições adversas (Trudgill, 1991).

Os nemátodes são tipicamente anfimíticos e têm os sexos separados, mas também podem reproduzir-se por partenogénese, na ausência de machos, ou mais raramente por hermafroditismo (Triantaphyllou, 1973). As fêmeas são normalmente ovíparas mas também podem ser ovovíparas normalmente (géneros: *Heterodera* e *Globodera*) por indução em resposta a poluentes (Walker e Tsui, 1968). A capacidade reprodutiva dos nemátodes fitoparasitas é bastante considerável. Colónias da espécie *Hoplolaimus tylenchiformis* têm a capacidade de aumentarem de 500 para 13000 na rizosfera das plantações de algodão, em menos de um ano; a espécie *Paratylenchus hamatus* consegue aumentar a população 450 vezes nas raízes da vinha; uma única fêmea de *Meloidogyne* pode produzir entre

500 a 2800 ovos; *Anguina* 25000 ovos (2000/ semana); *Pratylenchus* 100 ovos (Jones, 1974; Martin, 2009).

1.4. Factores que influenciam o desenvolvimento dos nemátodes e as suas adaptações

A temperatura do solo tem um grande efeito na actividade dos nemátodes fitoparasitas (Robbins e Barker, 1974; Van Gundy, 1985). Enquanto as diferentes espécies de nemátodes têm diferentes temperaturas óptimas, a sua reprodução e actividade é geralmente favorecida por longos períodos de temperatura de solo moderada. Por exemplo, *Belonolaimus longicaudatus* tem uma temperatura óptima de sobrevivência de 13 °C (Barker *et al.*, 1969); a sua reprodução é favorecida a 29,4 °C (Perry, 1965); e a partir dos 36 °C o seu desenvolvimento entra em declínio (Barker *et al.*, 1969).

A textura do solo também desempenha um papel importante na actividade dos nemátodes. O tipo de solo ou textura afecta o movimento dos nemátodes (Prot e Van Gundy, 1981), penetração nas raízes (Townshend, 1972), reprodução (Robbins e Barker, 1974), densidade populacional (Sleeth e Reynolds, 1978), e a relação entre a densidade populacional e a produtividade das culturas (Schmitt e Barker, 1984).

Solos arenosos são mais favoráveis ao seu desenvolvimento. Estes permitem que não haja saturação de água, condição desfavorável para os nemátodes fitoparasitas (Robbins e Barker, 1974; Van Gundy, 1985; Mashela *et al.*, 1991).

Apesar da saturação de água no solo não ser benéfica, os nemátodes são extremamente sensíveis à falta de água (a película de água contida no solo serve de protecção contra os diferentes graus de dissecação), daí que a humidade relativa do solo seja fundamental para a sua sobrevivência (Wallace, 1973).

Os nemátodes que estão dentro das raízes das plantas ou dentro dos insectos beneficiam de um ambiente de constante humidade óptima em relação aos nemátodes de vida livre no solo, contudo os nemátodes que se encontram nas partes aéreas da planta, por exemplo *Anguina*, *Ditylenchus*, *Bursaphelenchus* e *Aphelenchoides*, são os mais influenciados, tanto que se o interface entre o solo e a atmosfera não for favorável estes não migram até à extremidade da planta (McSorley, 2003). Na Georgia, nos Estados Unidos, os nemátodes estão em maior

número quando a humidade se encontra entre 15 a 20% por volume de solo (Brodie e Quattlebaum, 1970).

Apesar de sensíveis, os nemátodes são um grupo de organismos bastante disperso, conseguindo viver em ambientes extremos como no deserto (Freckman *et al.*, 1977), no antártico (Pickup e Rothery, 1991), em solos muito secos sem presença de hospedeiros (Womersley e Ching, 1989), em sementes secas, nos detritos das plantas ou no lixo (Barret, 1991). Estes extremos implicam uma variedade de adaptações dos nemátodes no ciclo de vida, fisiologia, morfologia e comportamento. Por exemplo, a espécie entomopatogénica *Steinernema carpocapsae* é capaz de alterar o seu metabolismo para que a copulação seja feita tanto em meio aeróbico como anaeróbico (Shih *et al.*, 1996).

Diapausa e atrasos no desenvolvimento são comuns nos insectos (Wharton, 1986) mas também em alguns nemátodes (Evans e Perry 1976; Wharton, 1986) mais concretamente nos ovos e quartos estádios juvenis (Sikora e Noel, 1996). Embora a diapausa não seja uma consequência directa das condições adversas ou favoráveis (Chapman, 1971), é um mecanismo de sobrevivência às estações frias, à ausência de hospedeiro (Evans e Perry 1976; Van Gundy, 1985; Wharton, 1986; Huang e Pereira, 1994), ou ao fenótipo do hospedeiro (Sikora e Noel, 1996). Os nemátodes podem apresentar um estado de quiescência, que à semelhança da diapausa é um estado de dormência. A particularidade deste é que o estado termina imediatamente após o fim das condições ambientais adversas (McSorley, 2003). Um prolongado estado de quiescência pode levar ao colapso total do metabolismo do nemátode, contudo alguns nemátodes parecem bem adaptados a condições extremas, tais como: anidrobiose (stress hídrico), criobiose (baixas temperaturas), osmobiiose (stress osmótico), e anoxibiose (baixa percentagem de oxigénio) (Wharton, 1986).

Em determinados nemátodes, o rácio entre os sexos é determinado por condições ambientais. Quando há factores ambientais adversos como deficiência nutricional ou redução da fotossíntese, idade da planta hospedeira, reguladores ou inibidores de crescimento, aumento da densidade populacional dos nemátodes, presença de patogénios, capacidade de resistência da planta, temperatura e radiação (Bird, 1971; Triantaphyllou, 1973), pode ocorrer mudança de sexo, aumentando o número de machos. No estádio J2 a fêmeas podem dar origem a inter-sexos ou machos (Triantaphyllou, 1973; Papadopoulou e Triantaphyllou, 1982), para além da vantagem de se produzirem mais ovos fertilizados, em alguns géneros como *Meloidogyne*, aumenta o número de indivíduos de vida livre em mais de 60% (Papadopoulou e Triantaphyllou, 1982).

Muitos nemátodes são capazes de formar um estádio temporário, relativamente inactivo - *dauer* -, que é mais um mecanismo de defesa a stress ambiental e nutricional - desidratação, deterioração da planta hospedeira

(Wharton, 1986). Dependendo da espécie em causa, o estágio de *dauer* pode ser formado em qualquer estágio juvenil (Bird e Bird, 1991). Este estágio implica uma modificação da cutícula de modo a torná-la mais permeável; em alguns casos a cutícula das mudas anteriores permanece dando protecção adicional (Evans e Perry, 1976).

Ocasionalmente, algumas espécies de nemátodes podem agrupar-se formando massas – *nema wool*. O exemplo mais bem conhecido é a acumulação de um grande número de *Ditylenchus dipsaci* nos bolbos de algumas plantas (Christie, 1959). Esta massa provavelmente fornece protecção contra a desidratação (Cooper *et al.*, 1971), se bem que os nemátodes possam exibir semelhantes adaptações individualmente: enrolam-se ou ficam num estado de anidrobiose (Croll, 1970).

1.5. Movimentação

Todos os nemátodes apresentam estilos diferentes de movimentação, grande parte derivado ao tipo de habitat e às condições em que o mesmo se encontra (Gaugler e Bilgrami, 2004).

De uma forma geral os nemátodes contraem alternadamente os músculos dorsais ou ventrais, movendo assim o corpo de forma sinusoidal (Wallace, 1968).

No solo, o movimento dos nemátodes é influenciado pela estrutura, arejamento e humidade do meio. Embora os nemátodes possam forçar o seu movimento através dos espaços com diâmetros um pouco menores do que os do seu corpo, os diâmetros desses espaços determinam a possibilidade da sua passagem (Gaugler e Bilgrami, 2004). Pelo facto de serem todos animais aquáticos é necessário haver água para haver locomoção (Crow, 2005a). Nos solos saturados de água o movimento é dificultado. À medida que o solo drena, os poros vão esvaziando, o arejamento vai aumentando e até certa altura também aumenta a actividade dos nemátodes. A partir de uma determinada pressão de sucção, à medida que aumenta a força que retém a água nas partículas, diminui a actividade dos nemátodes (Santos e Lima, 1985).

Os solos arenosos possuem condições físicas óptimas para o desenvolvimento e movimento dos nemátodes: são relativamente inférteis (os nutrientes são facilmente lixiviados), possuem pouca capacidade de retenção de água, mas apresentam elevada humidade relativa, que cria a coluna de água por onde os nemátodes se movimentam (Stirling, 2004).

São nestes solos que ocorre maior stress por parte da planta e consequentemente maiores danos por nemátodes fitoparasitas (Fleming, 2008).

Existem espécies, como *Belonolaimus longicaudatus*, que apenas são visíveis neste tipo de solo – nativo das dunas e areias costeiras do Atlântico e Golfo Pérsico (Crow e Brammer, 2001). O nemátode mais bem adaptado a todo o tipo de solos é o *Hoplolaimus* (Patton *et al.*, 1997).

Algumas espécies de nemátodes fitoparasitas apresentam elevada mobilidade vertical, penetrando no solo vários centímetros quando as condições ambientais são adversas ou então na ausência de hospedeiro, e apresentam pouca mobilidade lateral, movendo-se menos de um centímetro durante o seu ciclo de vida (Anónimo, 2000). Existem nemátodes que foram encontrados a profundidade de oito metros em redor das raízes de árvores, embora a zona de maior abundância seja até aos trinta centímetros. Algumas espécies da ordem Dorylaimida (p.ex., género *Xiphinema*) são mais abundantes abaixo dos trinta centímetros (Williams e Bridge, 1968).

Apesar do seu movimento lento no solo, os nemátodes fitoparasitas podem espalhar-se facilmente devido à actividade humana no local contaminado (Crow, 2005).

1.6. Tipos de parasitismo

Todos os nemátodes fitófagos extraem conteúdos celulares com o estilete, mas diferentes grupos de nemátodes têm o seu modo próprio de alimentação e provocam um tipo determinado de dano no tecido vegetal (Lambert e Bekal, 2002).

Existem três tipos de parasitismo nas plantas: ectoparasitismo, endoparasitismo e ecto-endoparasitismo.

Ectoparasitismo:

– O nemátode permanece no solo e não penetra nos tecidos radiculares (normalmente a zona da coifa ou pelos radiculares) ou foliares. Quando localiza o hospedeiro o nemátode introduz o estilete numa das células vegetais. Este funciona de modo semelhante a uma agulha de uma seringa hipodérmica e o conteúdo das células é sugado. O esófago é basicamente uma bomba que extrai e transporta o alimento da cavidade bucal para o intestino.

A penetração do estilete dá-se devido à acção mecânica e das enzimas. As glândulas do esófago produzem enzimas que actuam tanto no meio exterior - paredes ou citoplasma celulares - como na digestão do alimento já ingerido (Williamson e Hussey, 1996). A identificação dos produtos das glândulas

esofágicas tem sofrido uma intensa investigação que demonstrou a presença de proteínas, hidratos de carbono mas não de ácidos nucleicos (Hussey, 1989). As enzimas encontradas foram celulasas (Bird *et al.*, 1974) e proteases (Koritsas e Atkinson, 1994).

Logo que acabam os nutrientes no local onde se iniciou a alimentação, o nemátode retira o estilete e move-se em direcção a outra célula. A maioria dos ectoparasitas permanece móvel no solo, no entanto existem outros, como por exemplo, *Cacopaurus* que ficam permanentemente ligados aos tecidos radiculares pelo seu estilete (Crow, 2008).

Os nemátodes foliares alimentam-se das células epidérmicas das folhas jovens, rebentos ou outras estruturas aéreas cobertas por folhagem (Could, 2008).

Endoparasitismo:

– Neste tipo de parasitismo, o nemátode entra por completo no tecido radicular ou foliar. Nemátodes endoparasitas como *Pratylenchus*, *Radopholus*, *Ditylenchus*, *Aphelenchoides* e *Anguina*, mantêm a sua mobilidade e não têm zonas fixas de alimentação (endoparasitas migratórios). As formas mais avançadas possuem locais específicos de alimentação onde se sedentizam (endoparasitas sedentários). Nestes casos os ciclos de vida apresentam uma fase migratória e uma fase sedentária: no género *Nacobbus* apenas a fêmea madura apresenta sedentarismo, sendo as restantes formas migratória; nos géneros: *Meloidogyne*, *Heterodera* e *Globodera* o estágio J2 é migratório (Hagan, 1997; Crow e Dunn, 2005).

Estes nemátodes da família Heteroderidae interagem com a planta hospedeira de uma forma muito complexa e geralmente o colapso total do hospedeiro dá-se em menos de um mês (McClure, 1977). Durante a infecção existem modificações morfológicas e fisiológicas em ambos os organismos que têm sido motivo de estudos moleculares. Estes poderão conduzir a uma nova abordagem no controlo de nemátodes fitoparasitas. Genes resistentes a parasitismo e manipulação genética poderão ser as novas estratégias (Sijmons *et al.*, 1994; Gheysen *et al.*, 1996).

O nemátode dos quistos (*Hererodera*, *Globodera*) e o nemátode das galhas radiculares (*Meloidogyne*) passam a maior parte da sua vida activa dentro das raízes da planta mais concretamente em células da zona cortical que foram entretanto modificadas pelo próprio nemátode.

O J2 do nemátode dos quistos entra na raiz e migra pelo córtex por via simplástica, com a ajuda do estilete (causando necroses) penetrando na endoderme até chegar às células do procâmbio do xilema primário onde injecta

secreções (Golinowski *et al.*, 1996). As células injectadas depressa começam a desenvolver-se em células de alimentação - células metabolicamente activas cujo citoplasma ficou mais denso e expandiu-se. Estas células depressa fundem-se com o protoplasma das celulares vizinhas (cujas paredes celulares se dissolveram) formando um grande sincício que pode incorporar mais de duzentas células (Jones, 1981).

O J2 do nemátode das galhas entra na raiz na zona de alongamento e migra pela raiz, por via apoplástica, separando as células pela lamela média dividindo o tecido cortical até à zona de diferenciação (Mota, 1989a). Este processo tanto parece implicar a acção mecânica como a acção enzimática. Na zona de diferenciação e em resposta a sinais do nemátode, as células procambiais adjacentes à sua região anterior desenvolvem-se em células gigantes - células com citoplasma denso, multi-nucleado (até 100 núcleos, resultado de várias mitoses), com elevado conteúdo de DNA, parece celular fina, e metabolicamente activas que servem de fonte de alimento (Huang, 1985; Wiggers *et al.*, 1990). Cada nemátode pode formar entre cinco a sete células gigantes cuja integridade depende da constante estimulação do nemátode (Bird, 1962).

Os nemátodes foliares conseguem atacar as plantas entrando pelos estomas, folhas, rebentos ou sementes (Could, 2008).

Ecto-endoparasitismo:

- Apenas a parte anterior do nemátode penetra na raiz, ficando a parte posterior no solo, que vai alargando (Tytgat *et al.*, 2000).

As categorias acima descritas podem não ser exclusivas para alguns géneros, tudo depende do tipo de hospedeiro - Tabela 2.

Tabela 2 - Géneros por tipo de parasitismo Adaptado de: Bridge e Starr, 2007

Géneros mais comuns por tipo de parasitismo

1- Ectoparasitas:

1.1-Foliares - *Anguina*, *Aphelenchoides*, *Dictylenchus*

1.2-Radiculares:

(Continuação da Tabela 2)

1.2.1- Com estilete curto- *Tylenchorhynchus, Trichodorus, Paratrichodorus, Helicotylenchus*

1.2.2- Com estilete comprido- *Belonolaimus, Cacopaurus, Criconemoides, Dolichodorus, Hemicriconemoides, Hemicycliophora, Longidorus, Paralongidorus, Paratylenchus, Xiphinema*

2- Endoparasitas migratórios:

2.1- foliares – *Aphelenchoides, Bursaphelenchus, Dictylenchus*

2.2 – radiculares – *Aphasmatylenchus, Dictylenchus, Helicotylenchus, Hirschmanniella, Hoplolaimus, Pratylenchoides, Pratylenchus, Radopholus, Rotylenchus, Scutellonema*

3- Endoparasitas sedentários:

Achlysiella, Globodera, Heterodera, Meloidogyne, Nacobbus, Punctodera

4- Ecto-endoparasitas:

Rotylenchulus, Sphaeronema, Trophotylenchulus, Tylenchulus

2. Géneros mais comuns de nemátodes fitoparasitas dos relvados de golfe

2.1. Enquadramento geral

Na Europa, a partir dos anos noventa, e com as novas exigências na construção de campos de golfe, começaram a detectar-se os primeiros danos com nemátodes fitoparasitas. Apesar de já serem reportados nos Estados Unidos há décadas, na Europa, e mais concretamente em Inglaterra e Irlanda, nada tinha sido feito até então.

Os primeiros danos reportados foram de uma determinada espécie *Meloidogyne minor*, que julgavam os especialistas ter sido transportado pelos americanos nos sapatos de golfe (Karssen *et al.*, 2004). Posteriormente foi confirmado tratar-se de uma espécie nativa europeia, em solos dunares das Ilhas Britânicas (Fleming, 2006).

Pelo facto dessas areias terem sido utilizadas na construção de grande número de campos de golfe em Inglaterra e na Irlanda, *Meloidogyne minor* espalhou-se facilmente e rapidamente, estando 90% dos campos de golfe irlandeses, construídos desde 1997, infestados (Fleming, 2008).

Desde 2006 têm sido analisadas várias amostras de solo de campos de golfe ingleses e irlandeses e foram descobertas várias espécies de nemátodes fitoparasitas: *Helicotylenchus pseudorobustus* em *Agrostis sp.* e *Festuca sp.*; *Pratylenchoides crenicauda* em ryegrass e creeping bentgrass; *Subanguina radiculicola* em *Poa annua* (Tabela 3).

Tabela 3 – Ocorrência de nemátodes fitoparasitas, em 272 campos de golfe europeus, desde 2006 com ocorrência de danos Adaptado de: Fleming, 2008

Nomes comuns dos géneros de nemátodes fitoparasitas	Nomes científicos dos géneros de nemátodes fitoparasitas
Spiral nematode	<i>Helicotylenchus</i>
Root knot nematode	<i>Meloidogyne</i>
Cyst nematode	<i>Heterodera</i>
Stunt nematode	<i>Tylenchorhynchus</i>
Sheath nematode	<i>Hemicycliophora</i> <i>Tylenchus</i>
Root gall nematode	<i>Subanguina</i>
Root gall nematode	<i>Criconemoides</i>
Ring nematode	<i>Paratrichodorus</i>
Stubby root nematode	<i>Paratylenchus</i>
Pin nematode	<i>Longidorus</i>
Needle nematode	<i>Pratylenchoides</i>

(Continuação da Tabela 3)

Spiral nematode	<i>Rotylenchus</i>
Lesion nematode	<i>Pratylenchus</i>

Nos Estados Unidos da América o problema dos nemátodes fitoparasitas nos relvados foi detectado bastante mais cedo. Em 1951, em Rhode Island, em *Agrostis sp.*, foi feito o primeiro levantamento por Tarjan e Ferguson em 17 campos de golfe sendo o género *Tylenchorhynchus* o mais frequente (Christie *et al.*, 1954). Também na mesma altura foram realizados estudos, em Tampa Bay, por Kelsheimer e Overman, em *Stenotaphrum secundatum* e *Cynodon dactylon* – *Belonolaimus gracilis*, *Trichodorus sp.*, *Criconemoides spp.*, *Hoplolaimus coronatus*, *Ditylenchus dipsaci* e *Radopholus similis* foram encontrados (Kelsheimer e Overman, 1953).

Tabela 4 – Ocorrência de nemátodes fitoparasitas, em campos de golfe dos Estados Unidos da América

Nomes comuns dos géneros de nemátodes fitoparasitas	Nomes científicos dos géneros e espécies de nematodes fitoparasitas
Sting nematode	<i>Belonolaimus longicaudatus</i> (a) (c) (d)
Lance Nematode	<i>Hoplopaimus</i> (a) (c)
Sheath nematode	<i>Hemicycliophora</i> (a)
Root-knot nematode	<i>Meloidogyne</i> (a) (b) (c) (d)
Ring nematode	<i>Criconemoides</i> e géneros relacionados (a) (c) (d)
Stubby-root nematode	<i>Trichodorus obtusus</i> (a) (c) <i>Paratrichodorus minor</i> (a) (c)
Spiral nematode	<i>Peltamigratus christiei</i> (a) <i>Helicotylenchus</i> (a) (b) (d)
Dagger nematodes	<i>Xiphinema</i> (a) (b) (d)
Lesion nematode	<i>Pratylenchus</i> (a) (b) (d)

(Continuação da Tabela 4)

Sheathoid nematode	<i>Hemicriconemoides</i> (a)
Stunt nematode	<i>Tylenchorhynchus</i> (a) (d)
Cyst nematode	<i>Heterodera</i> (b) (c) <i>Globodera</i> (b)
Burrowing nematode	<i>Radopholus similis</i> (b)
Bulb and Stem nematode	<i>Ditylenchus dipsaci</i> (b)
Reniform nematode	<i>Rotylenchulus reniformis</i> (b)
Bud and Leaf nematode	<i>Aphelenchoides</i> (b)
Pin nematode	<i>Paratylenchus</i> (d)

(a) Crow, 2005a

(b) Anónimo, 2008

(c) ANR - 523

(d) Westerdahl *et al.*, 2005

Em Portugal, não há registos conhecidos de nemátodes fitoparasitas nos relvados dos campos de golfe.

2.2. Nemátodes ectoparasitas

Os géneros abaixo descritos foram os encontrados durante a fase de amostragem, extracção e identificação desta tese.

Hemicycliophora

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Criconematoidea Taylor, 1936

Familia Hemicycliophoridae Skarbilovich, 1959

Sub-familia Hemicliophorinae Skarbilovich, 1959

Género *Hemicycliophora* de Man, 1921 (Perry e Moens, 2006)

É um nemátode parasita de muitas plantas, entre elas, cenoura, tomateiro, citrinos, pinheiros, mirtilos, milho, relvas, entre outras. Este género é facilmente distinguido dos outros, devido á formação de galhas nas extremidades das raízes acompanhado de um crescimento deficiente das plantas atacadas, devido à inibição da elongação celular (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).

Os juvenis e as fêmeas adultas possuem duas cutículas, estilete comprido com bolbos inclinados na parte posterior, fortes anelações (mais de 200), bainha ligada à cabeça, vulva e algumas vezes à ponta da parte anterior (contudo é mais comum a cutícula estar afasta da ponta da cauda). Estas características, típicas deste género, não são encontradas nos machos que frequentemente são raros. Estes possuem um corpo fino sem estilete e um esófago pouco distinto (Lyon e Loeffler, 1996).

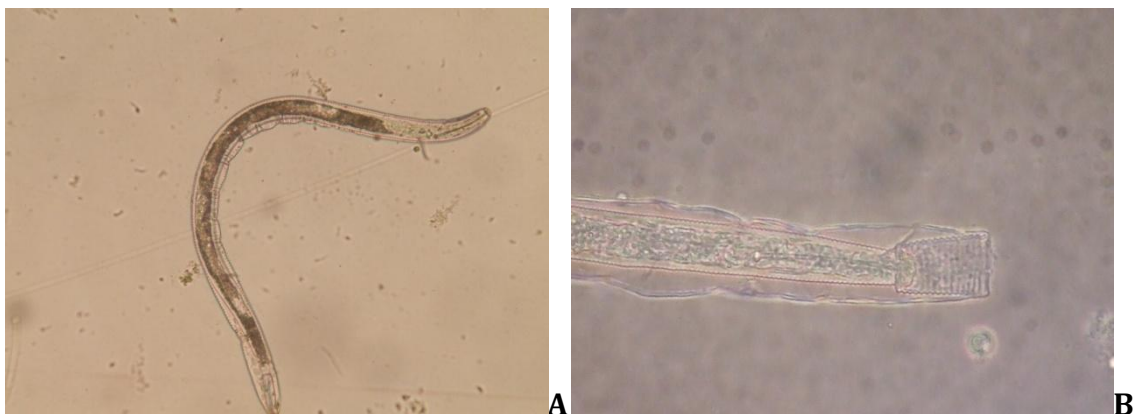


Figura 12 – *Hemicycliophora*. **A** – Corpo com duas cutículas e estilete comprido; **B** – Bainha ligada á parte anterior do corpo

Fonte: Nicholas Sekora

Criconemoides

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Criconematoidea Taylor, 1936

Familia Criconematidae Taylor, 1936

Sub-familia Macroposthoniinae Skarbilovich, 1959

Género *Criconemoides* Taylor, 1936 (Perry e Moens, 2006)

Syn. Criconemella De Grisse e Loof, 1965 (Siddiqui, 2000)

Este nemátode originalmente estava colocado no género *Criconemella*, mas após várias revisões taxonómicas, foi denominado de *Criconemoides* (Siddiqui, 2000).

Nemátode parasita de diversas plantas, tais como, o pessegueiro, a vinha, a macieira, diversas relvas, etc. Nos estados Norte Americanos trata-se do género mais comum de nemátodes associados aos relvados, contudo o tipo de dano causado ainda não está bem definido (Crow, 2005).

Este género apresenta corpo pequeno, fusiforme, com forte anulação (60 – 120) e estilete longo e grosso. As fêmeas possuem a vulva perto da extremidade da cauda com um ovário, e os machos (normalmente raros) possuem 2 a 4 incisões nos campos laterais que se estendem pela cauda (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).

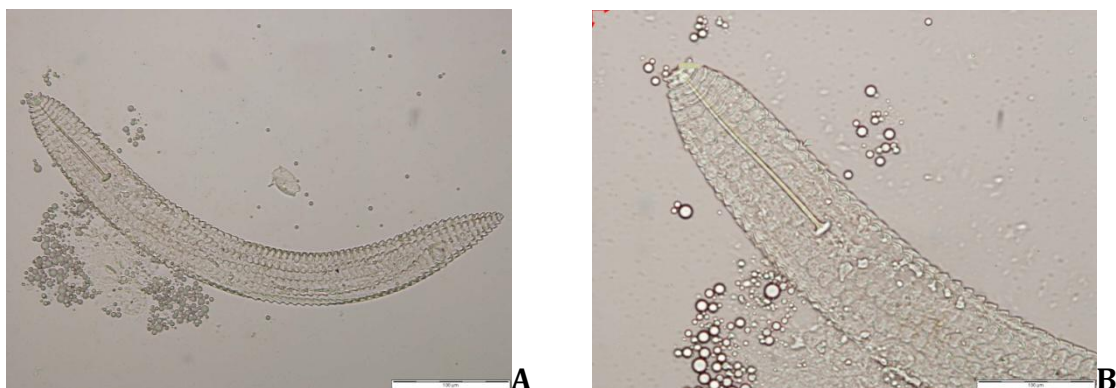


Figura 13 – *Criconemella*. **A** – Corpo pequeno com forte anulação; **B** – Estilete longo e grosso

Hemicriconemoides

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Criconematoidea Taylor, 1936

Familia Criconematidae Taylor, 1936

Sub-familia Criconematinae Thorne, 1949

Género *Hemicriconemoides* Chitwood and Birchfield, 1957 (Lyon e Loeffler, 1996)

É um nemátode parasita de diversas plantas como: tomateiro, leguminosas, citrinos, cenoura, diversas relvas, etc. Este género apresenta semelhanças com os géneros anteriormente descritos.

Possui um longo estilete e um corpo alongado com uma cauda afilada como o género *Hemicycliophora*, e forte anelação como o género *Criconemella*. A característica única deste género está relacionada com o número de anelações da bainha, 70 a 200 (Lyon e Loeffler, 1996).



Figura 14 – *Hemicriconemoides* – Corpo pequeno com forte anelação com uma cauda afilada

Tylenchulus

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Criconematoidea Taylor, 1936

Familia Tylenchulidae Skarbilovich, 1947

Sub-familia Tylenchulinae Skarbilovich, 1947

Género *Tylenchulus* Cobb, 1913 (Perry e Moens, 2006)

Trata-se do nemátode mais responsável pelo declínio das culturas de citrinos (ocorre em 29 géneros de *Citrus*, e 21 híbridos de citrinos), mas também é responsável por danos em cenouras, vinha, flores ornamentais, oliveira, etc.

Este género é ecto-endoparasita – as fêmeas encontram-se parcialmente dentro das raízes, e os machos são de vida livre apresentando forma filiforme, estilete fraco e sem bursa. As fêmeas são pequenas e em forma de saco e o poro excretor está situado atrás do meio do corpo, anteriormente à vulva (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).



Figura 15 – *Tylenchulus* – Macho com forma filiforme, estilete fraco e sem bursa

Fonte: Nicholas Sekora

Tylenchorhynchus

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Tylenchoidea Orley, 1880

Familia Dolichodoridae Chitwood in Chitwood e Chitwood, 1950

Sub-familia Telotylenchinae Siddiqi, 1960

Género *Tylenchorhynchus* Cobb, 1913 (Perry e Moens, 2006)

Normalmente, os nemátodes deste género causam danos em diferentes culturas: relvados, pastagens, tabaco, milho, etc... Estão entre os problemas mais comuns em relvados das zonas temperadas da América oriental (Crow, 2005).

Apresentam corpo de comprimento moderado e delgado, estilete robusto e medianamente longo, esófago sem se sobrepôr ao intestino, região labial pouco desenvolvida e cauda cónica. As fêmeas apresentam vulva na zona mediana do corpo e possuem dois ovários. Os machos são comuns e apresentam uma pequena bursa (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).



Figura 16- *Tylenchorhynchus* – Fêmea com vulva na parte mediana

Xiphinema

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Enoplea Inglis, 1983

Ordem Dorylaimida Pearse, 1942

Sub-ordem Dorylaimina Pearse, 1942

Super-familia Dorylaimoidea Thorne, 1935

Familia Longidoridae Thorne, 1935

Sub-familia Xiphinematinae

Género *Xiphinema* Cobb, 1913 (Perry e Moens, 2006)

Responsável pelo declínio de diversas culturas tais como, a vinha, o morangueiro, o amendoim, a luzerna, a soja, o aipo, o pinheiro, a roseira, etc.

É um nemátode de grandes dimensões e fino, com odontoestilete comprido com três extensões e anel-guia na parte posterior, o intestino não se sobrepõe ao esófago e a cauda é cônica. As fêmeas têm dois ovários e vulva a meio do corpo e os machos em algumas espécies são raros ou desconhecidos (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).

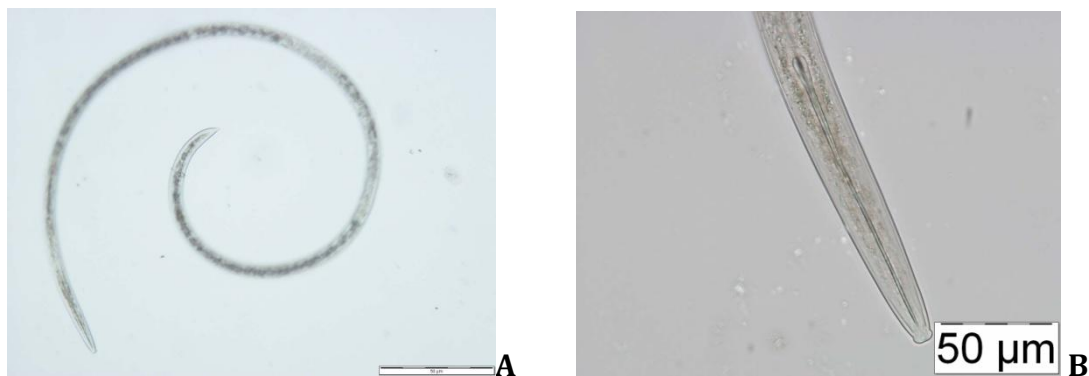


Figura 17 – *Xiphinema*. **A** – Corpo grande e fino; **B** – Odontoestilete

Helicotylenchus

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Tylenchoidea Orley, 1880

Familia Hoplolaimidae Filipjev, 1934

Sub-familia Rotylenchoidinae Whitehead, 1958

Género *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Perry e Moens, 2006)

Este género é bastante cosmopolita, estando distribuído em quase todo o mundo. Os seus danos podem ser visíveis em culturas como a vinha, a cana do açúcar, a banana, a batata, o arroz, o chá, o café, os relvados, etc... Normalmente são necessárias elevadas populações para causar danos, contudo existem algumas relvas susceptíveis, como por exemplo, a *Paspalum vaginatum* (Crow, 2005).

Normalmente são ecto-parasitas criando pequenas lesões nas raízes, mas ocasionalmente podem penetrar por completo nas raízes onde depositam os ovos.

Uma das características principais deste género é a forma em espiral quando o corpo se encontra relaxado ou morto. Possuem um estilete robusto moderadamente longo, região da cabeça cónica e cauda com uma pequena projecção. As fêmeas apresentam uma vulva na parte mediana do corpo e dois ovários. Os machos são raros (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).

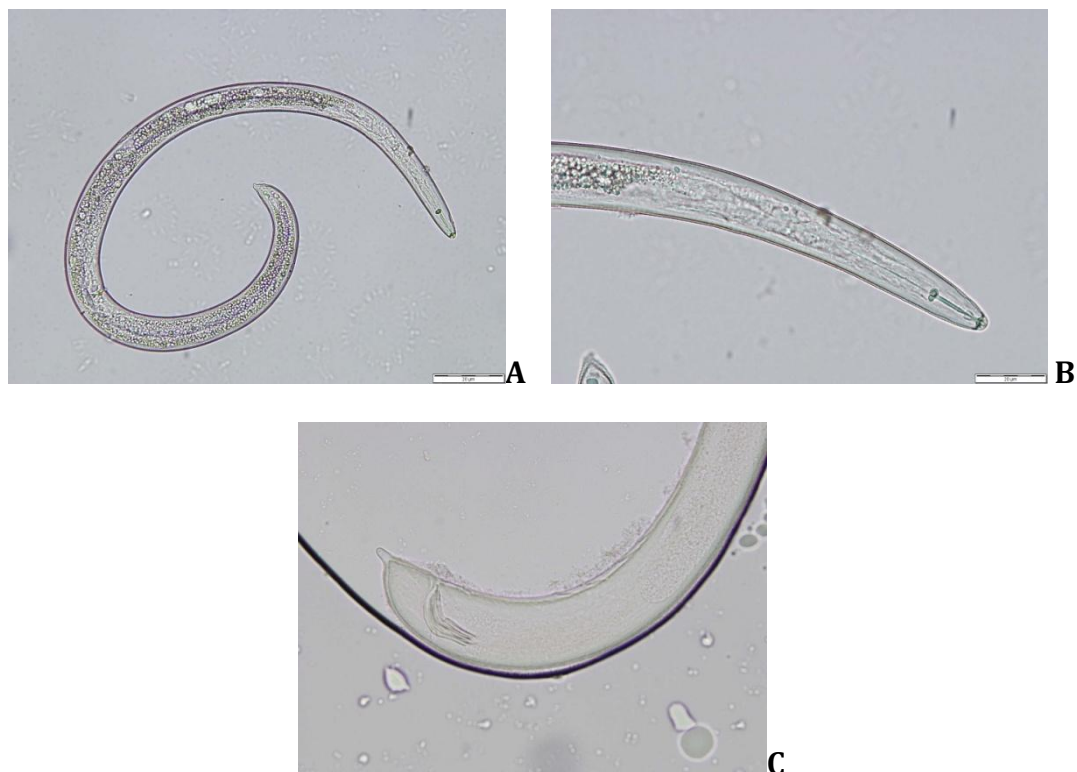


Figura 18 - *Helicotylenchus*. **A** - Corpo em forma de espiral; **B** - Estilete robusto moderadamente longo; **C** - cauda do macho com uma pequena projecção e espicula cupulatória

Paratrichodorus

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Enoplea Inglis, 1983

Ordem Triplonchida Cobb, 1920

Sub-ordem Diphtherophorina Coomans e Loof, 1970

Super-familia Diphtherophoroidea Micoletzky, 1922

Familia Trichodoridae Thorne, 1935

Sub-familia Xiphinematinae

Género *Paratrichodorus* Siddiqi, 1974 (Perry e Moens, 2006)

Este género pode ocorrer em vários tipos de solo: desde solos arenosos a solos com elevada matéria orgânica. Encontra-se em plantações variadas como: arroz, tabaco, tomate, morangos, pastagens e relvados.

Este género é relativamente pequeno de comprimento (0,5 a 1,5 mm) e tem forma aproximada de charuto. Uma característica que o distingue dos restantes é o seu estilete – odontoestilete curvado ventralmente e da ausência de botões basais. O esófago não se sobrepõe ao intestino; as fêmeas apresentam uma vulva na parte mediana do corpo; quer a parte posterior quer a anterior do corpo são arredondadas; e os machos são raros (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002; Crow 2005c).

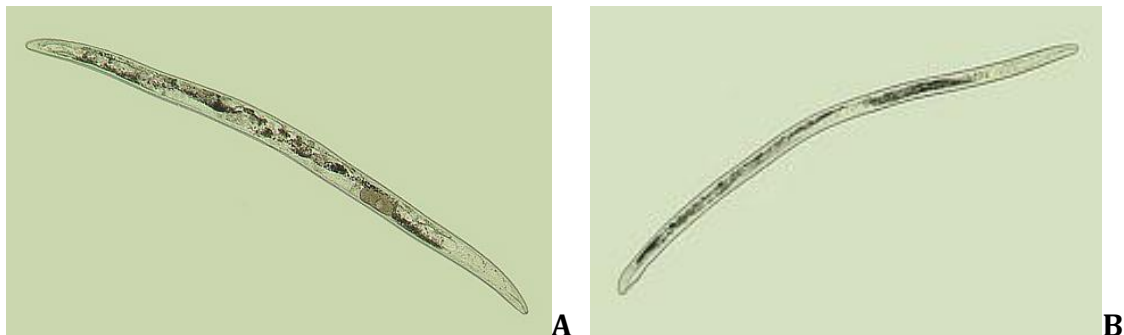


Figura 19 – *Paratrichodorus*. **A** – Fêmea; **B** – Macho

Fonte: Crow, 2005C

2.3. Nemátodes endoparasitas

2.3.1. Nemátodes endoparasitas sedentários

Meloidogyne

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Tylenchoidea Orley, 1880

Familia Meloidogyninae Skarbilovich, 1959

Sub-familia Meloidogyninae Skarbilovich, 1959

Género *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (Perry e Moens, 2006)

Trata-se do género mais bem distribuído mundialmente e possui numerosos hospedeiros sendo responsável pelo declínio das culturas com grande interesse económico.

As fêmeas destes nemátodes são responsáveis pelo aparecimento de galhas nas raízes. Possuem forma de pêra ou esférica, com um pescoço alongado e poro excretor na parte anterior, o bolbo médio é bem desenvolvido, as glândulas esofágicas são grandes, o intestino é sincicial, possuem seis células glandulares rectais que produzem a matriz gelatinosa onde são depositados os ovos e na parte central da região posterior, em volta do ânus e vulva existem estrias com grande valor taxonómico – Padrão perineal.

Os machos e os estádios juvenis são de vida livre apresentando forma filiforme. Os machos têm cauda arredondada sem bursa e possuem um ou dois testículos. Os estádios juvenis mais comuns no solo são os J2, estes possuem uma cauda afilada, estilete curto e delgado e as glândulas esofágicas sobrepõem-se ventralmente ao intestino (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).



Figura 20 – *Meloidogyne*- Estádio J2

Fonte: Nicholas Sekora

2.3.2. Nemátodes endoparasitas migratórios

Pratylenchus

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Classe Chromadorea Inglis, 1983

Ordem Rhabditida Chitwood, 1933

Sub-ordem Tylenchina Thorne, 1949

Infra-ordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxer, 2002

Super-familia Tylenchoidea Orley, 1880

Familia Pratylenchidae Thorne, 1949

Sub-familia Pratylenchinae Thorne, 1949

Género *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Perry e Moens, 2006)

Os nemátodes deste género encontram-se distribuídos por todo mundo e em diversas culturas tais como, algumas fruteiras, o milho, a soja, o trigo, o morangueiro, etc..

Apresentam corpo pequeno (inferior a 1mm), cilíndrico com parte anterior achatada, esclerosada e região labial anelada; metacorpo proeminente; esófago a sobrepôr-se ao intestino e estilete bem desenvolvido com grandes bolbos basais. As fêmeas apresentam a vulva perto da cauda e o ovário estende-se para

diante onde existe um saco pós-vulvar. Os machos apresentam uma bursa que rodeia a extremidade da cauda (Lyon e Loeffler, 1996; Eisenback, 2002).



Figura 21 – *Pratylenchus*. **A** - parte anterior achatada, esclerosada e região labial anelada; **B** – Vulva perto da cauda com saco pós-vulvar

Fonte: Tesfamariam Mengistun

3. Sintomas dos danos causados pelos nemátodes fitoparasitas

3.1. Enquadramento geral

Os nemátodes fitoparasitas são parasitas obrigatórios, obtendo os nutrientes do citoplasma das células vivas das plantas (Williamson e Hussey, 1996). Como foi referido anteriormente, diferentes grupos têm o seu modo próprio de alimentação e provocam um determinado dano específico no tecido vegetal.

As plantas são geralmente afectadas pelos nemátodes; quer por acção mecânica (resultado do movimento do nemátode através do tecido do hospedeiro), quer por acção das enzimas contidas nas secreções, quer pela formação de estruturas de alimentação especializadas.

Mas de uma maneira geral, as raízes danificadas por ataques de nemátodes têm a característica impar de retirar água e nutrientes do solo, necessitando mais frequentemente de adubações e regas. Um estudo realizado na Florida, com a maior praga dos relvados de campos de golfe – *Belonolaimus longicaudatus* (presente em 87% dos campos de golfe da Florida), demonstrou que a resposta dos relvados a fertilizações de acção rápida e de libertação lenta, apenas é eficaz após tratamento dos relvados com nematicida (Luc e Crow, 2004).

Conjuntamente com os ataques pelos nemátodes dá-se um aumento por parte da planta atacada, do consumo de fungicidas (Smiley *et al.*, 1992), e herbicidas (Burseley, 2003). Mesmo em campos fumigados com brometo de etilo, durante a construção, tendem a ter problemas. Isto não só se deve à globalização (sapatos dos jogadores, areias, máquinas contaminadas); como às práticas culturais utilizadas (muitas vezes são utilizados gomos vegetativos contaminados na implantação de novos relvados); como à perda de organismos antagonistas no solo (Crow, 2005a).

Isto pode ter consequências desastrosas ambientalmente, pois há desperdício de água e contaminação do solo com nitratos (Luc e Crow, 2004).

Durante anos, os efeitos dos nemátodes nos relvados foram negligenciados devido à falta de sintomas específicos dos seus ataques. O facto de serem organismos translúcidos e de tamanho microscópico induziram cientistas em erro, levando-os muitas vezes a associar a visível redução de vigor da planta a fungos e ou vírus (Anónimo, 2000). A juntar a isto, os diagnósticos que eram feitos até aí, eram baseados na taxa de germinação e não na taxa de desenvolvimento e produção das raízes (Stirling, 2006).

Os danos dos nemátodes estão sempre associados a factores de stress da planta. Apesar dos nemátodes existirem em quase todos os relvados, estes produzem uma abundante massa de raízes que permite ao nemátode alimentar-se e a planta desenvolver-se. Quando este equilíbrio é quebrado, ou seja, quando a planta deixa de ser tolerante, devido a um factor ambiental, esta deixa de produzir raízes rapidamente que substituam as atacadas por nemátodes (Stirling, 2006).

Com os ataques de nemátodes não é só o desenvolvimento das raízes que fica comprometido, como também os mecanismos de defesa das próprias plantas. Normalmente as plantas possuem substâncias e reacções que inibem o ataque de nemátodes antes ou após penetração. Essa resposta traduz-se na capacidade da planta em influenciar o crescimento e reprodução do nemátode (Caubel, 2000).

Esta resposta de resistência inclui a formação de toxinas, de fitoalexinas (proteína enzimática – endoglicanase - presente na parede celular vegetal), de inibidores de proteases, proteínas, mecanismos de oxidação/redução, e da lignificação, onde as peroxidases e polifenóis estão envolvidos (Caubel, 2000).

Num campo de golfe os factores mais comuns de stress são a baixa altura de corte, as excessivas fertilizações com azoto (faz com que haja um aumento do crescimento foliar em detrimento do crescimento radicular), o stress hídrico, o stress de temperatura, a compactação do solo, o tipo de solos e o *thatch* (camada orgânica composta por rebentos, caules e raízes mortas e vivas - esta camada existe entre a massa vegetativa verde a a superfície do solo) (Beard, 1998; Luc e Crow, 2004; Stirling, 2006; Fleming, 2008).

Em suma, o aparecimento de sintomas nas plantas está relacionado com a sua capacidade de resistência (relacionado com a reprodução do nemátode) e de tolerância (relacionado com o dano) ao ataque de nemátodes.

Os sintomas usualmente ocorrem em grandes círculos irregulares que vão crescendo devido ao agrupamento de nemátodes (Anónimo, 2000).

3.2. Sintomas das partes aéreas

Os sintomas observáveis acima do solo muitas vezes não são o suficiente para fazer um bom diagnóstico de nemátodes, no entanto são um bom indicador. Normalmente o primeiro sintoma visível é a falta de crescimento que poderá estar relacionado com inúmeros factores, daí que uma amostragem e análise pormenorizada seja fundamental para a detecção desta praga (Crow, 2005a).

Os sintomas das partes aéreas podem dividir-se em duas categorias, os que são provocados por nemátodes das partes aéreas que atacam as folhas, e os que são provocados por nemátodes que atacam as raízes (Cole e Coyne, 2007).

3.2.1 – Sintomas causados por nemátodes das partes aéreas

- Formação de galhas ou intumescimentos anormais nas sementes (ex. *Anguina*) ou nas folhas (ex. *Cynipanguina*).
- Folhas com estrias, amarelecimento e descoloração das folhas (especialmente em climas temperados) (ex. *Aphelenchoides*).
- Intumescimentos, enrugamentos e crescimento desorganizado dos tecidos (ex. *Ditylenchus*).
- Necroses internas nos caules, com a forma de um anel-vermelho (ex. *Bursaphelenchus cocophilus*).
- Necroses nas inflorescências.
- Clorose/acastanhamento das folhas (agulhas dos pinheiros) e eventual morte das árvores (ex. *Bursaphelenchus xylophilus*) (Cole e Coyne, 2007).

3.2.2 - Sintomas causados por nemátodes das raízes

- Clorose (amarelecimento) ou outra coloração anormal da folhagem.
- Crescimento irregular e reduzido.
- Folhagem fina ou escassa.
- Sintomas de stress hídrico, tais como emurchecimento ou enrolamento da folha.
- Definhamento de plantas perenes ou lenhosas com pouca ou sem nova folhagem.
- Tamanho reduzido dos frutos e das sementes.
- Baixas produções (Cole e Coyne, 2007).

Outros sintomas que podem sugerir uma infecção por nemátodes das raízes, e já mencionados anteriormente, são:

- Falta de reacção normal à adição de fertilizantes.
- Tendência a reagir mais rapidamente ao stress hídrico do que as plantas saudáveis e recuperação lenta do emurchecimento.
- Pouco ou nenhum desenvolvimento de folhas novas no início de uma nova época de crescimento.
- Graves problemas com ervas daninhas (grande densidade), devido ao facto das plantas infectadas com nemátodes serem menos capazes de competir com as daninhas.
- Incidência maior da doença devido à falta de resistência das plantas infectadas com nemátodes (Cole e Coyne, 2007).

3.3. Sintomas das raízes

Os sintomas das raízes são devidos aos nemátodes que atacam as raízes e podem ser suficientemente específicos para permitir o diagnóstico de um problema com nemátodes das raízes (nemátodes endoparasitas). Contudo para observar os sintomas é necessário desenraizar as plantas ou escavar as raízes (Cole e Coyne, 2007).

Os sintomas incluem:

- Galhas nas raízes - A formação de galhas nas raízes deve-se na maior parte das vezes aos nemátodes-das galhas-radiculares (*Meloidogyne*), embora haja outros nemátodes, como, por exemplo, *Nacobbus aberrans*, que também podem causar a formação de galhas. O tipo de alimentação de alguns nemátodes, como *Xiphinema*, pode dar origem, na extremidade das raízes, à formação de intumescimentos ou pequenas galhas pouco definidas. As galhas podem variar consideravelmente, dependendo da espécie de *Meloidogyne*, da cultura e cultivar, e se ocorrem nas raízes ou nos tubérculos. O aspecto típico inclui:

- Pequenos intumescimentos individuais semelhantes a contas
- Grupos maciços de tecido carnudo
- Extremidade das raízes com intumescimentos
- Intumescimentos irregulares ao longo da raiz
- Extremidades das raízes em forma de gancho
- Intumescimento na raiz pouco visível, apenas visível uma pequena saliência na raiz onde se encontra o nemátode (Cole e Coyne, 2007).

- Raízes curtas, grossas ou reduzidas - Outros intumescimentos nas raízes podem ser provocados por bactérias benéficas *Rhizobium*, fixadoras de azoto. Chamam-se nódulos e são vulgarmente observados nas raízes de culturas leguminosas. Distinguem-se das galhas radiculares pelo seu conteúdo e pelo modo como estão ligados à raiz. Nódulos frescos têm, no seu interior, um líquido leitoso rosa a castanho, enquanto as galhas tendem a ser compostas por uma massa gelatinosa clara, sólida, por vezes dura. Os nódulos estão pouco ligados à raiz e podem ser facilmente removidos; as galhas dos nemátodes-das-galhas-radiculares têm origem no interior da raiz e a sua remoção é mais difícil e irá danificar o córtex radicular. Algumas doenças das raízes, tais como o fungo hénria ou potra

(*Plasmodiophora brassicae*), podem dar origem a sistemas radiculares deformados eventualmente semelhantes ao estrago provocado pelas galhas-radiculares.

- Lesões nas raízes - As raízes e os tubérculos podem ter zonas de tecido morto (necroses), em resultado da actividade do nemátode. À medida que os nemátodes se alimentam e migram dentro das raízes, vão destruindo as células vegetais e também alteram as funções celulares, causando a morte do tecido.

- Necrose, apodrecimento ou morte de raízes ou tubérculos - Os nemátodes podem, por si só, causar o apodrecimento das raízes e dos tubérculos através da penetração extensa, que leva à formação substancial de necroses e à morte dos tecidos e da raiz. Exemplos destes nemátodes são o nemátode da bananeira *Radopholus similis*, o nemátode-das-lesões-radiculares *Pratylenchus*, o nemátode-do-inhame *Scutellonema bradys* e *Hirschmanniella miticausa* em taro. Frequentemente ocorrem infecções secundárias por fungos e bactérias, que também contribuem para o apodrecimento.

- Fendas nas raízes ou tubérculos - Nas raízes e nos tubérculos, muitas vezes ocorrem fendas na superfície após uma infecção por nemátodes. Este sintoma pode ser atribuído à falta de água ou de nutrientes durante o crescimento. A ocorrência de fendas é muitas vezes detectada em tubérculos de batata-doce, provocada pelo nemátode-reniforme (*Rotylenchulus reniformis*). O nemátode-do-inhame pode causar o mesmo sintoma no inhame.

- Quistos nas raízes ou 'raízes em rosário' - Os nemátodes-de-quisto (e.g. *Heterodera* e *Globodera* spp.) podem, muitas vezes, ser observados a olho nu nas raízes das suas plantas hospedeiras, se o solo for sacudido e se o observador for muito cuidadoso na sua observação. As fêmeas adultas jovens são visíveis como pequenas contas brancas, e, quando estão presentes em grande quantidade, parecem pérolas. À medida que se desenvolvem, as fêmeas vão dar origem aos quistos, que ficam duros e castanhos ou pretos e que podem conter centenas de ovos.

- Deformações nas raízes

- Arquitectura da raiz alterada. - Há formação de excesso de ramificações; certos nemátodes quando se alimentam de raízes jovens, estimulam o desenvolvimento de pequenas ramificações, junto do local de penetração.

- Sistemas radiculares reduzidos - Trata-se do sintoma mais típico do ataque de nemátodes. A sua actividade provoca o encurtamento das raízes, de

modo a que a massa de raiz fique grandemente reduzida ou tenha um aspecto grosso (Cole e Coyne, 2007).

3.4. Nemátodes como transmissores de vírus e fungos.

Os nemátodes fitoparasitas podem interagir com fungos e causar diferentes doenças nas plantas. Mesmo os nemátodes não fitoparasitas podem ter a habilidade de transportar internamente esporos de fungos, protegendo-os de fungicidas e dando-lhes maior mobilidade (Powell, 1971).

Pelo facto de estarmos perante dois patogénios pode haver um aumento da acção de cada um ou podem combinar-se formando uma nova doença. Exemplo disso é a doença no morangueiro causada pela combinação do nemátode *Aphelenchoides ritzemabosi* e o fungo *Corynebacterium fascians* (Williams e Bridge, 1983).

Este processo de infecção com fungos patogénicos dá-se de várias formas consoante o tipo de alimentação dos nemátodes fitoparasitas. Caso sejam nemátodes ectoparasitas, a infecção da planta dá-se quando o nemátode insere o seu estilete nas células; caso sejam endoparasitas, há uma modificação interna das células da planta, tornando-as num substrato favorável à germinação, desenvolvimento e reprodução de fungos patogénicos (Bergeson, 1972). Consoante o fungo em causa, as hifas contidas nos exsudados têm a capacidade de inibir o crescimento de alguns fungos não patogénicos contidos no solo (Powell, 1971).

Dependendo das espécies, os nemátodes têm a capacidade de estimular ou inibir a reprodução dos fungos.

Exemplos de inibição: *Aphelenchus sp.* - *Pythium sp.*; *Heterodera sp.* - *Fusarium sp.* (Williams e Bridge, 1983).

Exemplos de estimulação: *Pratylenchus sp.* - *Verticillium sp.*, *Meloidogyne sp.* - *Fusarium sp.* (particularmente no algodoeiro e tomateiro), *Pratylenchus penetrans* - *Verticillium dahliae* (particularmente no tomateiro), *Pratylenchus sp.* - *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia* e algumas espécies de nemátodes actuam sobre algodoeiro, feijoeiro e cevada, *Globodera rostochiensis* - *Verticillium dahliae* (na batateira) (Powell, 1971; Williams e Bridge, 1983).

Nos relvados está comprovada a relação entre nemátodes e os seguintes fungos: *Fusarium*, *Phialophora*, *Leptosphaeria*, *Rhizoctonia* e *Pythium* (Anónimo, 2000).

Tal com os nemátodes têm a capacidade de transferir fungos para as plantas, também o fazem com vírus e bactérias. Ao contrário dos fungos não existe qualquer tipo de controlo do nemátode sobre o vírus, estes apenas servem de vectores (Bannon e Inserra, 1990).

A primeira evidência científica do papel dos nemátodes na transmissão de vírus foi obtida em 1958, onde a espécie *Xiphinema index* demonstrou ser capaz de transmitir um vírus de uma videira infectada para uma saudável (Hewitt *et al.*, 1958).

São duas as famílias de nemátodes fitoparasitas capazes de transmitir vírus: Longidoridae, que inclui os géneros *Longidorus* e *Xiphinema*; e Trichodoridae, que inclui os géneros *Trichodorus* e *Paratrichodorus*. Os nemátodes da família Longidoridae transmitem vírus com dupla cadeia de RNA, formato poliédrico, e com 30 nm de diâmetro - os Nepovirus (NEPO): 11 espécies de *Xiphinema* transmitem 14 NEPO vírus e 10 espécies de *Longidorus* transmitem 14 (Lamberti e Roca, 1987).

Os nemátodes da família Trichodoridae transmitem vírus com dupla cadeia de RNA, formato tubular, e com 180 a 210 nm ou 45 a 115 nm de diâmetro - os Tobravirus (TOBRA): 9 espécies de *Trichodorus* transmitem 8 TOBRA vírus e 9 *Paratrichodorus* transmitem 5 (Harrison *et al.*, 1971; Lamberti e Roca, 1987).

Os nemátodes adquirem o vírus quando estão a alimentar-se de plantas infectadas. Este processo pode durar entre poucos minutos a vários dias, tudo dependendo uma vez mais, do tipo de alimentação do nemátode (Alfaro e Goheen, 1974).

Apesar de qualquer nemátode ser capaz de apresentar vírus no seu interior, só os géneros acima descritos têm a capacidade de serem vectores e isso deve-se a vários factores, um deles, a estruturas morfológicas específicas que servem de locais de retenção para vírus (Bergeson *et al.*, 1964). Nas espécies do género *Longidorus* os vírus são normalmente retidos na região do odontoestilete. Para o *Xiphinema* são retidos no odontoestilete e na região do esófago. Nos géneros *Trichodorus* e *Paratrichodorus* estão retidos no lúmen esofágico e no estilete (Bannon e Inserra, 1990). Os outros factores estão relacionados com a patogenicidade do nemátode e com a capacidade de multiplicação do vírus (Lamberti e Roca, 1987).

De um modo geral o sucesso da transmissão do vírus depende sempre da compatibilidade entre as proteínas contidas na superfície dos vírus e a superfície cuticular do nemátode vector (Lamberti *et al.*, 1975).

Alguns nemátodes da família Trichodoridae conseguem reter vírus durante mais de um ano (Bergeson *et al.*, 1964), contudo, e na ausência de plantas hospedeiras, muitos nemátodes perdem o vírus ou perdem a habilidade de os

transmitir nos primeiros meses (McGuire, 1973). Os vírus não se replicam dentro do nemátode e não ficam retidos nos diferentes estádios juvenis e ovo (Winslow, 1961).

Existem poucos casos de inter-relações entre nemátodes e bactérias, os exemplos mais comuns são:

- *Meloidogyne* e: *Rastonia solanacearum* (no tabaco), *Clavibacter michiganense* (na luzerna ou alfafa), *Pseudomonas marginata* (nos gladiolos).

- *Criconemella xenoplax* e *Pseudomonas syringae* nas árvores.

- *Anguina* e *Clavibacter toxicus* nos gomos vegetativos (Riley, 2008).

4. Golfe versus Nemátodes

4.1. Enquadramento geral

O golfe assume-se como um grande negócio ao nível mundial. Entre 1985 e 2000, o número de jogadores de golfe em todo o mundo registou um aumento de 35 para 56 milhões. O maior crescimento do golfe em termos absolutos surgiu em países com maior população e tradição golfista, como os Estados Unidos (por exemplo, no estado da Florida existem cerca de 2000 campos de golfe que geram uma receita anual de \$USD 4.44 biliões (Haydu e Hodges, 2002). Outros países com crescimentos no golfe são o Japão, o Reino Unido, o Canadá e a Austrália. Portugal surge como um destino especial de golfe na Europa, privilegiado pela sua localização e condições climáticas favoráveis (Algarve Golfe, 2000).

O mercado de golfe em Portugal (continente e ilhas), regista 82 campos de golfe, uma oferta que duplicou nos últimos anos e que tem adquirido uma vertente mais comercial e virada para o mercado estrangeiro (Relatório Anual CNIG):

- **Algarve** – Principal destino de golfe, representando 45,12% da oferta de golfe em Portugal, Existem 37 campos, 31 de 18 buracos e 6 com 9 buracos.

- **Lisboa e Vale do Tejo** - Representam 30,48% da oferta de Golfe em Portugal. A oferta contabiliza 25 campos, dos quais 18 são de 18 buracos e 7 de 9 buracos.

- **Porto e Norte de Portugal** – 11%. A região tem 9 campos - 4 reservados a sócios e 5 comerciais (embora com espaço reservado a sócios).

- **Madeira** – 3,66%. Existem 3 campos, 2 na Madeira e 1 no Porto Santo.
- **Açores** – 3,66%. Existe uma oferta de 3 campos (2 em S. Miguel e 1 na Terceira).
- **Centro** – 4,9%. Existem 4 campos de golfe, 1 em Viseu de 18 buracos e três campos de 9 buracos (Curia, Quinta das Lágrimas, Coimbra e Belmonte).
- **Alentejo** – 1,2%. Existe 1 campo de golfe de 18 buracos, em Tróia (Pólo Litoral Alentejano), encontrando-se em curso novos investimentos.

O aparecimento do golfe no Algarve remonta aos anos 60, data em que a região iniciou o seu desenvolvimento turístico. Num intervalo de 30 anos surgiram 27,5 campos de golfe de 18 buracos. Nestes campos, actualmente, 200 000 jogadores jogam mais de 900 000 voltas de golfe gerando receitas directas e indirectas na ordem dos 350 milhões de euros, fazendo do golfe um excelente negócio no Algarve (Correia e Martins, 2003).

Esta popularidade, a nível global, deriva do facto de ser uma modalidade esteticamente bonita, com grandes extensões relvadas e pelo facto de cada vez mais haver tapetes de relva suaves e rápidos (Crow, 2005).

No entanto, tal sucesso tem um preço, e as novas exigências com a superfície de jogo (*greens* com cortes muito baixos: entre 2,5 a 4 mm), implicam a perda de saúde da própria relva, tornando-a mais propícia ao ataque de nemátodes fitoparasitas que geralmente reduzem o vigor da planta e em casos de stress causam danos severos nos sistemas radiculares e foliares (Crow, 2005).

Actualmente é reconhecida e reportada a importância dos ataques dos nemátodes fitoparasitas nas relvas de estação fria e estação quente dos campos de golfe espalhados pelo mundo (ANR -523). Contudo em Portugal, ainda nada foi feito.

4.2. Limites de dano (*damage threshold*)

Os danos produzidos pelos nemátodes são afectados por numerosos factores; para além da espécie ou espécies em causa e dos respectivos níveis populacionais, há também a susceptibilidade do hospedeiro, factores ambientais e a presença de outros microorganismos a quem se possam associar (Crow, 2005b).

O limite de dano corresponde ao número de nemátodes por um determinado volume de solo, raízes ou folhas, capaz de causar dano a uma cultura (Anónimo, 2000).

Os limites de dano são extremamente complexos e difíceis de estabelecer, pois variam com a forma do nemátode, tipo de solo, altura do ano, espécies, estágio de crescimento e vigor da planta e práticas culturais. Juntamente a isto os nemátodes quase sempre existem em comunidades de mais de uma espécie podendo estas ou não contribuir para o dano da cultura (Anónimo, 2000).

Os limites de dano normalmente são menores em solos arenosos que em solos argilosos que são mais férteis e retêm mais água. Adicionalmente os relvados são mais tolerantes durante o seu período de crescimento ou em alturas em que existem menores stresses ambientais e culturais (Anónimo, 2000).

Com isto é fácil de deduzir que são vários os valores de limite de dano. Para os Estados Unidos da América, os valores abaixo mencionados foram obtidos a partir dos seguintes estudos: McCarty 2001 e Couch 1995; Crow 2005. Estes valores variam muito dependendo do tipo de relva e dos factores ambientais. Por exemplo, tipos de relvas como: a Bermuda, a Zoysia, a Centípede e o Paspalum são tolerantes a *Paratrichodorus* com limites de dano de 150/100 cm³ de solo, contudo a St. Augustine (*Stenotaphrum secundatum*, vulgar escarvalho) tem limites de dano de 40/100cm³ de solo (Crow, 2001).

Tabela 5 – Limites de dano para os géneros de nemátodes fitoparasitas mais comuns nos Estados Unidos Adaptado de Couch 1995, McCarty 2001 e Crow, 2005

Nome vernáculo em inglês de nemátodes fitoparasitas	Nome científico do género de nemátodes fitoparasitas	Limite de dano (nº de nemátodes por 100 cm³ de solo)
Awl	<i>Dolichodorus</i>	10 - 150
Cyst	<i>Heterodera</i>	10-40
Dagger	<i>Xiphinema</i>	150-300
Lance	<i>Hoplolaimus</i>	40-100
Needle	<i>Longidorus</i>	20
Pin	<i>Paratylenchus</i>	130
Ring	<i>Criconemoides</i>	150-1500
Root-knot	<i>Meloidogyne</i>	80-300
Lesion	<i>Pratylenchus</i>	150
Sheath	<i>Hemicycliophora</i>	80-200
Sheathoid	<i>Hemicriconemoides</i>	80-500
Spiral	<i>Helicotylenchus</i>	200-700
	<i>Peltamigratus</i>	150
Sting	<i>Belonolaimus</i>	10-50
Stubby root	<i>Trichodorus</i>	50-100

(Continuação da Tabela 5)

	<i>Paratrichodorus</i>	50-100
Stunt	<i>Tylenchorhynchus</i>	100-400

Quando se avalia o dano causado pelos nemátodes, é sempre necessário algum bom senso; por exemplo, plantas que estão severamente atacadas pelo nemátode das galhas radiculares, podem ter poucas raízes para proceder à avaliação; o dano pode parecer mínimo quando na realidade é elevado (Coyne *et al.*, 2007).

Os limites de dano para a Europa, mais concretamente em Inglaterra e na Irlanda são baseados em observações de campo e testes de inoculação em 272 amostras de campos de golfe, e futebol, durante 2006 (Fleming, 2008). Estes dados são utilizados também para Portugal embora não haja nenhum estudo sobre limites de dano.

Tabela 6 – Limites de dano para os géneros de nemátodes fitoparasitas mais comuns na Irlanda
Adaptado de Fleming, 2008

Nome vernáculo em inglês	Nome científico de género	Limite de dano (nº de nemátodes por 100 cm ³ de solo)
Spiral	<i>Helicotylenchus</i>	400 *
Cyst	<i>Heterodera</i>	40 *
Lesion	<i>Pratylenchus</i>	100 *
Sheath	<i>Hemicycliophora</i>	80
Needle	<i>Longidorus</i>	20
Pin	<i>Paratylenchus</i>	100
Ring	<i>Criconemella</i>	600
Root-knot	<i>Meloidogyne</i>	20 *
	<i>Tylenchus</i>	250
Root gall	<i>Subanguina</i>	40 *
	<i>Pratylenchoides</i>	80 *
Spiral	<i>Rotylenchus</i>	500 *
Stubby root	<i>Paratrichodorus</i>	100
Stunt	<i>Tylenchorhynchus</i>	300

*Limite de dano relacionado com nemátodes dentro das raízes

III – MATERIAL E MÉTODOS

1. Enquadramento geral

Nos campos de golfe o problema dos nemátodes associados a relvados é recente, embora existam algumas análises feitas individualmente por alguns campos de golfe. Em Portugal, a situação não é conhecida com rigor, pois não se conhece quais os géneros mais comuns dos nemátodes dos relvados, quais os limites de danos, quais os factores que influenciam a sua patogenicidade e quais os métodos de extracção mais adequados.

2. Amostragem

Neste trabalho o processo de amostragem foi efectuado de forma rigorosa tendo sempre o cuidado de obter dados significativos e fiéis do número e géneros de nemátodes que existem num dado local, e fornecer uma estimativa do dano que o conjunto de géneros ou género de nemátodes fitoparasitas causará em *greens* de campos de golfe.

Como se tratou de uma amostragem para identificação de nemátodes no solo teve-se em conta dois parâmetros: espaço (distribuição vertical e horizontal) e tempo (ciclos de vida dos nemátodes) (Mota, 1989).

2.1. Local de colheita

Apesar de existirem diversos campos de golfe ao longo de Portugal, foi escolhida a região do Algarve por dois motivos: a logística e o facto de ser a região de referência do golfe europeu. Foram escolhidos para o estudo os seguintes campos de golfe algarvios (Figura 22):

Zona do barlavento algarvio:

- (1) Alto Golf – perto da praia de Alvor,
- (2, 3) Morgado do Reguengo / Álamos – perto da barragem do Arade, Portimão,
- (4, 5) Faldo / O'Connor – perto de Alcântarilha.

Zona do centro algarvio:

- (6) Victoria – em Vilamoura,
- (7) Old Course- em Vilamoura,
- (8) Millennium- em Vilamoura,
- (9) Pinhal- em Vilamoura,
- (10) Laguna- em Vilamoura,
- (11, 12) Ocean / Royal – em Vale de Lobo/ Quinta do Lago.

Zona do sotavento algarvio:

- (13) Benamor Golf – perto de Tavira,
- (14, 15) Quinta da Ria / Quinta de Cima- perto de Cacela Velha.

A localização geográfica dos campos de golfe encontra-se representada na Figura 22. Os números encontrados na figura correspondem aos números acima atribuídos.



Figura 22 – Localização dos campos de golfe amostrados

A escolha dos campos de golfe foi feita com base na seguinte ordem de critérios:

1º Campos com e sem historial de nemátodes fitoparasitas

Para cada zona da região Algarvia foram escolhidos campos com e sem historial de nemátodes.

Note-se que apesar de não haver registos conhecidos de nemátodes fitoparasitas em relvados de campos de golfe; alguns campos de golfe recorreram a análises em Inglaterra e Irlanda para despiste de nemátodes fitoparasitas. E foi com base nessas análises que se foram identificados quais os campos com e sem historial em nemátodes fitoparasitas.

Campos com historial de nemátodes podem mais facilmente mostrar quais os nemátodes fitoparasitas mais comuns em determinado local (distribuição vertical e distribuição horizontal) (Crow, 2001)

- Na zona do barlavento algarvio os campos 1, 2, 3 apresentam historial, os campos 4 e 5 não apresentam historial.

- Na zona do centro algarvio os campos 7, 8, 9, 11 e 12 apresentam historial, os campos 6 e 10 não apresentam.

- Na zona do sotavento algarvio o campo 13 apresenta historial de nemátodes, os campos 14 e 15 não apresentam.

2º Campos em zonas de maior concentração de turistas/golfistas

A utilização deste critério tem por base o potencial de propagação dos nemátodes fitoparasitas através das solas de sapatos e das pontas dos tacos dos jogadores de golfe (Crow, 2005). Provavelmente, campos de golfe com maior número de jogadores poderão ter maior número de géneros de nemátodes fitoparasitas devido ao factor acima mencionado.

Ainda com base neste critério, os *greens* dos campos de golfe com maior incidência de jogadores estão mais sujeitos a stress devido ao pisoteio (Stirling, 2006). Maior stress por parte dos relvados está directamente relacionado com a maior incidência de sintomas causados por nemátodes fitoparasitas (Crow, 2005)

- Zonas de maior concentração – Vilamoura (6, 7, 8, 9, 10) e Vale de Lobo (11 e 12).

- Zonas de menor concentração – Portimão (1, 2, 3, 4, 5) e Tavira (13, 14, 15).

3º Campos com e sem o mesmo grupo financeiro

A utilização deste critério teve por base a modo de propagação dos nemátodes fitoparasitas - através de máquinas de corte e perfuração (Crow, 2005). Campos de golfe do mesmo grupo financeiro tendem a usar o mesmo tipo de máquinas.

- Grupo Oceânico: 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10.

- Grupo CS: 2 e 3.

- Grupo Vale de Lobo: 11 e 12.

- Quinta da Ria /quinta de cima: 14 e 15.

- Pestana: 1.

- Benamor: 13.

4º Campos com diferentes idades de construção ou desde a última remodelação

Os campos amostrados têm entre 3 a 25 anos de idade (Tabela 7).

Atendendo que os campos mais velhos apresentam maior maior camada de *tatch*; e que segundo Stirling, esse facto influencia a maior ou menor incidência de nemátodes fitoparasitas; foram escolhidos campos com diferentes idades (Stirling, 2006).

As idades dos campos de golfe escolhidos correspondem ou à idade de construção, ou à idade da última remodelação. Normalmente uma remodelação é basicamente uma construção, tudo num *green* é feito novamente, dregagem, zona radicular e relvado (Beard, 2002).

Tabela 7 - Idades dos diferentes campos de golfe amostrados. As idades correspondem em alguns casos á idade de construção, outros correspondem à idade de remodelação dos *greens* (*)

Nome do campo de golfe	Idade (anos)
O'Connor	3
Faldo	3
Millennium	11*
Pinhal	25
Victória	7*
Old Course	15*
Laguna	21
Álamos	8
Morgado	8
Ocean	17*
Royal	15*
Bemanor	11
Alto Golf	20
Quinta da Ria	9
Quinta de Cima	9

5º Campos com diferentes variedades de relva nos *greens*

De um modo geral a escolha da relva dos *greens* nos campos de golfe inerentes a este trabalho são algumas variedades/cultivares de Bentgrass (*Agrostis stolonifera*), associada em maior ou menor grau, dependendo do campo e, especialmente, da idade, com *Poa annua* (Tabela 8).

Tabela 8 – Variedades de relvas nos *greens* dos campos de golfe amostrados

Nome do campo de golfe	Variedades de relvas
O'Connor	Penn A1
Faldo	Penn A4
Millennium	Penn A2
Pinhal	Penncross
Victória	L-93
Old Course	Providence
Laguna	Penncross
Álamos	Penn A4
Morgado	Penn A4

(Continuação da Tabela 8)

Ocean	Penn A1
Royal	Penn A1
Bemanor	Penn A4
Alto Golf	Penn A4
Quinta da Ria	Penn A4
Quinta de Cima	Penn A4

Nota: Todos os campos apresentavam, para além da respectiva variedade de origem, *Poa annua*. A sua quantidade varia de acordo com a idade do campo: campos mais velhos apresentam maior quantidade de *Poa annua* em relação aos campos de golfe mais recentes (dado não quantificado mas observado *in situ*)

2.2. Número de amostras

Foram amostrados 5 *greens* por campo (Todd, 1990; Sikora, *et al*, 2001; Goad *et al*, 2002; Crow, 2005; Westerdahl *et al*, 2005; Jordan e Mitkowski, 2006; Abawi e Gugino, 2007; Cole e Coyne, 2007;)

A Tabela 9 apresenta o número dos *greens* amostrados em cada campo de golfe.

Tabela 9 – *Greens* amostrados por campos de golfe

Nome do campo de golfe	Nº dos <i>greens</i>
O'Connor	3, 6, 13, 15, 18
Faldo	4, 6, 9, 10, 12
Millennium	5, 6, 7, 13, 17
Pinhal	2, 7, 9, 16, 18
Victória	7, 11, 14, 17, 18
Old Course	3, 5, 9, 15, 18
Laguna	3, 5, 12, 14, 17
Álamos	2, 8, 10, 12, 16
Morgado	4, 6, 9, 14, 18
Ocean	11, 14, 15, 16, 17
Royal	5, 6, 10, 12, 14
Bemanor	1, 2, 10, 11, 12
Alto Golf	1, 2, 3, 16, 18
Quinta da Ria	1, 3, 4, 10, 14
Quinta de Cima	1, 4, 5, 10, 12

No campo de golfe do Alto Golf (Figura 23) foram renovados, o ano de 2008, entre Janeiro e Fevereiro, 8 *greens* devido a ataques de nemátodes. Os *greens* renovados foram: 1, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 17. A escolha dos *greens* 1, 2, 3, 16, 18, teve como principal base, escolha de *greens* não renovados (mais antigos) com maior incidência de stress hídrico (com excepção do *green* 1).

Embora o *green* 1 tenha sido renovado é o que apresenta maior stress hídrico durante a época quente. Em 2009, o *green* 18 teve sujeito a forte ataque e apresentou sintomas de nemátodes (Figura 23 – B).

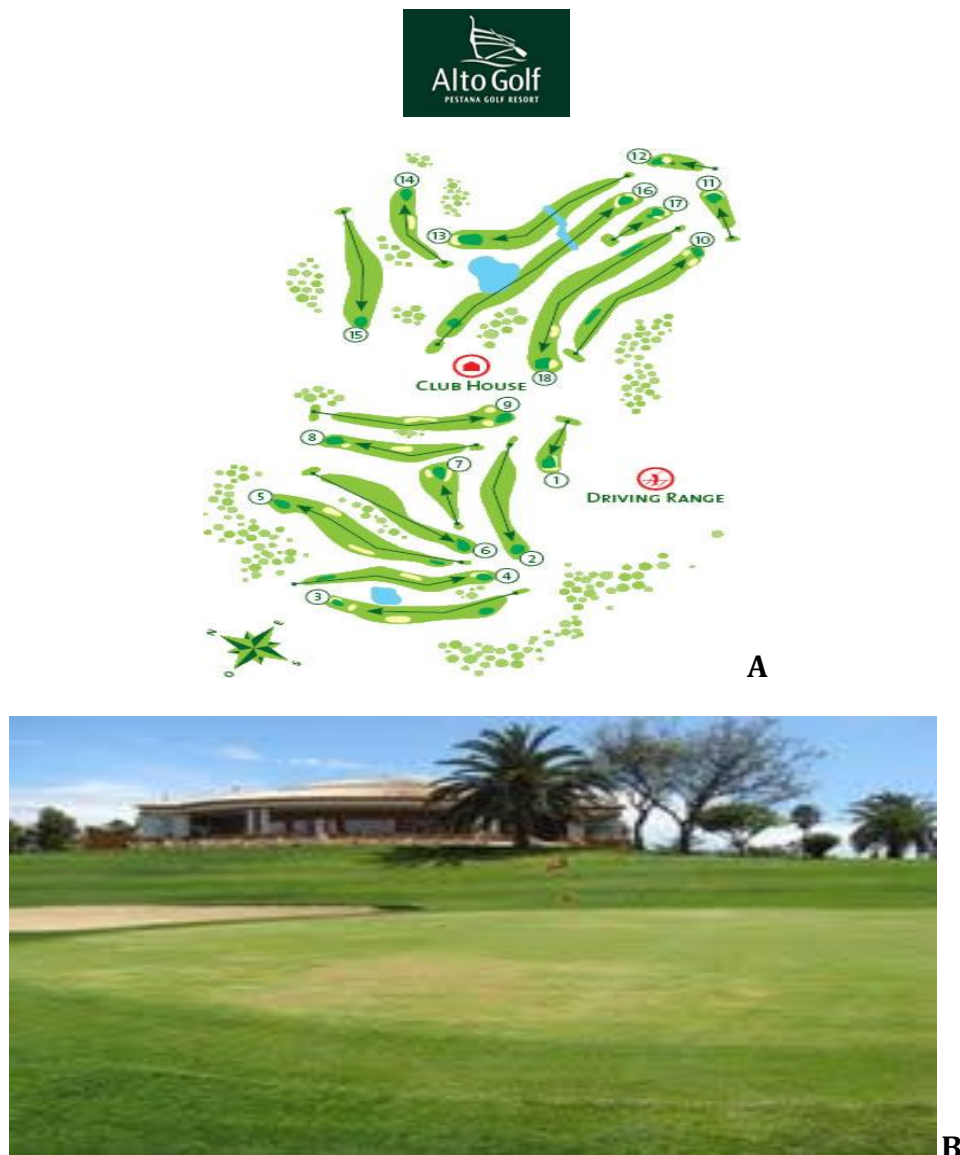


Figura 23 – Localização dos *greens*. **A** – Esquema do *layout* do campo; **B** – *Green* 18 em 2009 com sintomas de nemátodes Fonte: Luis Pinto e Pestana Group

A escolha dos *greens* nos campos de golfe do Morgado do Reguengo (Figura 24) e dos Álamos (Figura 25) foi feita de modo aleatório, apesar de terem

apresentado sintomas de nemátodes em Dezembro de 2007 e Maio e Junho de 2008. Contudo, não se sabe quais os *greens* que foram mais afectados.



Figura 24 – Localização dos greens, esquema do layout do campo Fonte: CS Group



Figura 25 – Localização dos greens, esquema do layout do campo Fonte: CS Group

Em Vale do Lobo, a escolha dos *greens* no Ocean Golf Course (Figura 26) foi feita de forma aleatória, contudo no Royal Golf Course (Figura 27) a escolha foi feita com base em antigos ataques de nemátodes: 5, 6, 10, 12 e 14.



Figura 26 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Vale de Lobo Group



Figura 27 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Vale de Lobo Group

A escolha dos “greens” no Benamor Golf (Figura 28) foi feita de forma aleatória. Embora tenham havido ataques desde 2005, com especial incidência em Janeiro, Fevereiro de 2008, não foi feita nenhuma caracterização, não se sabendo ao certo quais os *greens* mais afectados.

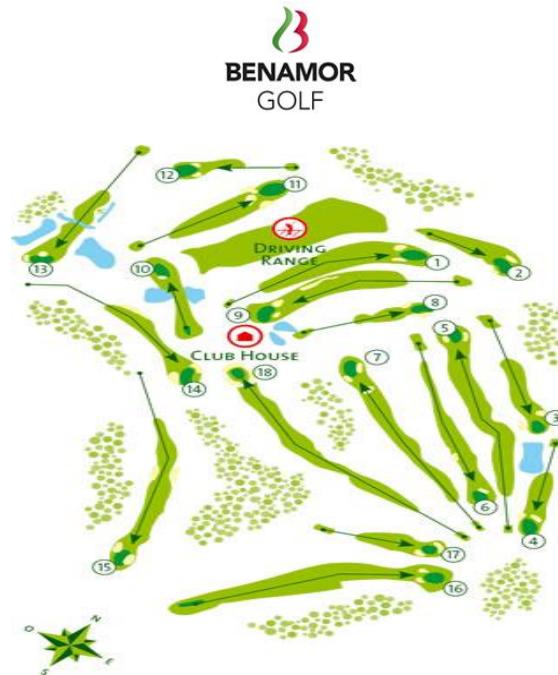


Figura 28 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Benamor Group

Nos campos de golfe da Quinta da Ria (Figura 29) e Quinta de Cima (Figura 30) a escolha dos *greens* em ambos os campos foi feita de forma aleatória.



Figura 29 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Quinta da Ria Group

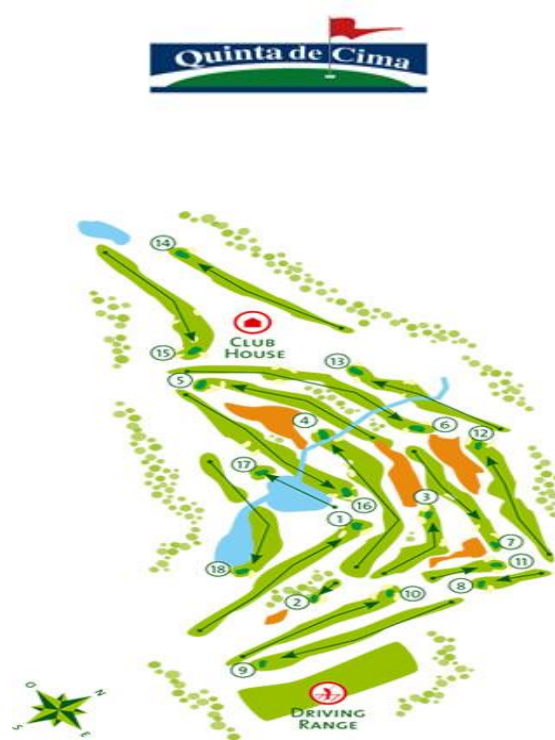


Figura 30 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte:Quinta da Ria/Quinta de Cima Group

Nos campos de golfe do Oceânico Faldo (Figura 31) e Oceânico O'Connor (Figura 32) a escolha dos *greens* foi feita com base nos *greens* mais afectados por doenças e os que estão mais expostos a diferentes stress ambientais. Os *greens* do campo Faldo: 4, 6, 9, 10 e 12 foram os mais afectados por *Ascochyta* e “dollar spot” durante os anos de 2009 e 2010. Os *greens* do campo O'Connor: 3, 6, 13, 15 e 18 foram os mais afectados por *Ascochyta*, *Curvularia*, *Leptosphaerulina* e “dollar spot”.



Figura 31 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Oceânico Group



Figura 32 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Oceânico Group

A escolha dos greens no campo de golfe do Oceânico Victoria (Figura 33) foi feita de forma aleatória.

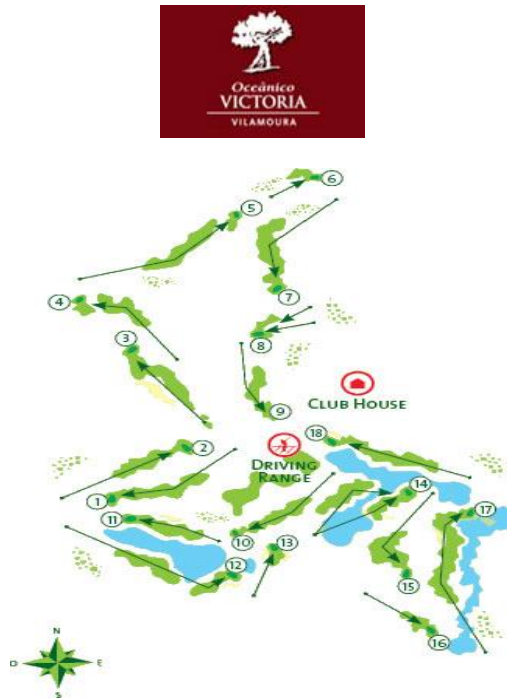


Figura 33 - Localização dos greens, esquema do layout do campo Fonte: Oceânico Group

No Oceânico Old Course (Figura 34) a escolha teve por base os greens mais afectados por *Pythium sp.*.



Figura 34 - Localização dos greens, esquema do layout do campo Fonte: Oceânico Group

A escolha dos *greens* no Oceânico Millennium (Figura 35) foi feita de forma aleatória, apesar de em 2008 e 2009 apresentarem sintomas de nemátodes, não foram identificados quais os mais afectados.

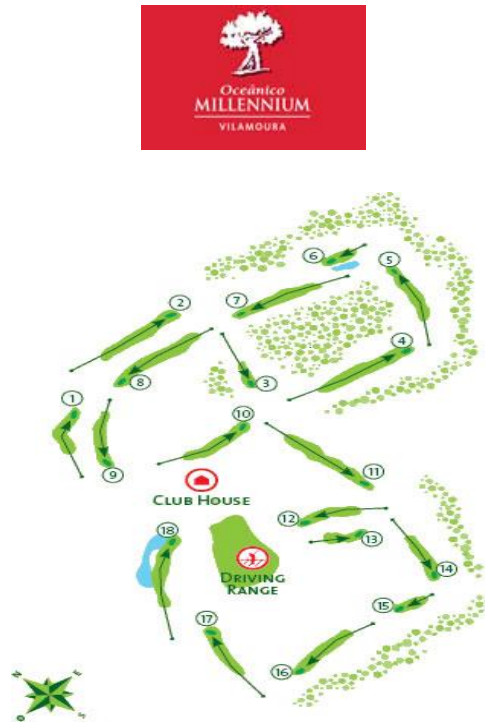


Figura 35 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Oceânico Group

No Oceânico Pinhal (Figura 36) a escolha foi feita com base nos greens mais afectados por nemátodes durante o ano de 2009. Todos os *greens*: 3, 7, 11, 16 e 18 apresentavam sistema radicular pouco desenvolvido.



Figura 36 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Oceânico Group

A escolha dos *greens* campo Oceânico Laguna (Figura 37) foi feita de forma aleatória, apesar de em 2008 e 2009 apresentarem sintomas de nemátodes, não foram identificados quais os “greens” mais afectados.



Figura 37 – Localização dos *greens*, esquema do *layout* do campo Fonte: Oceânico Group

2.3. Data das amostragens

A Tabela 10 apresenta as datas das diversas amostragens efectuadas.

Foram feitas três amostragens nos campos do grupo Oceânico. Essas amostragens foram feitas em épocas diferentes correspondentes às seguintes estações do ano: Verão, Outono e Primavera (Yeates e Bongers, 1999; Celetti, 2006; Abawi e Gugino, 2007; Cole e Coyne, 2007). As amostragens nos restantes campos foram feitas no Inverno e Primavera; estações onde apareceram pela primeira vez sintomas de nemátodes.

As épocas para amostragem tiveram sempre em conta: a altura de maior crescimento das variedades de relva; e haver humidade do solo mas esta nunca exceder a capacidade de campo (Shurtleff e Averre, 2000).

Tabela 10 – Datas de recolha de amostras por campo de golfe.

Nomes dos campos de golfe	Julho 2010	Setembro 2010	Março 2011	Abril 2011	Mai 2011
Victoria	*	*		*	
Pinhal	*	*		*	
Old Course	*	*		*	
O'Connor	*	*		*	
Millennium	*	*		*	
Laguna	*	*		*	
Faldo	*	*		*	
Morgado			*		*
Alamos			*		*
Alto Golf			*		*
Benamor			*		*
Quinta da Ria			*		*
Quinta de cima			*		*
Ocean Course			*		*
Royal Course			*		*

2.4.Procedimento de colheita – material, padrão de amostragem, número de subamostras por amostra e conservação até ao seu processamento.

As amostras foram recolhidas de forma a serem a mais homogéneas e representativas possível, e devidamente acondicionada para a conservação das suas características desde o momento da sua recolha até à sua análise.

A recolha foi feita *in situ* utilizando uma sonda (Figura 38) de com diâmetro 2 cm de diâmetro e de comprimento 25 cm de comprimento (Barker, 1985; Southey, 1986; Celetti, 2006; Cole e Coyne, 2007).



Figura 38 – Sonda utilizada para amostragens

Para representação de cada amostra (*green*) foram recolhidos 20 *cores*, a uma profundidade de 15 a 20 cm de profundidade e colocados em sacos de plástico devidamente esterilizados e identificados (Anónimo, 1996; Celetti, 2006; Abawi e Gugino, 2007; Crow, 2007; Troxler, 2008). Este tipo de combinação de subamostras (500 a 100 cm³) ajudou à sua preservação ao manter a temperatura e humidade das amostras (Cole e Coyne, 2007).

O padrão de amostragem foi variável, consoante as condições em que os *greens* estavam. Nos *greens* sem sintomas de nemátodes o padrão foi em *zig-zag* (Figura 39) tendo estado as sub-amostras distanciadas entre si o suficiente para cobrir a área toda. Nos *greens* com sintomas foi o padrão aleatório (Figura 40) à volta da área afectada. (Cole e Coyne, 2007; Crow 2007)

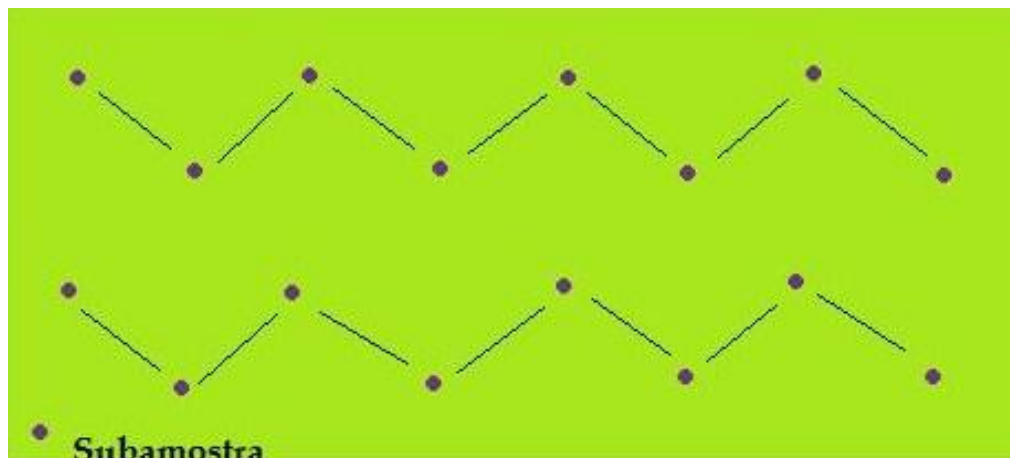


Figura 39 - Padrão em Zig-Zag

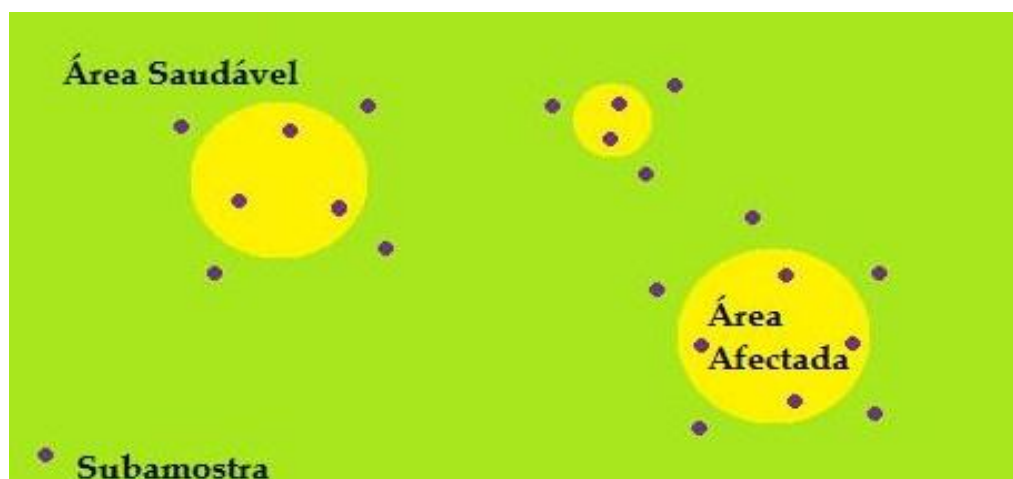


Figura 40 - Padrão aleatório

O transporte das amostras para o laboratório foi feito em geleiras portáteis para que as amostras fossem mantidas à temperatura a que foram colhidas, sendo depois guardadas no frigorífico à temperatura de 7° (Barker, 1985; Southey, 1986).

Os métodos de extracção foram executados entre as 24h a 96h seguintes para se evitarem danos nos nemátodes (Anónimo, 1996).

3. Método de extracção

3.1. Enquadramento teórico

Um método de extracção ideal deverá ser capaz de extrair a cem por cento, todos os estádios de todas as espécies de nemátodes, a diferentes temperaturas e tipos de solo, e com baixos custos (McSorley, 1987).

A verdade é que nenhum dos métodos existentes agrupa esses pressupostos pelo que se torna necessário fazer uma selecção do método mais eficaz para cada propósito. O problema ao seleccionar um método é que é difícil comparar com outros métodos diferentes porque não só a variabilidade de espécies é muita como a exacta implementação de um método varia quer a nível local, quer a nível internacional (Bezooijen, 2006).

Ao realizar-se a extracção, quer do solo quer de tecidos vegetais, há que ter em conta alguns pressupostos:

- MOBILIDADE dos nemátodes - Certos métodos como o funil de Baermann apenas funcionam eficazmente para nemátodes com um certo grau de mobilidade.

- VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO dos nemátodes em comparação com as partículas do solo.

- TAMANHO do nemátode – que serve de base para o princípio da crivagem onde o diâmetro da malha do crivo retém determinado tamanho de nemátode (Mota, 1989).

Foram utilizados e estudados três métodos de extracção: Flutuação centrífuga (FC), Funil de Baermann (FB) com material crivado e FB com raízes maceradas. O objectivo de utilizar três métodos diferentes de extracção consistiu em determinar qual o método de extracção mais eficaz, como também aumentar o espectro de géneros encontrados nas amostras: FB com raízes maceradas - géneros de nemátodes endoparasitas (género *Paratylenchus*); FB com material crivado – géneros *Xiphinema* e *Longidorus*; e FC – todos os restantes géneros (Mota, 1989).

3.2. Flutuação Centrífuga (FC)

Este método consiste em misturar bem a amostra de solo de modo a ficar homogénea (solo, raízes e folhas). Em seguida pesam-se 100 gramas de solo por cada amostra (Figura 41).

Está provado que extrair nemátodes de pequenos volumes é muitas vezes mais eficiente (Rodríguez-Kábana e King, 1975; McSorley, 1987), daí que alguns manuais de laboratório utilizam apenas 100 cm³, aproximadamente 100 gramas de amostra (Barker, 1985).



Figura 41 – Pesagem. **A**- Calibração da balança; **B** – Amostras pesadas

A esses 100 gramas foi acrescentada água até a um volume aproximado de 500 ml, agitou-se durante 25 segundos, e esperou-se que houvesse sedimentação (Figura 42 B).

Decantou-se o sobrenadante da suspensão sobre dois crivos colocados um sobre o outro, o primeiro de 40 mesh e o segundo de 325 mesh (Figura 42 A).

Os crivos vulgarmente são designados pelo número de malhas por polegada “mesh” que equivalem a um certo diâmetro: 40 mesh corresponde a 230 µm; e 325 mesh corresponde a 45 µm.

Teve-se o cuidado de aplicar um jacto de água sobre o crivo de 40 mesh de modo aos nemátodes passarem.



Figura 42 – Crivagem. **A** – Crivos utilizados; **B** – Agitação da amostra em água

O conteúdo retido no crivo de 325 mesh foi colocado em tubos de centrífuga de aproximadamente 50 ml e centrifugou-se a 1750 rpm durante 4 minutos (Figura 43). Seguidamente foi retirada a água e colocada solução de sacarose $d=1.13$ ou 38%(p/p) juntamente com o sedimento. E voltou-se novamente a centrifugar a 1750 rpm mas apenas durante 60 segundos.



Figura 43 – Centrifugação. **A** – Primeira fase da centrifugação; **B** – Centrifugação com sacarose

A suspensão de nemátodes em solução de sacarose $d=1,13$ ou 38% (p/p) foi decantada sobre o crivo de 325 mesh e lavada abundantemente sobre um jacto de água a fim de retirar a sacarose. Por fim o material retido no crivo foi colocado num frasco de tampa furada.

A solução de sacarose $d=1,13$ ou 38,5% (p/p) foi preparada previamente. Num frasco de Erlenmeyer foi adicionado 454g de sacarose a 1 litro de água. Foi utilizado aquecimento e agitação magnética para facilitar a dissolução da sacarose

Nota: O material (raízes e folhas) retido no crivo de 40 mesh foi colocado num frasco á parte.

3.3. Funil de Baermann (FB)

A fase de pesagem e crivagem foi igual em tudo ao procedimento anterior excepto a malha dos crivos utilizada. Durante a fase de crivagem foram utilizados os crivos de 40 mesh e 140 mesh.

O crivo de 140 mesh corresponde a uma malha com diâmetro de 106 μm .

O material resultante da crivagem foi colocado sobre um Kleenex de folha dupla, sobre um funil de Baermann com água (Figura 44). O funil de Baermann consiste num funil de vidro de diâmetro igual a 10 cm onde na extremidade está adaptado um tubo de borracha de 10 a 15 cm de comprimento selado na ponta por uma pinça de Mohr. Na abertura do funil está uma rede de malha larga para suportar a amostra envolvida num Kleenex.

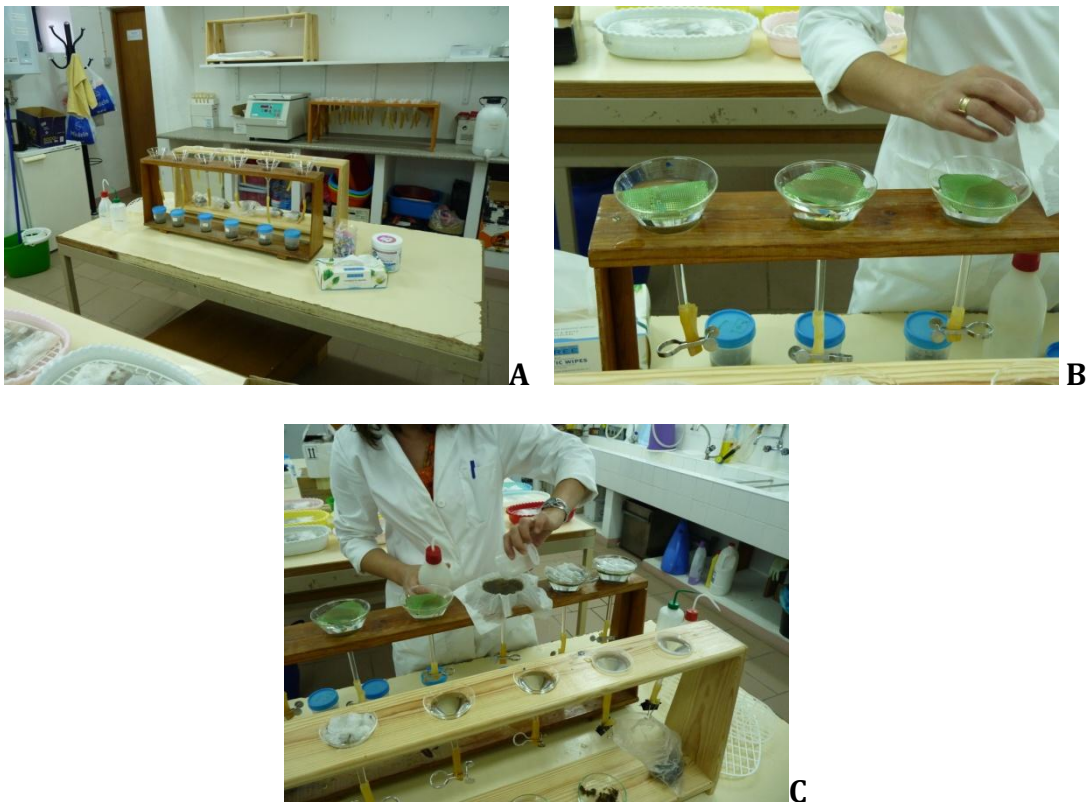


Figura 44 – Série de Funil de Baermann. **A** – Funil com tubo de borracha; **B** – rede de malha na abertura do funil; **C** – Material colocado sobre um Kleenex

A recolha do material sedimentado na extremidade do tubo foi feita após 48 horas. Durante esse período e sempre que necessário foi acrescentada água de modo a evitar que a amostra secasse.

Nota: O material (raízes e folhas) retido no crivo de 40 mesh foi colocado num frasco à parte.

3.4. Raízes maceradas

Para a execução deste método foi utilizado o material (raízes e folhas) retido no crivo de 40 mesh de ambas as técnicas descritas anteriormente.

Esse material foi macerado com o uso de uma tesoura e colocado sobre um Kleenex num funil de Baermann. O kleenex utilizado era de folha simples (Figura 45). A recolha do material sedimentado na extremidade do tubo foi feita após 48 horas.

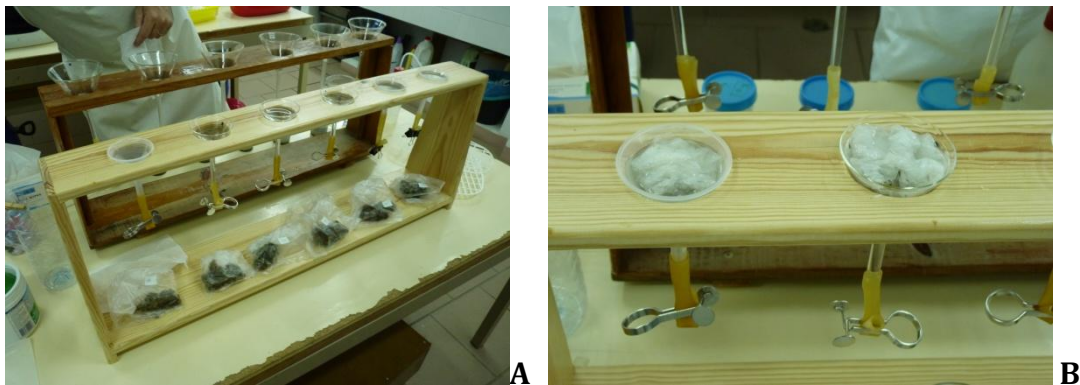


Figura 45 – Série de Funil de Baermann. **A** – Funil com tubo de borracha e material macerado; **B** – Material colocado dentro de um Kleenex

4. Identificação dos nemátodes fitoparasitas

Após o processamento das amostras, estas foram observadas dentro de placas de Petri quadriculadas (36 quadrados de 1 cm de lado cada) ou godés Siracusa (Figura 46), à lupa binocular e posteriormente, e caso fosse necessário esclarecer algum pormenor, ao microscópio composto.

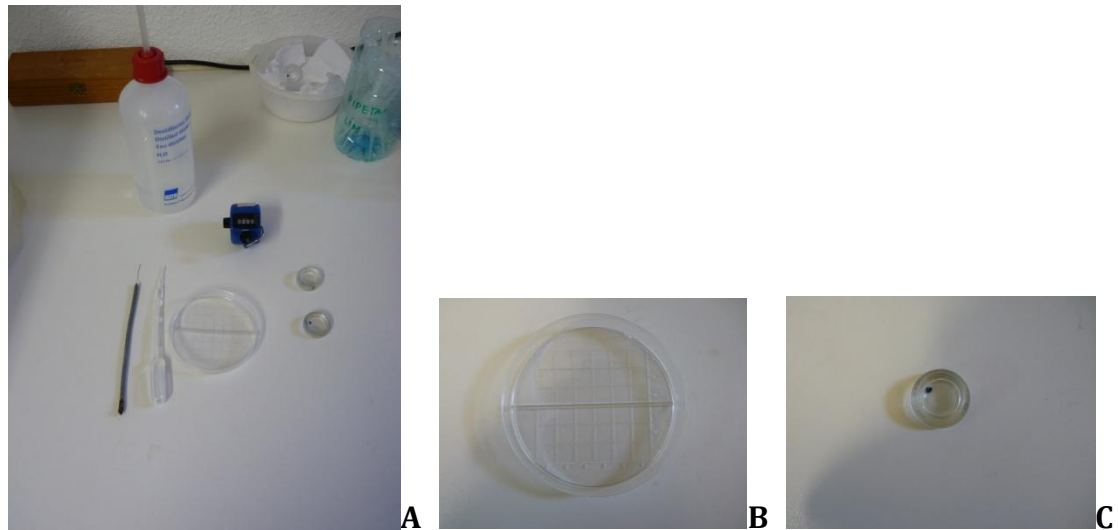





Figura 46 – Material após extração. **A** - Material de contagem e identificação; **B** - Placa de Petri quadriculada (36 quadrados de 1 cm de lado cada); **C** - Godé Siracusa

Para identificação foram utilizados os seguintes manuais:

- “Identification Guides for the Most Common Genera of Plant-Parasitic Nematodes”, (Eisenback, 2002)
- “Plant-Parasitic Nematodes: A pictorial Key to Genera” (Mai e Mullin, 1996)
- “Ilustrated Key for the identification of common nematodes in Florida” (Smart e Nguyen, 1988)

Durante a fase de identificação teve-se em conta as características chave de identificação de cada género. Estas encontram-se ilustradas na tabela seguinte (Tabela 11).

Tabela 11 - Características chave para identificação dos géneros de nemátodes fitoparasitas encontrados durante a fase de identificação Adaptado de: Smart e Nguyen, 1988; Mai e Mullin, 1996; Eisenback, 2002

Nome dos géneros de nemátodes fitoparasitas encontrados durante a fase de identificação	Características chave para identificação dos géneros de nemátodes fitoparasitas	Imagens
<i>Criconemoides</i>	1º- Corpo curto e robusto, 2º- Movimento muito lento, 3º- Anelações profundas, excepto nas extremidades que são suaves, 4º - Estilete longo e robusto, 5º- Bolbos basais do estilete em forma de âncora, 6º - Procorpo e metacorpo fundidos, 7º - Vulva perto da ponta da parte anterior, 8º- Fêmeas com um ovário, 9º- Os machos são muito raros.	
<i>Helicotylenchus</i>	1º-Corpo moderadamente longo e cilíndrico, 2º- Corpo em forma de espiral quando relaxado ou frio, 3º-Região anterior cónica, com enquadramento fraco, 4º- Estilete robusto e curto a moderadamente longo, 5º- Vulva na parte mediana do corpo, 6º- Dois ovários, 7º- Parte posterior com uma ligeira projecção, 8º- Os machos são raros.	
<i>Hemicriconemoides</i>	1º-Fêmeas com duas cutículas destacadas, 2º- Corpo a curta distância de ambas as extremidades do corpo, 3º-Vulva posterior, 4º- Fêmeas com parte posterior cónica, 5º- Fêmeas com a zona labial altamente esclerosada, 6º- Fêmeas com forte estilete; os machos não possuem estilete, 7º- Machos com esófago delgado 8º-Machos com gubernáculo curto e plano e espiculas delgadas e ligeiramente curvas.	

(Continuação da Tabela 11)

Hemicycliophora

- 1º- Corpo robusto moderadamente longo,
- 2º- Fortes anelações,
- 3º- Corpo envolvido numa bainha, com as extremidades afastadas ou não dessa bainha,
- 4º-Procorpo fundido com o metacorpo,
- 5º- Fêmeas com parte posterior pontiaguda,
- 6º- Estilete longo, forte e ligeiramente curvado,
- 7º- Machos possuem uma pequena bursa



Fonte: Nicholas Sekora

Meloidogyne

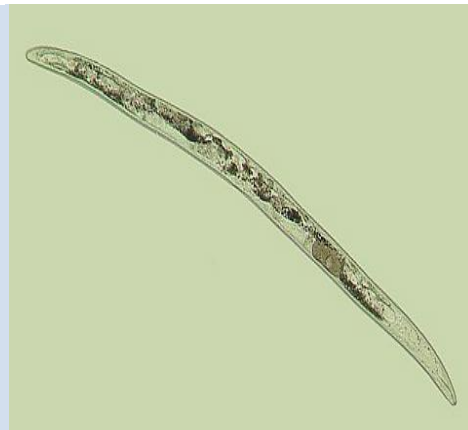
- Nota: Neste trabalho e para este género apenas foram contabilizados os J2.
- 1º- Corpo do J2 pequeno e delgado,
 - 2º- Zona cefálica ligeiramente esclerosada,
 - 3º- Estilete curto e fraco sem bolbos basais distintos,
 - 4º- O esófago sobrepõe o intestino ventralmente,
 - 5º- Extremidade posterior pontiaguda com uma terminação clara,
 - 6º- Movimento lento



Fonte: Nicholas Sekora

Paratrichodorus

- 1º- Corpo médio a delgado em forma de cigarro,
- 2º- Estilete bastante curvo dorsalmente,
- 3º- Bolbos basais do estilete ausentes,
- 4º- O esófago não sobrepõe o intestino,
- 5º- Vulva na zona mediana do corpo
- 6º- Extremidades arredondadas,
- 7º- Zona posterior curta,
- 8º- Cutícula espessa, muitas vezes dupla,
- 9º- Os machos são raros.



Fonte: Crow, 2005c

(Continuação da Tabela 11)

Pratylenchus

- 1º- Corpo estreito e fino,
- 2º-Extremidade da zona anterior achatada,
- 3º-Estilete curto e forte com grandes bolbos basais,
- 4º- Metacorpo proeminente,
- 5º-Esófago sobrepõe o intestino ventralmente,
- 6º-Vulva perto da zona posterior,
- 7º- Um ovário
- 8º- Os machos podem ser comuns.



Fonte: Tesfamariam Mengistun

Tylenchorhynchus

- 1º- Corpo moderadamente comprido e estreito,
- 2º- Estilete robusto e curto,
- 3º-Esófago não sobrepõe o intestino,
- 4º-Região labial fracamente desenvolvida,
- 5º-Vulva na região mediana do corpo,
- 6º-Dois ovários,
- 7º-Parte posterior cónica,
- 8º- Machos são comuns,
- 9º-Parte posterior da cauda dos machos afilada com uma pequena bursa.



Tylenchulus

- 1º-Fêmeas de forma arredondada,
- 2º- Machos de forma vermiforme,
- 3º- Fêmeas com um ovário,
- 4º-Machos com esófago reduzido e bursa ausente,
- 5º- Espiculas e gubernáculo presente nos machos,
- 6º- Cauda dos machos afilada,
- 7º-Fêmeas com uma cutícula com quatro anelações,
- 8º-Fêmeas com estilete robusto, com bolbos basais bem desenvolvidos,
- 9º-Fêmeas com procorpo cilíndrico.



Fonte: Nicholas Sekora

(Continuação da Tabela 11)

Xiphinema

1º-Corpo longo e fino,
2º-Estilete longo e delgado,
3º-Estilete estilete com uma
extensão que possui três flanges,
4º-Anel guia na parte posterior,
5º-Procorpo estreito,
6º-Esófago não sobrepõe o
intestino,
7º-Vulva na região mediana do
corpo,
8º-Dois ovários,
9º-Parte posterior cônica.



5. Análise estatística

De acordo com os objectivos do trabalho, foi analisado primeiramente qual dos métodos (método das raízes maceradas, método do funil de Baermann ou método da flutuação centrífuga) foi mais eficaz. O conceito de eficácia neste trabalho está relacionado com número de nemátodes encontrados por 100 gramas de solo.

Após determinação do método mais eficiente, e para esse método, foi identificado para cada campo de golfe os diferentes géneros de nemátodes encontrados, e no fim foram comparados os géneros identificados entre os campos. As análises foram sempre feitas de forma separada: campos do grupo Oceânico e restantes campos.

Todos os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), sendo as diferenças consideradas significativas sempre que $p < 0,05$.

A ANOVA foi precedida de uma verificação da vigência das principais premissas de aplicabilidade do método (Zar, 1999), nomeadamente no que diz respeito à normalidade de distribuição e de homogeneidade das variâncias das populações. Quando foram observadas violações dessas premissas, foi feita a transformação dos dados originais para uma escala adequada e susceptível de repor as condições de aplicabilidade referidas.

A transformação utilizada foi $(X + 0,5)^{1/2}$. Esta transformação é muitas vezes utilizada para valores pequenos com muitos zeros incluídos (Gomez e Gomez, 1984).

Para efeitos de apresentação dos resultados, as médias das variáveis transformadas foram apresentadas na forma original.

A análise comparativa das médias das modalidades foi efectuada através do *New Multiple Range Test* (Duncan, 1955).

O tratamento estatístico descrito foi feito utilizando o programa de análise estatística SPSS 18.0 (SPSS Inc., 1989,...2009, Chicago, Illinois, U S A).

IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os géneros encontrados durante a fase de amostragem, extracção e identificação desta tese foram: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Tylenchorhynchus*, *Xiphinema*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus*, *Paratrichodorus*, *Hemicycliophora*, *Hemicriconemoides* e *Criconemoides*.

Nos campos de golfe Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor, foram encontrados os seguintes géneros: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Tylenchorhynchus*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus*, *Paratrichodorus*, *Hemicycliophora*, *Hemicriconemoides* e *Criconemoides*.

Nos Campos de golfe do grupo Oceânico, foram encontrados os seguintes géneros: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Tylenchorhynchus*, *Hemicycliophora* e *Xiphinema*.

1. Avaliação dos métodos de extracção utilizados no processo de amostragem

1.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor

1.1.1. Resultados

Para todas as amostragens e géneros (excepto em duas amostragens e dois géneros) verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente mais eficaz ($p < 0,001$) do que os outros métodos avaliados (método da raiz macerada e método do funil de Baermann) (Figuras 47 até 55).

Entre os métodos de extracção da raiz macerada e o método do funil de Baermann não foram observadas diferenças significativas (Figuras 47 até 55).

As excepções encontradas foram:

- Amostragem de Março 2011, género *Pratylenchus*. Verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga permitiu identificar um significativamente maior número de indivíduos daquele género do que o método do funil de Baermann; contudo, não foi, significativamente diferente, comparativamente com o método da raiz macerada (Figura 52 - A).

- Amostragem de Maio 2011, género *Hemicriconemoides*. Não foram verificadas quaisquer diferenças significativas entre os 3 métodos de extracção ($p = 0,111$) (Figura 53 - B).

A Figura 47 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo, do género *Helicotylenchus* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 47 - A) e Maio de 2011 (Figura 47 - B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Helicotylenchus* por 100 gramas de solo: 80,72 em Março de 2011 e 69,75 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Helicotylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção funil de Baermann foram: 20,72 em Março de 2011; e 18,3 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Helicotylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 2,1 em Março de 2011; e 1,8 em Maio de 2011.

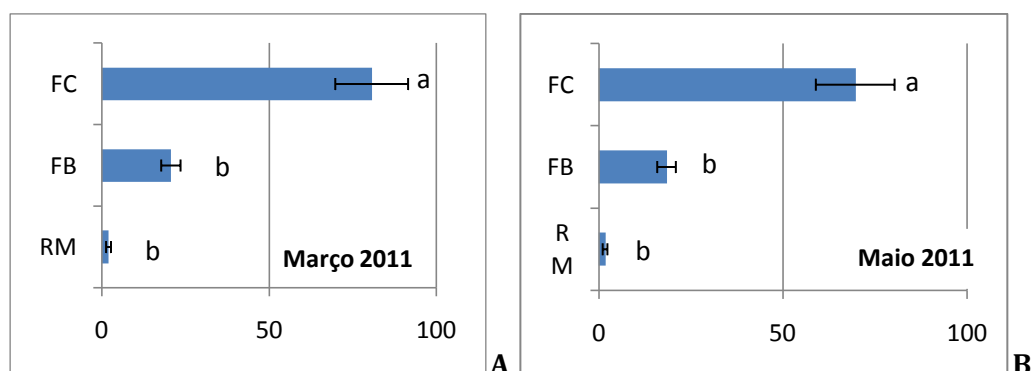


Figura 47 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* em todos os campos de golfe. **A** – Março de 2011. **B** – Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 48 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* em todos os campos de golfe e em duas

épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 48 – A) e Maio de 2011 (Figura 48 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo: 9,58 em Março de 2011; e 16,35 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo para o método de extracção funil de Baermann foram: 1,48 em Março de 2011; e 4,20 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,08 em Março de 2011; e 0,60 em Maio de 2011.

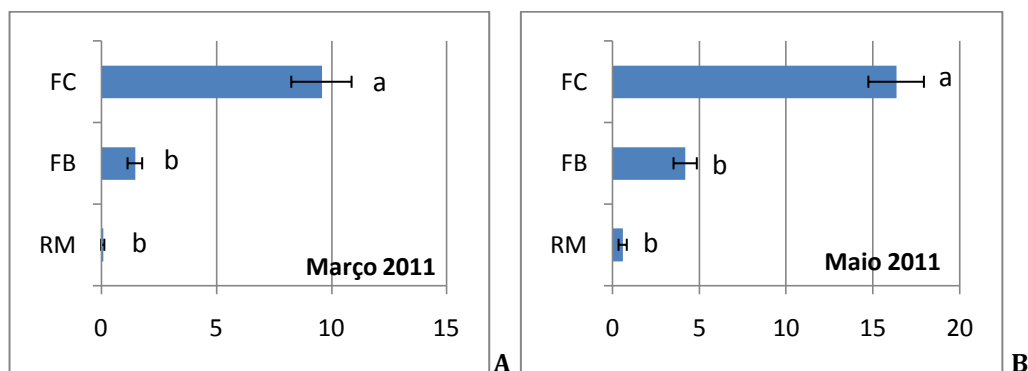


Figura 48 - Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 49 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 49 – A) e Maio de 2011 (Figura 49 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Tylenchorynchus* e por 100 gramas de solo: 9,20 em Março de 2011; e 8,5 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Tylenchorynchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 2,15 em Março de 2011; e 0,70 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Tylenchorynchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,28 em Março de 2011; e 0,05 em Maio de 2011.

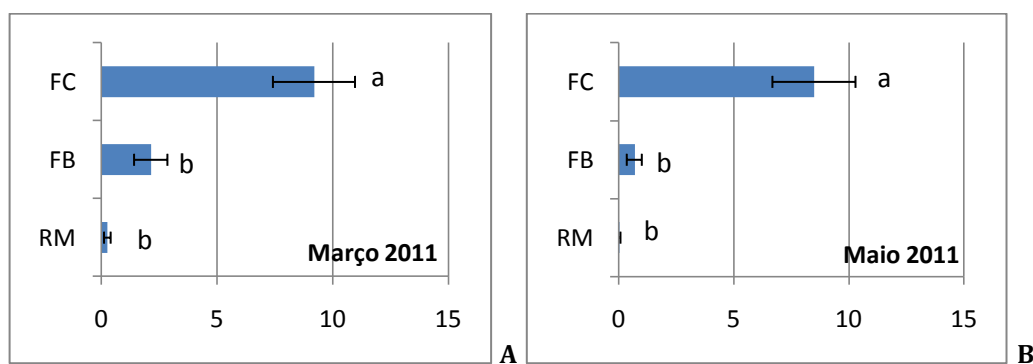


Figura 49 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 50 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 50 – A) e Maio de 2011 (Figura 50 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Hemicycliophora* e por 100 gramas de solo: 5,58 em Março de 2011; e 2,85 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Hemicycliophora* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 1,35 em Março de 2011; e 0,08 em Maio de 2011. Não foram observados indivíduos do género *Hemicycliophora* por 100 gramas de solo pelo método de extracção pela raiz macerada em ambas as amostragens.

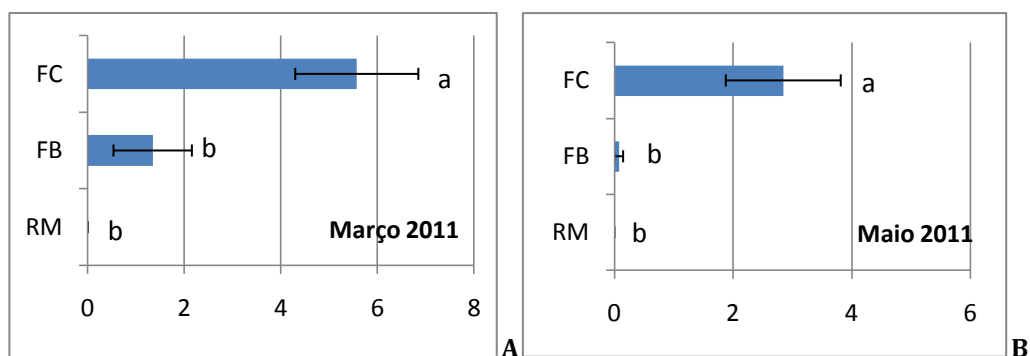


Figura 50 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* em todos os campos de golfe; **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 51 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Criconemoides* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 51 – A) e Maio de 2011 (Figura 51 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Criconemoides* e por 100 gramas de solo: 4,1 em Março de 2011; e 3,93 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Criconemoides* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0,50 em Março de 2011; e 0,80 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Criconemoides* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,08 em Março de 2011; e em Maio de 2011 não foram observados quaisquer indivíduos.

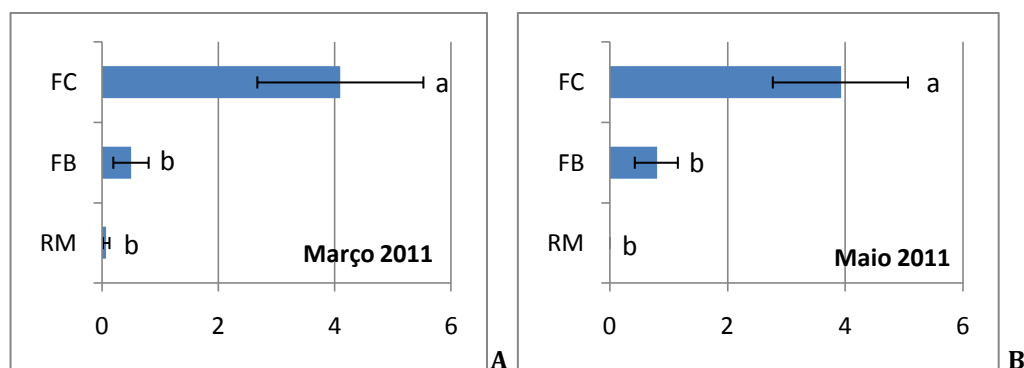


Figura 51 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Criconemoides* em todos os campos de golfe; **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 52 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Pratylenchus* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 52 – A) e Maio de 2011 (Figura 52 – B).

Para a amostragem de Março 2011 do género *Pratylenchus*, verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga permitiu identificar um significativamente maior número de indivíduos daquele género do que o método do funil de Baermann; contudo, não foi, significativamente diferente, comparativamente com o método da raiz macerada (Figura 52 - A).

Para a amostragem de Maio 2011, foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas (Figura 52 - B).

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Pratylenchus* e por 100 gramas de solo: 0,60 em Março de 2011; e 7,30 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Pratylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0,03 em Março de 2011; e 0,83 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Pratylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,13 em Março de 2011; e 0,60 em Maio de 2011 .

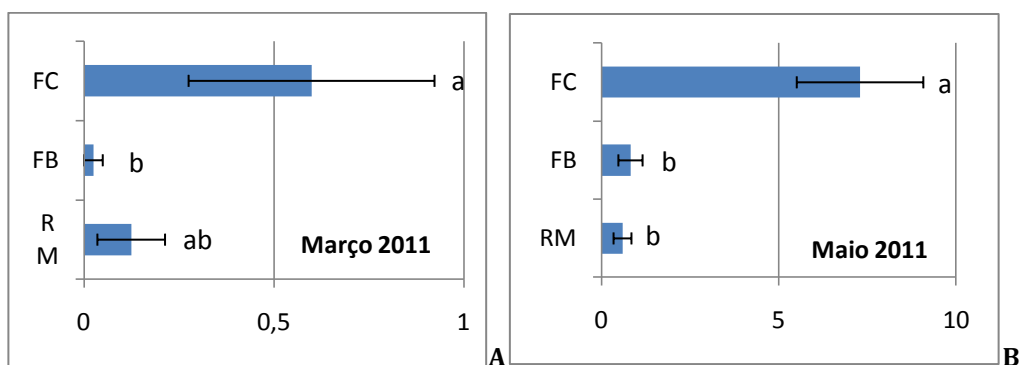


Figura 52 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Pratylenchus* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 53 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Hemicriconemoides* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 53 – A) e Maio de 2011 (Figura 53 – B).

Para a época de amostragem – Março 2011, foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas (Figura 53 - A).

Para a época de amostragem - Maio 2011, para o género *Hemicriconemoides*, não foram verificadas quaisquer diferenças significativas entre os 3 métodos de extracção ($p = 0,111$) (Figura 53 - B).

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Hemicriconemoides* e por 100 gramas de solo: 0,83 em Março de 2011; e 0,25 em Maio de 2011. Não foram observados indivíduos do género *Hemicriconemoides* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann e para o método de extracção pela raiz macerada.

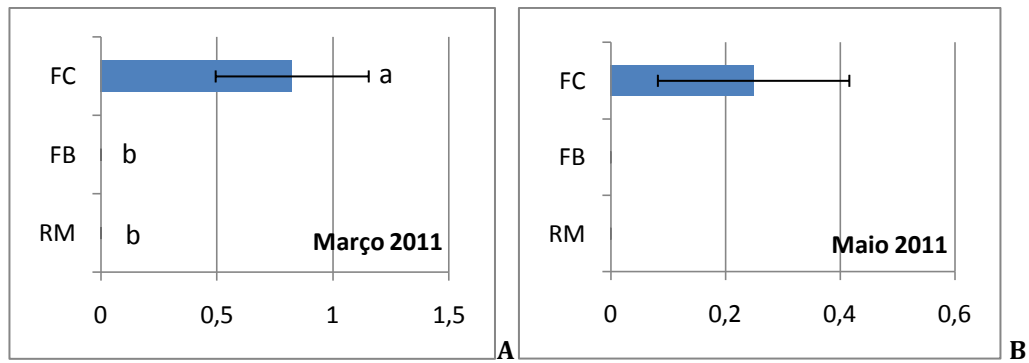


Figura 53 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Hemicriconemoides* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan). **B** - Maio de 2011, P=0.111; (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 54 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Tylenchulus* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 54 – A) e Maio de 2011 (Figura 54 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Tylenchulus* e por 100 gramas de solo: 2,48 em Março de 2011; e 3,75 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Tylenchulus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0,78 em Março de 2011; e 0 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Tylenchulus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,3 em Março de 2011; e 0 em Maio de 2011.

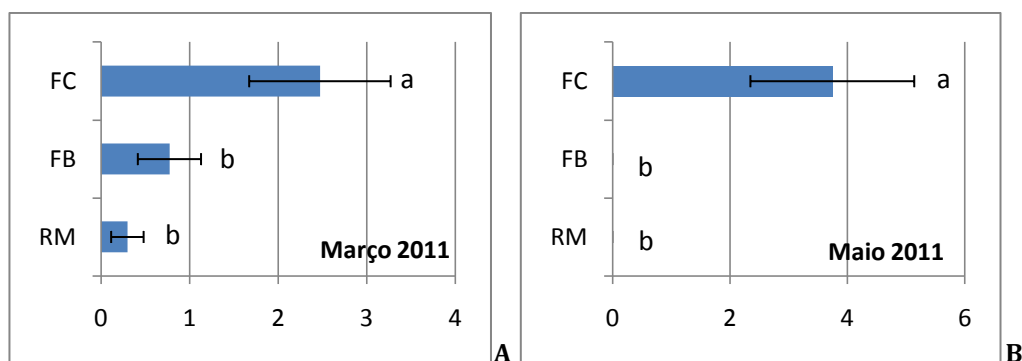


Figura 54 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Tylenchulus* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. **B** - Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 55 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Paratrichodorus* em todos os campos de golfe e em duas épocas de amostragem diferentes: Março (Figura 55 – A) e Maio de 2011 (Figura 55 – B).

Para as duas épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Paratrichodorus* e por 100 gramas de solo: 0,78 em Março de 2011; e 3,3 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Paratrichodorus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0 em Março de 2011; e 0,08 em Maio de 2011. Os valores médios do género *Paratrichodorus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0 em Março de 2011; e 0,23 em Maio de 2011.

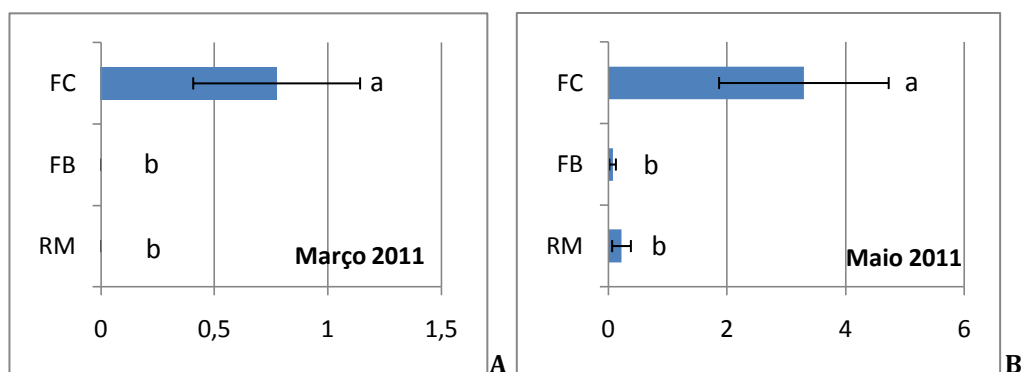


Figura 55 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Paratrichodorus* em todos os campos de golfe. **A** - Março de 2011. **B** – Maio de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

1.1.2. Discussão

A capacidade para fazer um diagnóstico quantitativo de nemátodes depende sempre da interpretação dos parâmetros de campo e das limitações das metodologias (Viglierchio e Schmitt, 1983).

Embora existam muitos métodos de extracção de nemátodes do solo (Barker e Nusbaum, 1971; Ayoub, 1980; Southey, 1986; Hooper, 1990; Hooper e Evans, 1993), a maioria poderá ser dividida em métodos activos (que dependem do movimento) e métodos passivos (McSorley, 1987; McSorley e Walter, 1991). A maioria dos métodos activos tem por base o Funil de Baermann (os nemátodes contidos na amostra de solo, movem-se ao longo do funil até á zona de recolha) (Ayoub, 1980). Os métodos passivos incluem crivagem, centrifugação (Caveness e Jensen, 1955; Jenkins, 1964), uso de agentes floculantes (Byrd *et al.*, 1976), elutriação (Jenkins, 1964) ou uma combinação desses métodos.

Existem muitos estudos sobre comparação e eficiência de métodos de extracção de nemátodos de solo (Barker *et al.*, 1969; Barker, 1985; Southey, 1986; McSorley, 1987; Hooper, 1990; Hooper e Evans, 1993). Idealmente, para diagnósticos de rotina de elevada escala, é necessário um método que seja rápido, quantitativo, independente das espécies de nemátodes e tipo de solo, livre variabilidade e representativo do número de nemátodes no solo (Viglierchio e Schmitt, 1983).

A flutuação centrífuga é um dos métodos mais utilizados na extracção de rotina, por ser rápido, e possibilitar o processamento de várias amostras ao mesmo tempo (Mota, 1989). É também o único método independente, sendo possível a

extracção de qualquer tipo de nemátode (Southey, 1986; McSorley, 1987; Bezooijen, 2006).

O que foi observado neste trabalho para os campos: de Vale de Lobo (Ocean e Royal), do CS (Morgado do Reguengo e Álamos), da Quinta da Ria e da Quinta de Cima, do Benamor e do Alto Golfe; e para a maioria dos géneros encontrados, e que está de acordo com o que foi mencionado anteriormente, é que o método mais eficaz foi o da flutuação centrífuga. Neste método foram encontrados todos os géneros que aparecem nas figuras Figuras (47 até 55), e sempre em número significativamente maior ($p < 0,001$ e $p < 0,01$) que os restantes métodos.

Isto também poderá ser explicado pelo facto do funil de Baermann ter várias limitações, sendo as mais importantes: tempo de duração da extracção, o tipo de amostra e temperatura (Bezooijen, 2006).

O tempo de incubação leva entre 24 a 48 horas o que poderá levar á eclosão de alguns ovos e alterar a eficiência dos resultados em comparação com outros métodos (Freckman, 1982).

Quanto ao tipo de amostra, a eficiência deste método apenas aumenta quando a camada de detritos no filtro é fina, isto para extracção em solos. Para extracção em plantas, a eficiência aumenta quando esta é previamente macerada, daí ter-se utilizado o método de extracção com raízes maceradas (Bezooijen, 2006). Este método é bastante utilizado para a extracção de nemátodes endoparasitas sedentários ou endoparasitas migratórios (Cole e Coyne, 2007).

O ambiente do laboratório poderá também ter influência, bem como a temperatura da água (Barker and Nusbaum, 1971; Southey, 1986; McSorley, 1987; Robinson e Heald, 1989; McSorley e Walter, 1991). Temperaturas óptimas para a mobilidade podem diferir entre espécies (McSorley, 1987) e Barker *et al.* (1969) sugerem que as extracções são menores durante o inverno por causa das baixas temperaturas.

Uma das excepções para a flutuação centrífuga, foi na amostragem de Março, para o género *Pratylenchus*. Verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente ($p < 0,05$) diferente do método do funil de Baermann mas não foi para o método da raiz macerada (Figura 52 - A).

Uma possível explicação poderá estar relacionada com o tipo de parasitismo e ciclo de vida do género *Pratylenchus*. Como foi mencionado no capítulo da introdução, trata-se de um nemátode migratório endoparasita, podendo ser possível encontrá-lo tanto dentro das raízes como no solo (Christie, 1959). Ao macerar as raízes, provavelmente muitos destes nemátodes foram libertados de dentro das células radiculares e foram facilmente extraídos por este método.

A segunda excepção foi na amostragem de Maio para o género *Hemicriconemoides*, onde não foram verificadas quaisquer diferenças significativas entre os 3 métodos de extracção (Figura 53 - B). Para este género num total de 40 amostragens (5 amostragens por campo) de 100 gramas de solo cada, apenas foi encontrado um total de 10 indivíduos (tabela 13); o que demonstra ser um número insuficiente para tirar qualquer tipo de conclusão quanto á eficiência do método de extracção.

Tabela 13 – Número total de indivíduos, do género *Hemicriconemoides* encontrados em 5 amostragens por campo

Campos	Método da Raiz Macerada	Método do funil de Baermann	Método da Flutuação Centrífuga
Royal	0	0	6
Ocean	0	0	4
Álamos	0	0	0
Morgado do Reguengo	0	0	0
Benamor	0	0	0
Quinta da Ria	0	0	0
Quinta de Cima	0	0	0
Alto Golfe	0	0	0

1.2. Campos de Golfe do Grupo Oceânico

1.2.1. Resultados

Para todas as amostragens e géneros (excepto em duas amostragens do género *Xiphinema*, e uma amostragem do género *Hemicycliophora*) verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente mais eficaz ($p < 0,01$) do que os outros métodos avaliados (método da raiz macerada e método do funil de Baermann) (Figuras 56 até 60).

As excepções encontradas foram:

- Amostragem de Junho de 2010, género *Xiphinema*. Verificou-se que o método de extracção do funil de Baermann foi o mais eficaz, sendo significativamente diferente do método da raiz macerada mas não o foi, comparativamente com o método da flutuação centrífuga (Figura 59 -A)

- Amostragem de Setembro de 2010, género *Xiphinema*. Verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente diferente do método da raiz macerada mas não o foi, comparativamente com o método do funil de Baermann (Figura 59 -B)

- Amostragem de Junho de 2010, género *Hemicycliophora*. Verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente diferente do método da raiz macerada mas não o foi, comparativamente com o método do funil de Baermann (Figura 60 -A)

Entre os métodos de extracção: raiz maceradas e funil de Baermann, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,01$) excepto para: para o género *Meloidogyne*, na amostragem de Abril de 2011 (Figura 57 - C) e o género *Xiphinema*, na amostragem de Abril de 2011 (Figura 59 - C).

A Figura 56 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico; e em três épocas diferentes de amostragem: Junho de 2010 (Figura 56 - A), Setembro de 2010 (Figura 56 - B) e Abril de 2011 (Figura 56 - C).

Para as três épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Helicotylenchus* e por 100 gramas de solo: 170,74 em Junho de 2010; 265,46 em Setembro de 2010; e 346,29 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Helicotylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 54,83 em Junho de 2010; 71,40 em Setembro de 2010; e 109,86 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Helicotylenchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,69 em Junho de 2010; 1,89 em Setembro de 2010; e 2,71 em Abril de 2011.

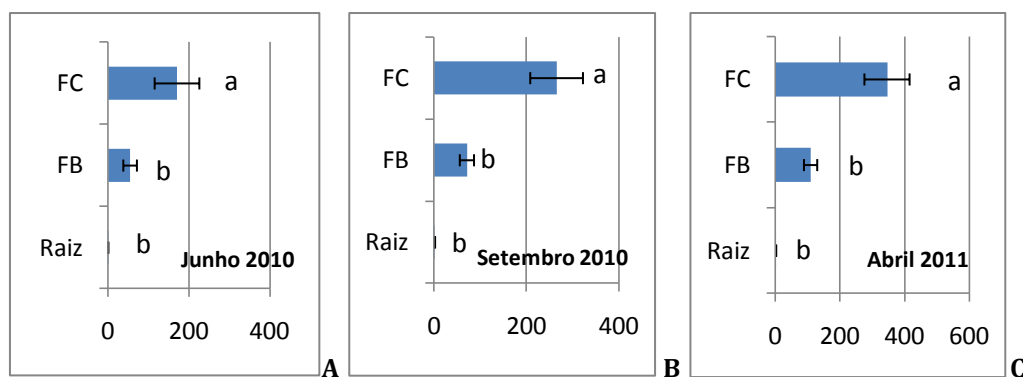


Figura 56 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico. **A** - Junho de 2010 **B** - Setembro de 2010. **C** - Abril de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM – Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 57 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico; e em três épocas diferentes de amostragem: Junho de 2010 (Figura 56 – A), Setembro de 2010 (Figura 56 – B) e Abril de 2011 (Figura 56 – C).

Para as três épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas, excepto na amostragem de Abril de 2011 (Figura 57 - C), onde foram significativamente diferentes.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo: 25,34 em Junho de 2010; 53,49 em Setembro de 2010; e 29,31 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 1,09 em Junho de 2010; 15,11 em Setembro de 2010; e 16,26 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Meloidogyne* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0 em Junho de 2010; 1,63 em Setembro de 2010; e 1 em Abril de 2011.

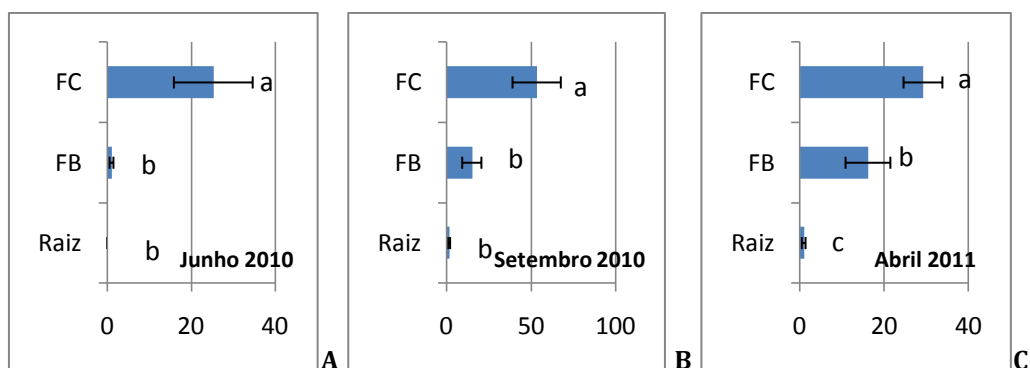


Figura 57 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico. **A** - Junho de 2010. **B** - Setembro de 2010. **C** - Abril de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM – Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 58 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico; e em três épocas diferentes de amostragem: Junho de 2010 (Figura 58 – A), Setembro de 2010 (Figura 58 – B) e Abril de 2011 (Figura 58 – C).

Para as três épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Tylenchorynchus* por 100 gramas de solo: 2,83 em Junho de 2010; 7,63 em Setembro de 2010; e 11,23 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Tylenchorynchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0,37 em Junho de 2010; 0,54 em Setembro de 2010; e 0,26 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Tylenchorynchus* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0 em Junho de 2010; 0 em Setembro de 2010; e 0,09 em Abril de 2011.

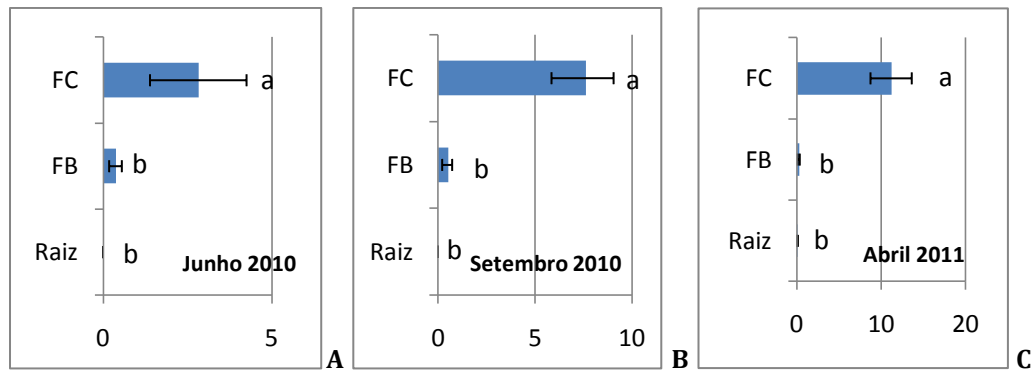


Figura 58 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico. **A** - Junho de 2010. **B** - Setembro de 2010. **C** - Abril de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM –Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 59 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Xiphinema* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico; e em três épocas diferentes de amostragem: Junho de 2010 (Figura 59 – A), Setembro de 2010 (Figura 59 – B) e Abril de 2011 (Figura 59 – C).

Na amostragem de Junho de 2010, verificou-se que o método de extracção do funil de Baermann foi o mais eficaz, sendo significativamente ($p < 0,001$) diferente do método da raiz macerada mas não do método da flutuação centrífuga (Figura 59 -A)

Na amostragem de Setembro de 2010, verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente ($p < 0,001$) diferente do método do da raiz macerada mas não o foi, comparativamente com o método do funil de Baermann (Figura 59 -B).

Na amostragem de Abril de 2011, verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi o mais eficaz em relação aos métodos de extracção: pelo funil de Baermann e pela raiz macerada, sendo significativamente diferente ($p < 0,001$). Foram ainda observadas diferenças significativas entre os dois últimos métodos (Figura 59 – C).

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Xiphinema* por 100 gramas de solo: 2,89 em Junho de 2010; 9,37 em Setembro de 2010; e 14,86 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Xiphinema* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 3,46 em Junho de 2010; 6,51 em Setembro de 2010; e 7,69 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Xiphinema* por 100 gramas

de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0,06 em Junho de 2010; 0,06 em Setembro de 2010; e 0 em Abril de 2011.

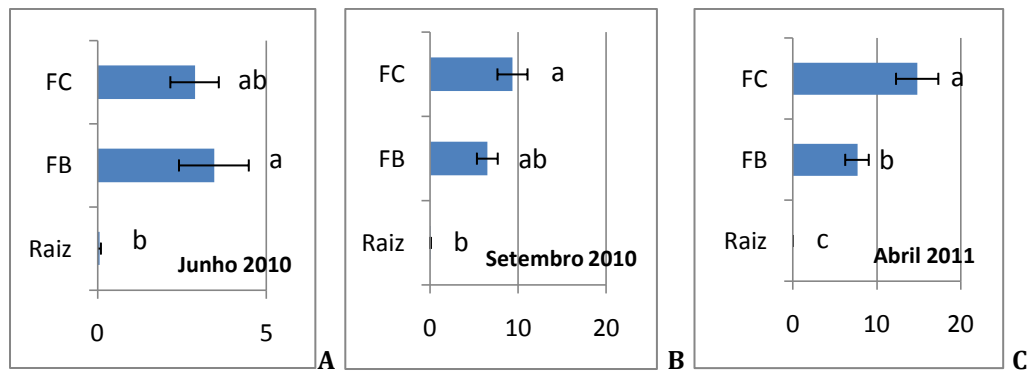


Figura 59 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Xiphinema* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico. **A** - Junho de 2010. **B** - Setembro de 2010. **C** - Abril de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM – Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

A Figura 60 corresponde aos valores médios de indivíduos encontrados, por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico; e em três épocas diferentes de amostragem: Junho de 2010 (Figura 60 – A), Setembro de 2010 (Figura 60 – B) e Abril de 2011 (Figura 60 – C).

Para as três épocas de amostragem foi observável que o método significativamente mais eficaz foi o método da flutuação centrífuga ($p < 0,001$) em relação aos restantes métodos de extracção: funil de Baermann e raiz macerada. Entre estes dois últimos métodos de extracção, não houve diferenças significativas.

Contudo houve uma excepção na amostragem de Junho de 2010. Aqui verificou-se que o método de extracção por flutuação centrífuga foi significativamente diferente do método da raiz macerada mas não o foi, comparativamente com o método do funil de Baermann (Figura 60 -A)

Para o método de extracção por flutuação centrífuga foram observados os seguintes valores médios do género *Hemicycliophora* por 100 gramas de solo: 3,54 em Junho de 2010; 7,60 em Setembro de 2010; e 9,82 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Hemicycliophora* por 100 gramas de solo para o método de extracção pelo funil de Baermann foram: 0,91 em Junho de 2010; 0,80 em Setembro de 2010; e 2,26 em Abril de 2011. Os valores médios do género *Hemicycliophora* por 100 gramas de solo para o método de extracção pela raiz macerada foram: 0 em Junho de 2010; 0 em Setembro de 2010; e 0,14 em Abril de 2011.

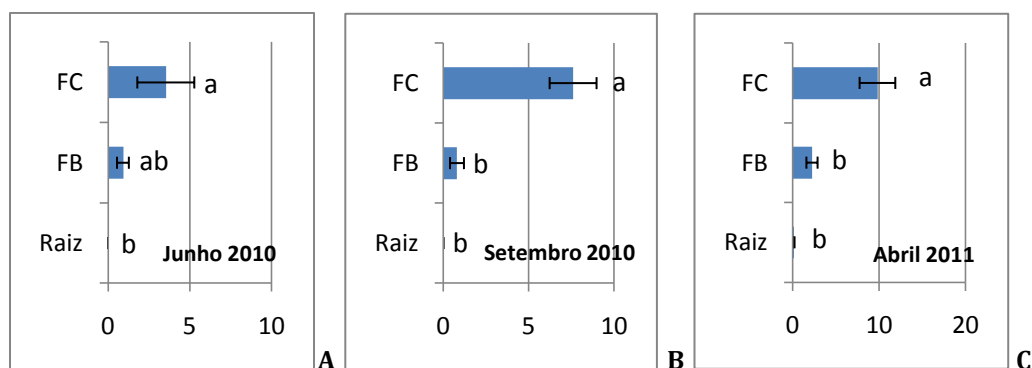


Figura 60 – Valores médios de indivíduos por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* em todos os campos de golfe do Grupo Oceânico. **A** - Junho de 2010. **B** - Setembro de 2010. **C** - Abril de 2011. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan); (RM – Método de extracção da Raiz Macerada, FB – Método de extracção do Funil de Baermann, FC – Método de extracção por Flutuação Centrífuga)

1.2.2. Discussão

Também para os campos de golfe do Grupo Oceânico ficou demonstrado que método da flutuação centrífuga foi o mais eficaz. Contudo houve excepções para o género *Xiphinema* em duas épocas de amostragem diferentes: Julho e Setembro de 2010; e para o género *Hemicycliophora*, em Julho de 2010.

O método de extracção pelo funil de Baermann funciona de forma eficaz para nemátodes com um certo grau de mobilidade, como é o caso do género *Xiphinema* (Mota, 1989). Daí que este método tenha sido mais eficaz na amostragem de Julho em relação aos outros métodos.

Na amostragem de Setembro houve uma mudança, provavelmente devido ao facto da temperatura ser mais baixa em Setembro que em Julho, diminuindo assim a eficiência do método do funil de Baermann em relação ao método da flutuação centrífuga (Barker *et al.*, 1969).

Na amostragem de Junho de 2010 para o género *Hemicycliophora* o método de extracção por flutuação centrífuga e o método do funil de Baermann apresentaram resultados elevados em relação ao método da raiz macerada que não apresentou quaisquer resultados, daí a relação entre os dois primeiros métodos. O facto de não haver este género no método da raiz macerada poderá estar relacionado com o facto de ser um nemátode ectoparasita; como foi mencionado anteriormente, este método está determinado para extrair nemátodes endoparasitas.

Entre os métodos de extracção: raiz maceradas e funil de Baermann, não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,01$) excepto para: para o género

Meloidogyne, na amostragem de Abril (Figura 57 - C) e o género *Xiphinema*, na amostragem de Abril (Figura 59 - C). Apesar de ambos os métodos terem o mesmo princípio – mobilidade e no geral não haver diferenças significativas entre ambos; um dos métodos está mais vocacionado para a captura de nemátodes endoparasitas de elevada mobilidade – *Meloidogyne* J2 (método da raiz macerada) e o outro para ectoparasitas de elevada mobilidade – *Xiphinema* (método do funil de Baermann); e daí que possam surgir algumas diferenças entre os métodos.

2. Géneros de nemátodes fitoparasitas por campo de golfe e por amostragem

2.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor

2.1.1. Resultados

As Figuras seguintes (61 até 68) representam os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, nos diferentes campos de golfe, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Para todos os campos o género com maior número de nemátodes foi – *Helicotylenchus* (Figuras 61 até 68).

Outro género comum a todos os campos de golfe foi o género *Meloidogyne*. De acordo com este trabalho, este género encontra-se em todas as amostragens excepto para a colheita de Março no campo de golfe Benamor (Figura 65).

Outro género bastante comum foi *Tylenchorhynchus* que apareceu em todos os campos de golfe excepto para a amostragem de Março nos campos Quinta da Ria e Quinta de cima (Figuras 66 e 67).

Os géneros *Hemicycliophora*, *Criconemella*, *Pratylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Tylenchulus*, foram encontrados de forma dispersa e em número reduzido entre as duas amostragens feitas nestes campos de golfe.

O género *Paratrichodorus*, apenas foi encontrado em dois campos de golfe: no Morgado de Reguengo e no Alto Golf (Figuras 62 e 68).

A Figura 61 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Álamos, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicriconemoides*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*. O género mais abundante foi *Helicotylenchus*, seguido de *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne*, *Hemicycliophora*. O género menos abundante foi – *Hemicriconemoides*.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Tylenchorynchus* e *Hemicycliophora*, houve um elevado decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Meloidogyne*, houve um ligeiro aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

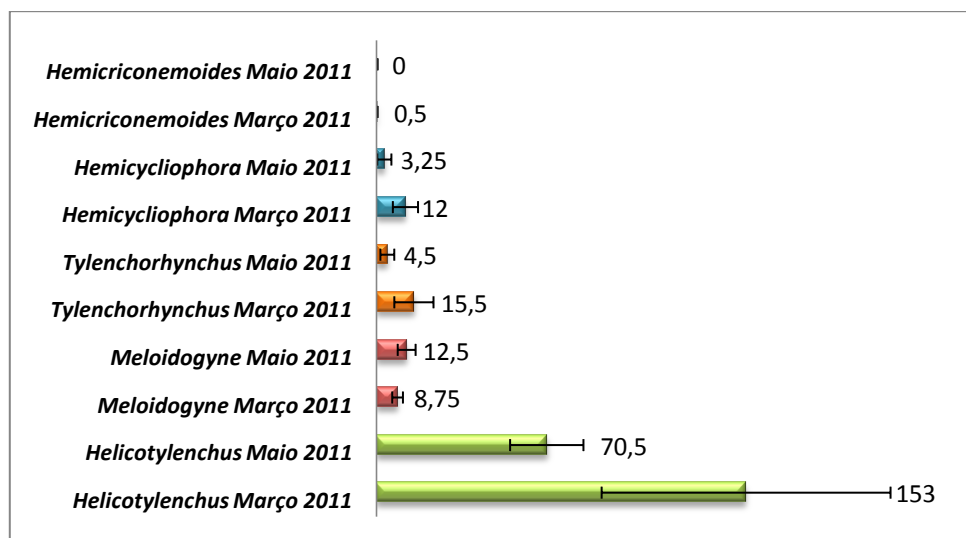


Figura 61 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Álamos, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

A Figura 62 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Morgado do Reguengo, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Paratrichodorus*, *Tylenchulus*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*, seguido de *Meloidogyne*, *Paratrichodorus*, *Tylenchorynchus* e *Tylenchulus*. O género menos abundante foi – *Hemicycliophora*.

Para os géneros *Paratrichodorus*, *Tylenchulus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*, houve um elevado aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Tylenchorynchus* e *Hemicycliophora*, houve um ligeiro aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

De uma forma geral, houve um aumento do valor médio de indivíduos entre as amostragens de Março e Maio de 2011.

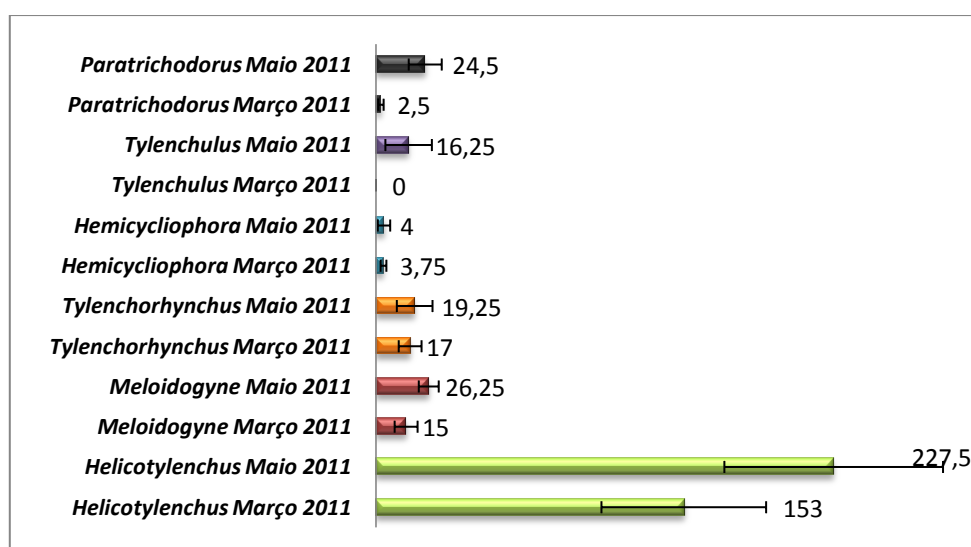


Figura 62 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Morgado do Reguengo, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 63 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Royal Golf Course, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Tylenchulus*, *Hemicriconemoides*, *Pratylenchus*, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi – *Helicotylenchus*. Os géneros – *Meloidogyne*, *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora*, *Criconemoides* e *Pratylenchus*, foram os

segundos mais abundantes. Os géneros menos frequentes foram – *Tylenchulus* e *Hemicriconemoides* respectivamente.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Tylenchorynchus* e *Pratylenchus*, houve um elevado aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Meloidogyne* e *Tylenchulus*, houve um ligeiro aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Hemicycliophora*, *Criconemoides* e *Hemicriconemoides*, houve uma ligeira diminuição do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

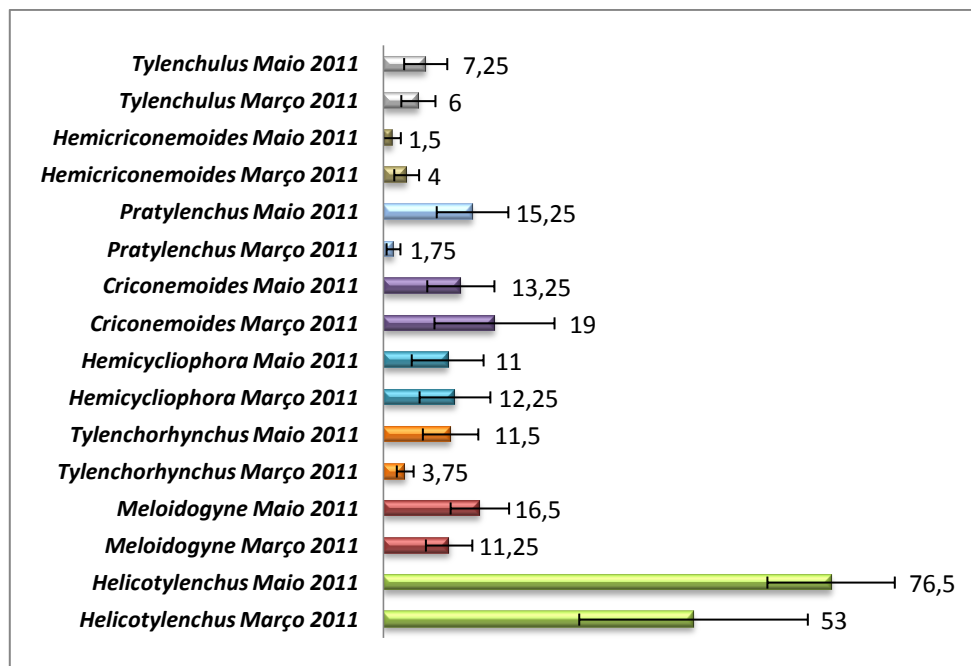


Figura 63 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Royal Golf Course, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 64 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Ocean Golf Course, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Tylenchulus*, *Hemicriconemoides*, *Pratylenchus*, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*. O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. Os géneros *Meloidogyne*, *Tylenchorhynchus*, *Hemicycliophora* e

Criconemoides, foram os segundos mais abundantes. Os géneros menos frequentes foram *Tylenchulus*, *Hemicriconemoides* e *Pratylenchus* respectivamente.

Para os géneros *Meloidogyne* e *Criconemoides*, houve um elevado aumento do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Tylenchulus*, houve uma ligeira subida do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Hemicycliophora*, houve um elevado decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Hemicriconemoides*, *Pratylenchus* e *Tylenchorhynchus*, houve uma ligeira diminuição do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

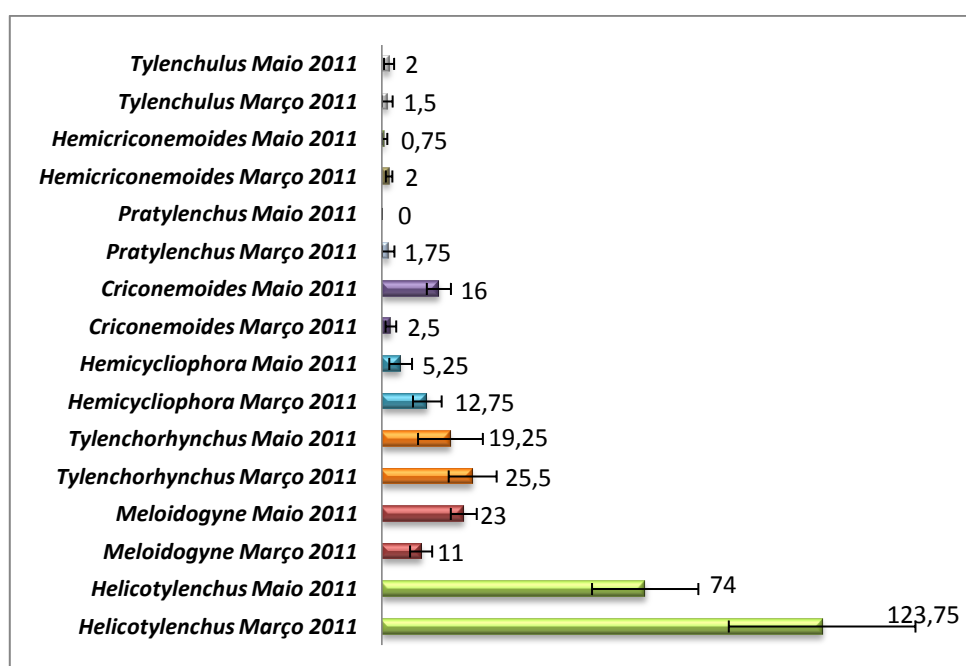


Figura 64 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Ocean Golf Course, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 65 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Benamor, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Criconemoides*, *Tylenchorhynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi – *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. E os géneros menos frequentes foram – *Tylenchorhynchus* e *Criconemoides* respectivamente.

Para os géneros *Helicotylenchus* e *Meloidogyne*, houve um elevado acréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Tylenchorhynchus* e *Criconemoides*, houve um ligeiro decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

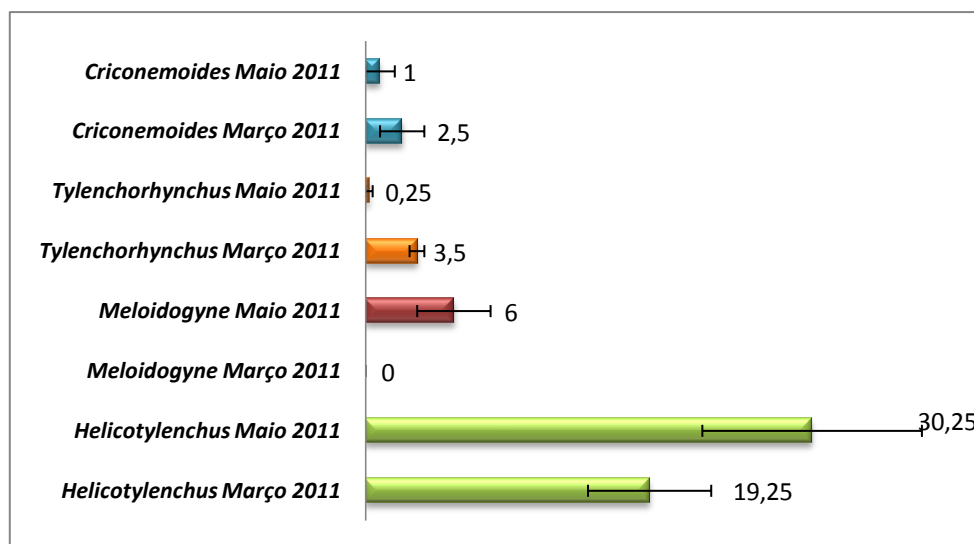


Figura 65 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Benamor, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 66 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Quinta de Cima, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Tylenchulus*, *Pratylenchulus*, *Tylenchorhynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi – *Helicotylenchus*. Os géneros – *Meloidogyne* e *Pratylenchulus*, foram os segundos mais abundantes. E os géneros menos frequentes foram – *Tylenchulus* e *Tylenchorhynchus* respectivamente.

Para os géneros *Meloidogyne*, *Tylenchorhynchus* e *Pratylenchulus*, houve um elevado acréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Helicotylenchus*, houve um elevado decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Tylenchulus*, houve um ligeiro decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

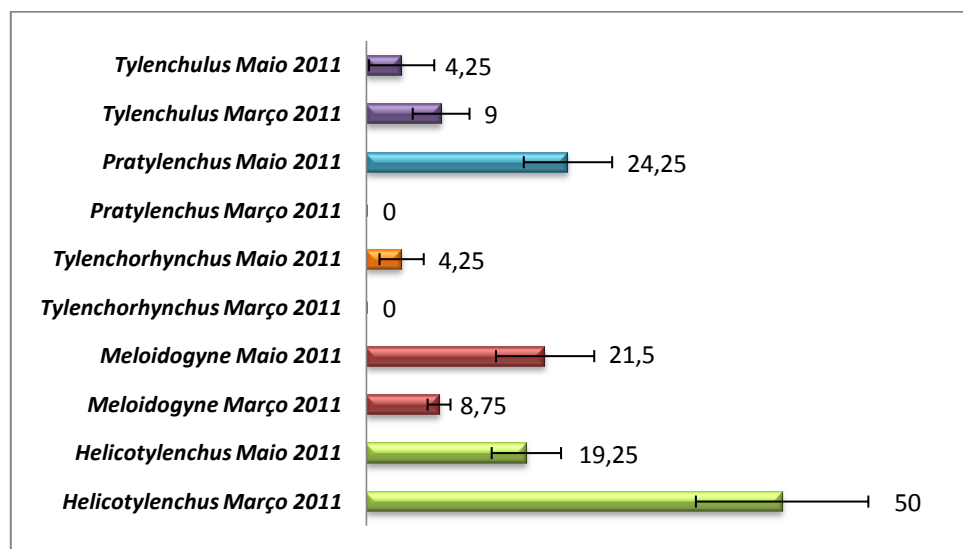


Figura 66 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Quinta de Cima, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 67 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Quinta da Ria, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Tylenchulus*, *Pratylenchus*, *Hemicycliophora*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi – *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. O género – *Pratylenchus*, for o terceiro mais abundante. E os géneros menos frequentes foram – *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora* e *Tylenchulus* respectivamente.

Para os géneros *Meloidogyne*, *Tylenchorynchus* e *Pratylenchus*, houve um elevado acréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Helicotylenchus*, houve um elevado decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Tylenchulus* e *Hemicycliophora*, houve um ligeiro decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

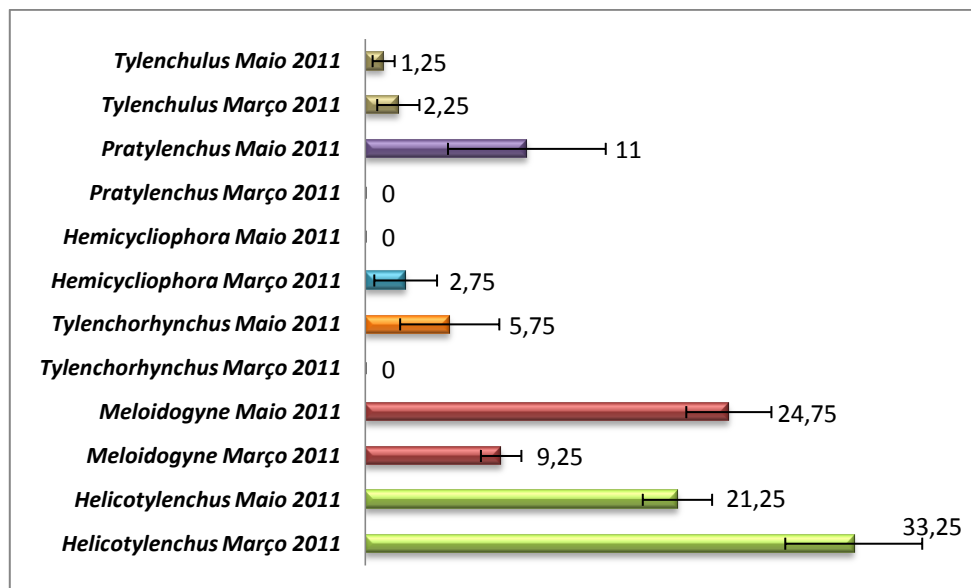


Figura 67 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Quinta da Ria, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

A Figura 68 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Alto Golfe, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Paratrichodorus*, *Pratylenchus*, *Criconemoides*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. O género – *Tylenchorynchus*, for o terceiro mais abundante. E os géneros menos frequentes foram – *Criconemoides*, *Pratylenchus* e *Paratrichodorus* respectivamente.

Para o género *Pratylenchus*, houve um ligeiro acréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para o género *Helicotylenchus*, houve um elevado decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

Para os géneros *Meloidogyne*, *Tylenchorynchus*, *Criconemoides* e *Paratrichodorus*, houve um ligeiro decréscimo do valor médio de indivíduos entre a amostragem de Março e Maio de 2011.

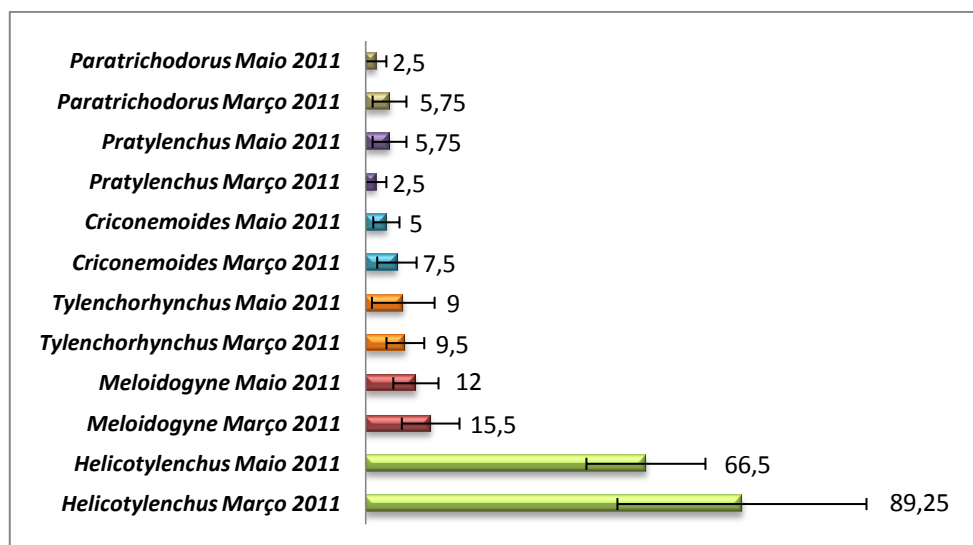


Figura 68 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Alto Golf, em duas épocas de amostragem – Março e Maio de 2011

2.1.2. Discussão

Para todos os campos o género com maior número de nemátodes foi – *Helicotylenchus*. Este género é bastante comum nas zonas temperadas, estando provado que para Portugal, é o género mais comum (Schreck Reis *et al.*, 2004). Apesar de aparecerem em elevado número e não haver trabalhos portugueses sobre limites de dano, acredita-se que este género não seja causador de perdas significativas de relvados em campos de golfe (Stirling, 2006).

Outro género comum a todos os campos de golfe foi *Meloidogyne*. Segundo dados de Fleming (2008) este género é o mais significativo no que diz respeito a danos nos relvados de campos de golfe e encontra-se em mais de 90% dos campos Irlandeses.

De acordo com este trabalho, este género encontra-se em todas as amostragens excepto para a colheita de Março no campo de golfe Benamor (figura 65). Uma das razões para este facto poderá estar relacionado com o histórico do campo; antes da colheita, aproximadamente 15 dias, foi efectuada uma aplicação de glifosato por engano. Esta aplicação levou a que houvesse uma diminuição

significativa da biomassa radicular. Ora atendendo a que *Meloidogyne* é um nemátode endoparasita, na ausência de um hospedeiro, este não foi passível de ser encontrado.

Benamor, de entre todos os campos examinados, foi o que apresentou menor número de géneros e menor quantidade, e mais uma vez isto poderá estar relacionado com a aplicação do fitofármaco.

Outro género bastante comum foi *Tylenchorhynchus* que apareceu em todos os campos de golfe excepto para a amostragem de Março nos campos Quinta da Ria e Quinta de cima (Figuras 66 e 67).

Os géneros: *Hemicycliophora*, *Criconemoides*, *Pratylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Tylenchulus*, foram encontrados de forma dispersa e em número reduzido entre as duas amostragens feitas nos diferentes campos de golfe.

O género *Paratrichodorus*, apenas foi encontrado em dois campos de golfe: Morgado de Reguengo e Alto golfe. Esta tendência poderá estar relacionada com a zona amostrada - zona do barlavento algarvio. Contudo Álamos encontra-se na mesma zona, e não foi detectado.

2.2. Campos de Golfe do Grupo Oceânico

2.2.1. Resultados

As Figuras (69 até 75) seguintes representam os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, nos diferentes campos de golfe do grupo Oceânico, em três épocas de amostragem - Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para os campos de golfe do grupo Oceânico observou-se que o género *Helicotylenchus* foi o mais abundante (Figuras 69 a 75), e que houve um aumento progressivo ao longo das amostragens, principalmente nos campos de golfe do Laguna (Figura 69), Victoria (Figura 71), Old Course (Figura 72), Pinhal (Figura 73) e Faldo (Figura 74). Os valores mais elevados foram observados no Millennium (Figura 70), no Victoria (Figura 71) e no Pinhal (Figura 73).

O género *Meloidogyne* também apresentou valores muito elevados excepto para os seguintes campos do Oceânico Faldo (Figura 74) e O'Connor (Figura 75).

Nos restantes campos o com maior incidência deste género foi o Pinhal na amostragem de Setembro de 2010 – 242 média de indivíduos por 100 gramas de solo (Figura 73).

Os restantes géneros, *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora*, e *Xiphinema* apresentaram valores baixos, em todos os campos de golfe. No entanto o valor que mais se destacou foi para o género *Xiphinema* na amostragem de Abril no campo de golfe Old Course – 42,6 indivíduos por 100 gramas de solo (Figura 72).

A figura seguinte (Figura 69) representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Laguna, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi – *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. Os géneros – *Tylenchorynchus*, e *Hemicycliophora* foram os terceiros mais abundantes. E o género menos frequente foi – *Xiphinema*.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchorynchus*, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Xiphinema*, houve um ligeiro acréscimo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Hemicycliophora*, houve um ligeiro decréscimo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

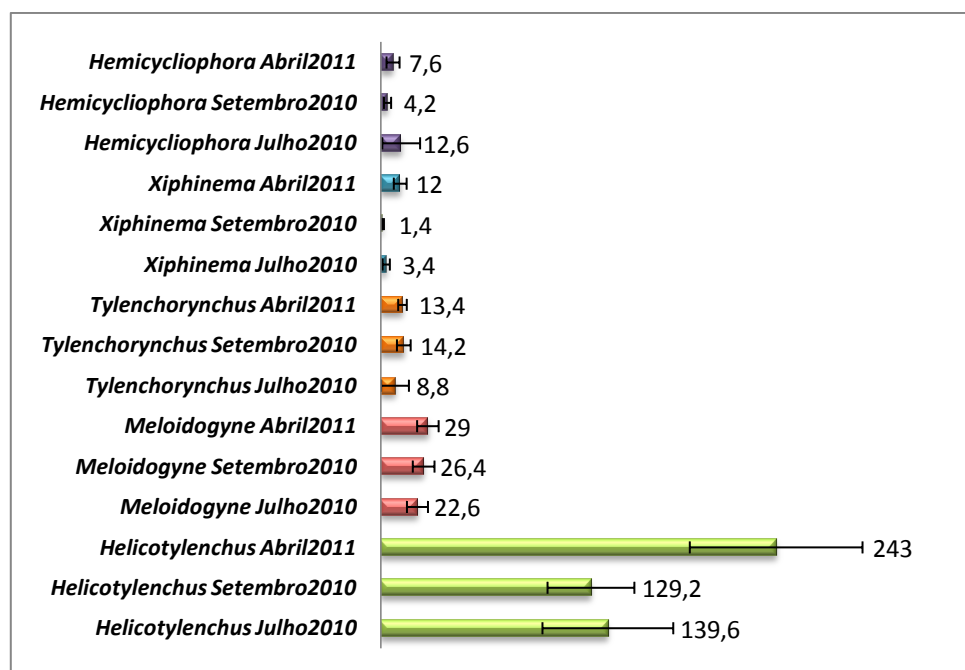


Figura 69 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Laguna, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 70 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Millennium, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. Os géneros – *Tylenchorynchus*, e *Hemicycliophora* foram os terceiros mais abundantes. E o género menos frequente foi – *Xiphinema*.

Para os géneros *Tylenchorynchus*, *Xiphinema* e *Hemicycliophora*, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Helicotylenchus*, houve um ligeiro acréscimo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Meloidogyne*, houve um ligeiro decréscimo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

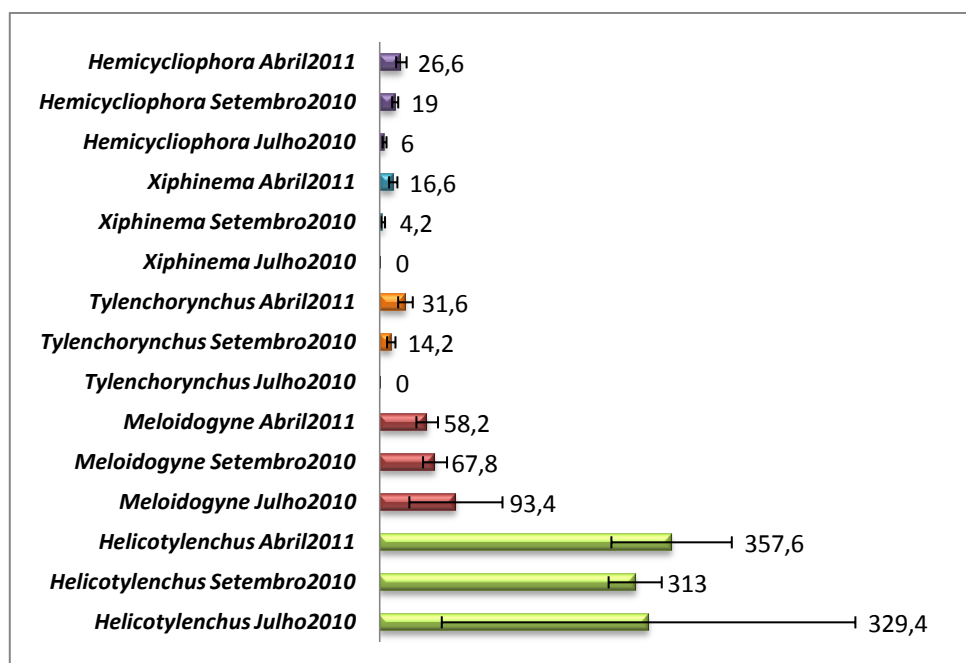


Figura 70 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Millennium, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 71 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Victoria, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. Os géneros *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora* e *Xiphinema* foram os menos frequentes.

Para todos os géneros, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011. Excepto para o género *Meloidogyne* que ligeiramente diminuiu na amostragem de Abril de 2011.

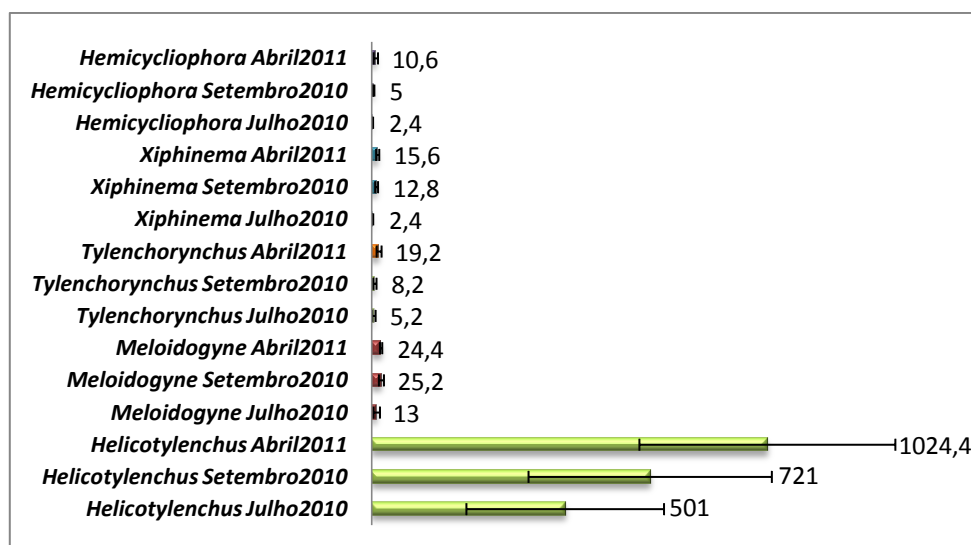


Figura 71 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Victoria, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 72 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Old course, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Xiphinema*, foi o segundo mais abundante. Os géneros *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora* e *Meloidogyne* foram os menos frequentes.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Xiphinema* e *Hemicycliophora*, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Tylenchorynchus*, houve um ligeiro acréscimo no valor médio de indivíduos na Amostragem de Setembro de 2010 e posteriormente um decréscimo em Abril de 2011.

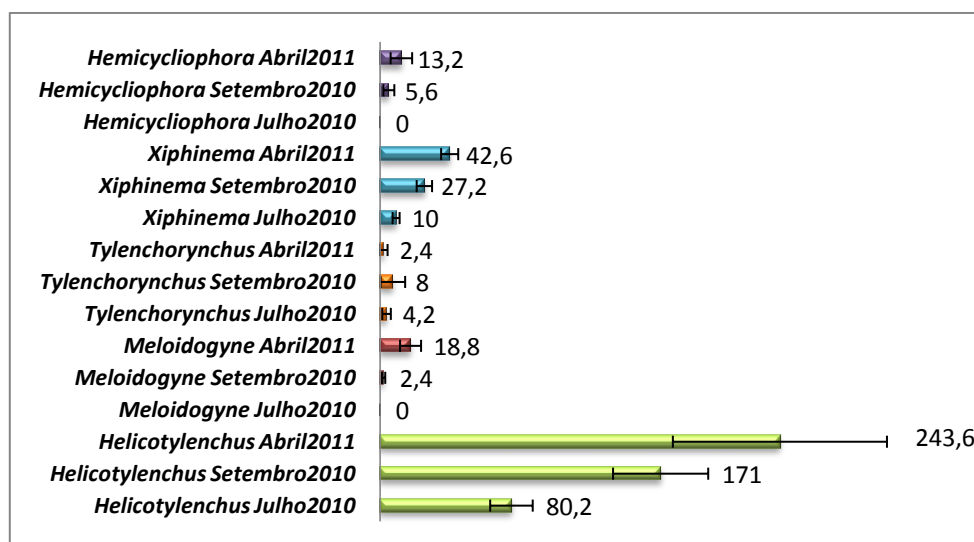


Figura 72 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Old Course, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 73 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Pinhal, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Meloidogyne*, foi o segundo mais abundante. Os géneros *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora* e *Xiphinema* foram os menos frequentes.

Para os géneros *Helicotylenchus*, *Tylenchorynchus* e *Xiphinema*, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género *Meloidogyne*, houve um elevado acréscimo no valor médio de indivíduos em Setembro de 2010 e posteriormente uma redução em Abril de 2011.

Para o género *Hemicycliophora*, houve um acréscimo no valor médio de indivíduos em Setembro de 2010 e posteriormente uma redução em Abril de 2011.

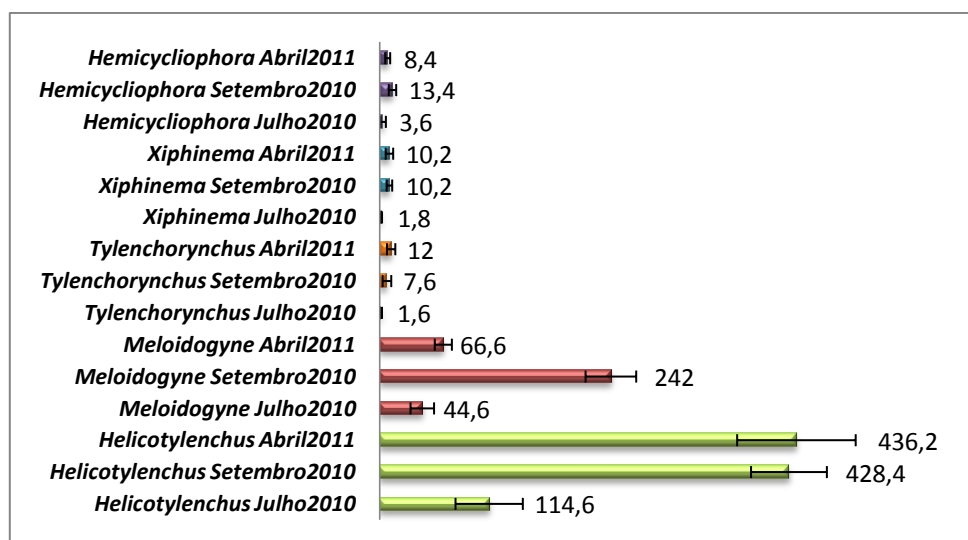


Figura 73 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Pinhal, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 74 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Faldo, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. Os géneros *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora*, *Meloidogyne* e *Xiphinema* foram os menos frequentes.

Para os géneros *Helicotylenchus* e *Meloidogyne*, houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem - Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para o género - *Xiphinema*, houve um ligeiro decréscimo no valor médio de indivíduos em Abril de 2011. Entre as amostragens de Julho de 2010 e Setembro de 2010 o valor médio de indivíduos manteve-se.

Para o género *Hemicycliophora*, houve um acréscimo no valor médio de indivíduos em Setembro de 2010 e posteriormente uma redução em Abril de 2011.

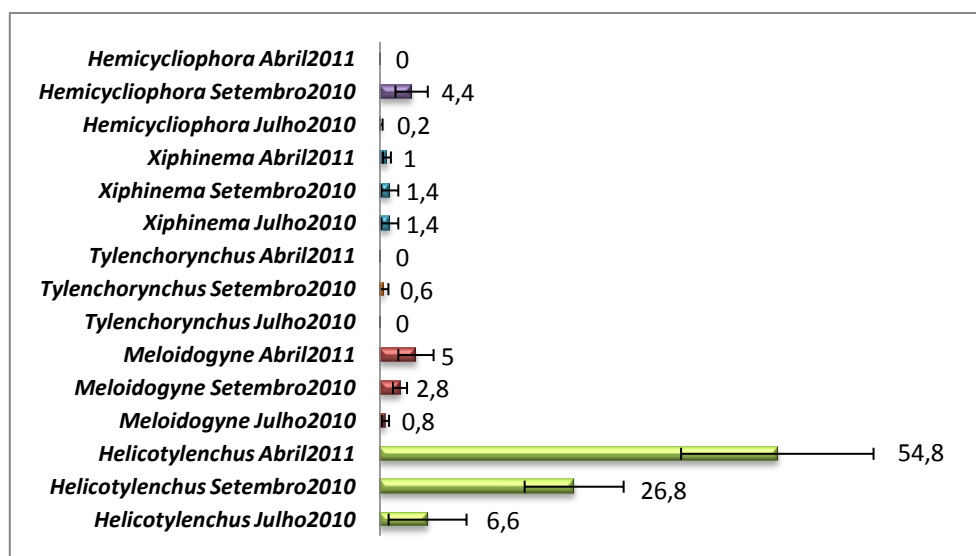


Figura 74 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe Faldo, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

A Figura 75 representa os valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe O'Connor, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Neste campo foram encontrados os seguintes géneros: *Hemicycliophora*, *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*.

O género mais abundante foi *Helicotylenchus*. O género – *Xiphinema*, foi o segundo mais abundante. E os géneros *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora* e *Meloidogyne* foram os menos frequentes.

Para o género *Hemicycliophora* houve um aumento progressivo no valor médio de indivíduos nas três épocas diferentes de amostragem -Julho 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011.

Para os géneros *Xiphinema*, *Tylenchorynchus*, *Meloidogyne* e *Helicotylenchus*, houve um ligeiro acréscimo no valor médio de indivíduos em Setembro de 2010. E posteriormente um ligeiro decréscimo em Abril de 2011

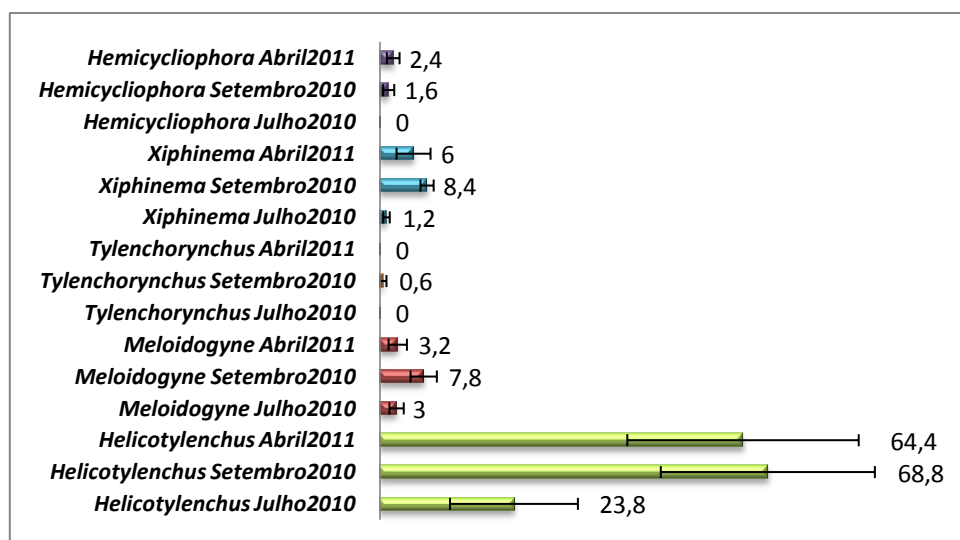


Figura 75 – Valores médios dos géneros encontrados em 100 gramas de solo pelo método de extracção da flutuação centrífuga, no campo de golfe O'Connor, em três épocas de amostragem – Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011

2.2.2. Discussão

Também para os campos de golfe do grupo Oceânico observou-se que o género *Helicotylenchus* foi o mais abundante (Figuras 69 até 75), e que houve um aumento progressivo ao longo das amostragens, principalmente nos campos: Laguna (Figura 69), Victoria (Figura 71), Old Course (Figura 72), Pinhal (Figura 76) e Faldo (Figura 74).

Os valores mais elevados foram observados em 3 campos: Millennium (Figura 70), Victoria (Figura 71) e Pinhal (Figura 73). Nos dois últimos campos os valores ultrapassaram o limite de dano de 400 indivíduos por 100 gramas (Fleming, 2008). Contudo, não foram observados quaisquer sintomas nos relvados nessas alturas, o que leva a supor que os limites de dano utilizados para controlo podem não ser os mais representativos da realidade Portuguesa mais concretamente da região algarvia.

O género *Meloidogyne* também apresentou valores muito elevados excepto para os seguintes campos: Faldo (Figura 74) e O'Connor. As possíveis explicações poderão estar no facto de ambos os campos serem os mais novos (Tabela 7) do Grupo Oceânico e ficarem numa região diferente dos restantes campos do grupo (Figura 22).

Nos restantes campos o com maior incidência deste género foi o Pinhal na amostragem de Setembro de 2010 – 242 média de indivíduos por 100 gramas de solo (Figura 73), onde foram visíveis danos severos (Figura 76).



Figura 76 – Sintomas de nemátodes fitoparasitas no *green* nº 16 do campo de golfe Pinhal na Amostragem de Setembro de 2010

A explicação poderá estar no facto de ser o campo mais velho (Tabela 7) comparativamente com os restantes.

No Pinhal, a descida do número de indivíduos do género *Meloidogyne* de Setembro de 2010 para Abril de 2011, poderá estar relacionado com a aplicação exhaustiva de químicos nomeadamente do nematicida, de nome comercial - Namacur. Contudo o valor ainda é bastante elevado, estando acima do valor limite de dano. Apesar deste valor e também para os campos: Laguna (Figura 69), Millennium (Figura 70), Victoria (Figura 71) e Old Course (Figura 72) os valores foram elevados em relação ao limite de dano estipulado, no entanto não foram visíveis quaisquer tipos de sintomas sugerindo mais uma vez que é necessário um ajuste.

Os restantes géneros: *Tylenchorynchus*, *Hemicycliophora*, *Xiphinema* apresentaram valores baixos, em todos os campos de golfe. No entanto o valor que mais se destacou foi para o género *Xiphinema* na amostragem de Abril no campo de golfe Old Course – 42,6 indivíduos por 100 gramas de solo (Figura 72).

3. Comparação de géneros por campos de golfe e por amostragem

3.1. Campos de golfe dos grupos: Vale de Lobo, Pestana, CS, Quinta da Ria/Quinta de Cima, Benamor

3.1.1. Resultados

As Figuras 77 até 85 correspondem a Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo de diferentes géneros por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

Para todos os géneros e para todas as amostragens (excepto em 6 géneros e 2 amostragens) verificou-se que existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os campos amostrados (Figuras 77 até 85)

As excepções encontradas foram:

- Amostragem de Março 2011, género *Meloidogyne*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,227$) (Figura 78).

- Amostragem de Maio 2011, género *Tylenchorynchus*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,340$) (Figura 79).

- Amostragem de Maio 2011, género *Hemicycliophora*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,115$) (Figura 80).

- Amostragem de Março 2011, género *Pratylenchus*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,568$) (Figura 82).

- Amostragem de Maio 2011, género *Hemicriconemoides*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,440$) (Figura 83).

- Amostragem de Maio 2011, género *Tylenchulus*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,225$) (Figura 84).

A Figura 77 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Helicotylenchus* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem.

Para todas as amostragens foi observado que para o género *Helicoylenchus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. Contudo: para Março de 2011, os campos Quinta da Ria e Quinta de Cima não apresentaram diferenças significativas. Para Maio de 2011 o Campo de golfe Morgado foi significativamente diferente dos restantes campos, mas Álamos, Royal, Ocean, Benamor, Quinta da Ria, Quinta de cima e Alto Golfe não foram significativamente diferentes entre si.

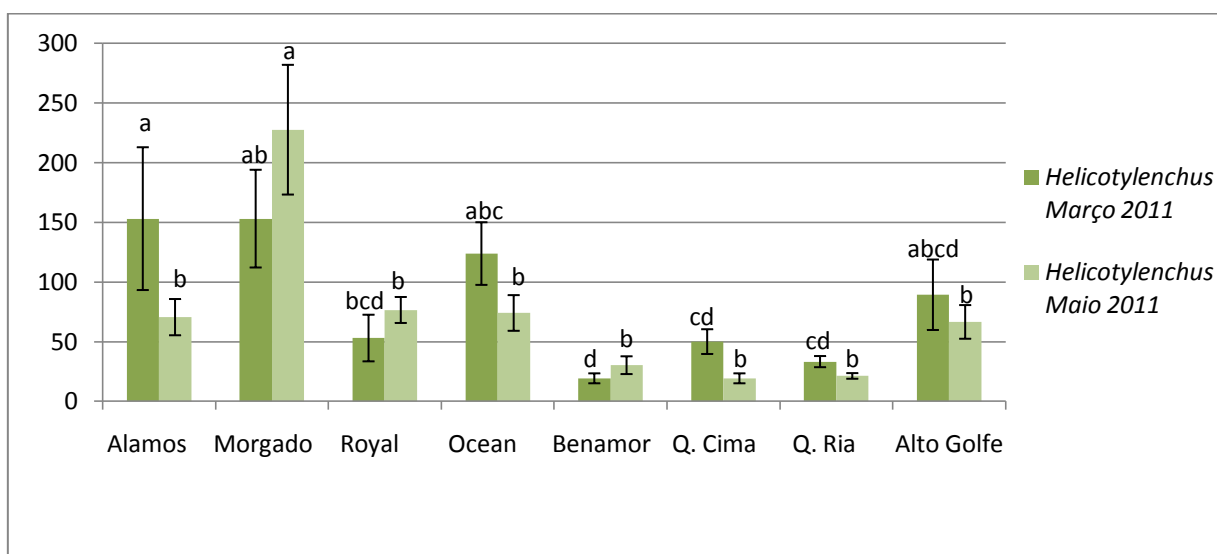


Figura 77 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* por campos de golfe e por amostragem. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 78 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Meloidogyne* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para o campo Benamor, na amostragem de Março de 2011 onde não foram encontrados géneros de *Meloidogyne*.

Para amostragem de Março 2011 verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,227$).

Para a amostragens de Maio de 2011 foi observado que no género *Meloidogyne* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. O campo de golfe Benamor foi significativamente diferente dos restantes campos de golfe: Álamos, Morgado do Reguengo, Royal, Ocean, Quinta da Ria, Quinta de Cima e Alto Golfe (estes campos não foram significativamente diferentes entre si).

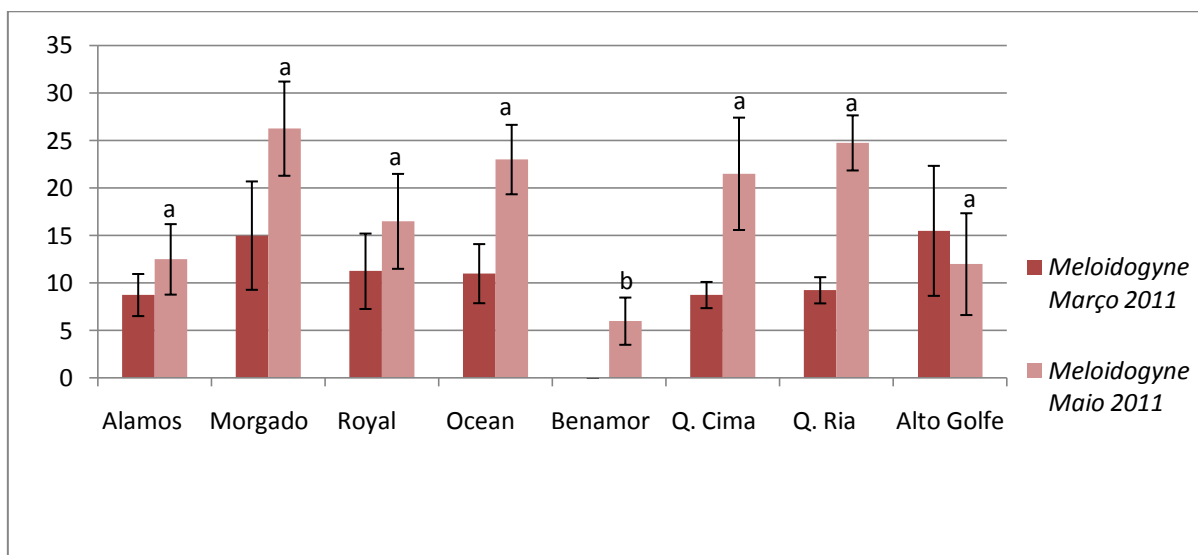


Figura 78 - Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* por campos de golfe e por amostragem. Para *Meloidogyne* Março de 2011 - $p = 0,227$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 79 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Tylenchorynchus* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para Benamor em Maio de 2011 e Quinta da Ria e Quinta de cima em Março de 2011, onde não foram encontrados géneros de *Tylenchorynchus*.

Para a amostragens de Março de 2011 foi observado que no género *Tylenchorynchus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. O campo de Golfe Ocean, foi significativamente diferente dos restantes

campos, mas não houve diferenças significativas entre: Álamos e Morgado; Royal e Benamor; Quinta da Ria e Quinta de Cima.

Para a amostragem de Maio 2011 verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,340$).

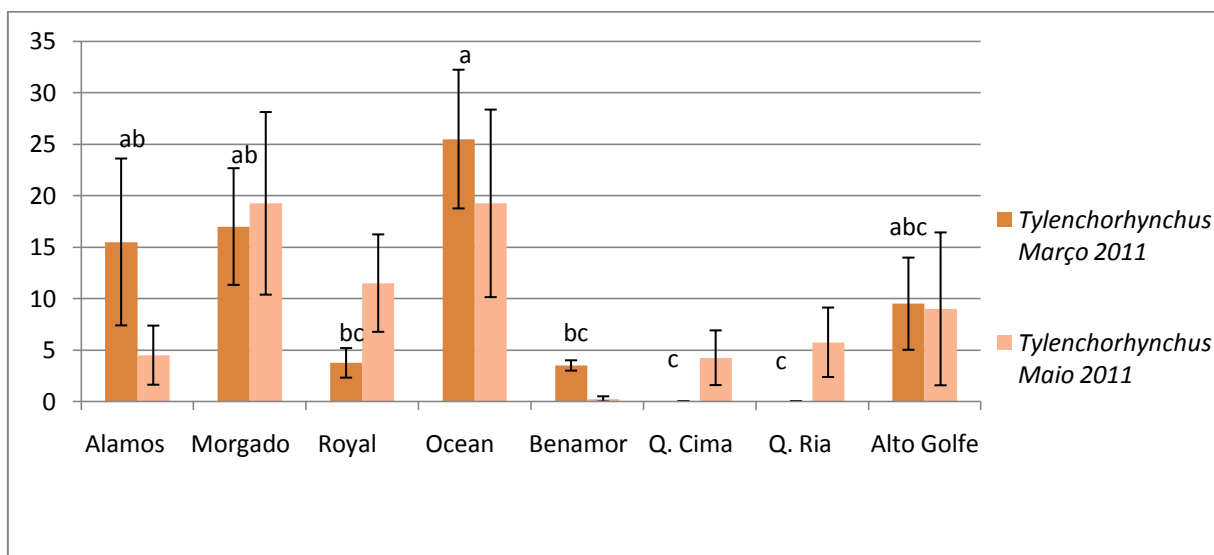


Figura 79 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchorhynchus* por campos de golfe e por amostragem. Para *Tylenchorhynchus* Maio de 2011 – $p = 0,340$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 80 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Hemicycliophora* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para Benamor, Março e Maio de 2011; Quinta de Cima, Março e Maio de 2011; Quinta da Ria, Maio de 2011; e Alto Golfe, Março e Maio de 2011; onde não foram encontrados géneros de *Hemicycliophora*.

Para a amostragens de Março de 2011 foi observado que no género *Hemicycliophora* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. Contudo não houveram diferenças significativas entre: Morgado e Quinta da Ria; Royal e Ocean; e Benamor e Alto Golfe.

Para a amostragem de Maio 2011 verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,115$) (Figura 80)

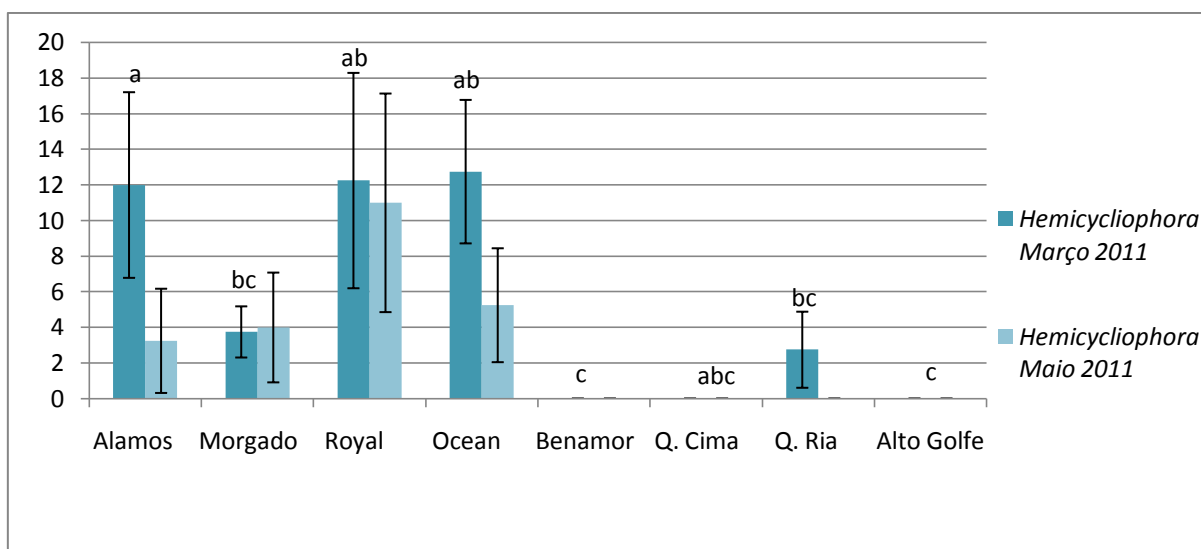


Figura 80 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* por campos de golfe e por amostragem. Para *Hemicycliophora* Maio de 2011 – $p = 0,115$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 81 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Criconemoides* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Criconemoides* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para Álamos, Morgaado do Reguengo, Quinta da Ria e Quinta de cima nas duas épocas de amostragem, onde não foram encontrados géneros de *Criconemoides*.

Para todas as amostragens foi observado que no género *Criconemoides* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. Para Março de 2011, o campo de golfe Royal foi significativamente diferente dos restantes mas os campos Ocean e Benamor não foram significativamente diferentes entre si. Para Maio de 2011, os campos de golfe Royal e Ocean não foram significativamente diferentes entre si, mas foram significativamente diferentes dos restantes. Benamor e Alto Golfe não foram significativamente diferentes entre si.

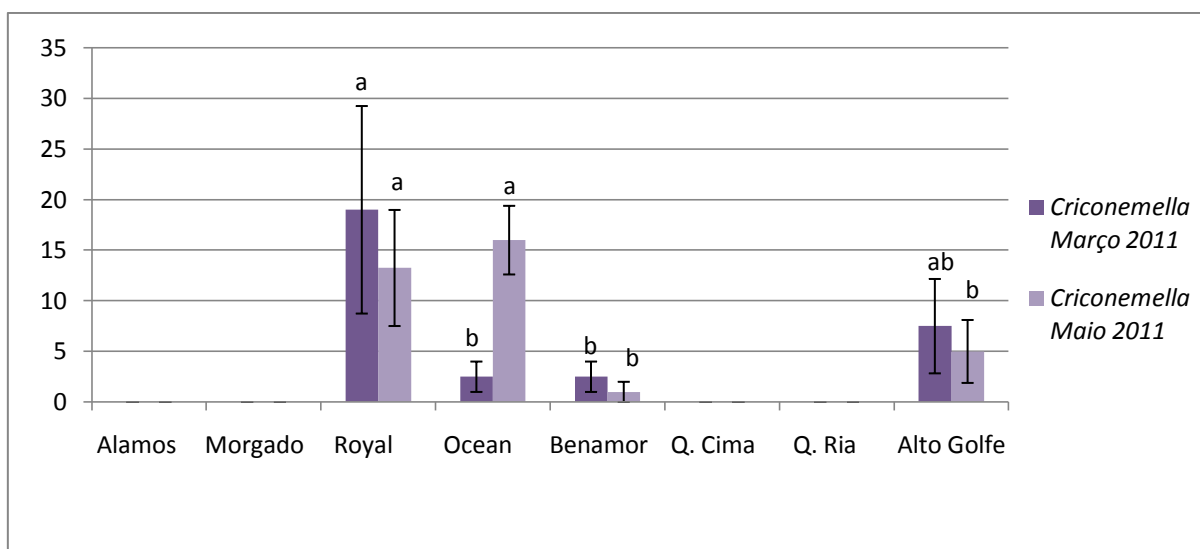


Figura 81 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Criconemoides* por campos de golfe e por amostragem. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 82 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Pratylenchus* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Pratylenchus* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para álamos, Morgado do Reguengo e Benamor em Março e Maio de 2011; Ocean em Maio de 2011; Quinta da Ria e Quinta de Cima em Março de 2011; onde não foram encontrados géneros de *Pratylenchus*.

Para a amostragem de Março 2011 para o género *Pratylenchus*, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,568$)

Para a amostragens de Maio de 2011 foi observado que no género *Pratylenchus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. O campo de golfe Quinta de Cima é significativamente diferente dos restantes campos onde é observado o género *Pratylenchus*.

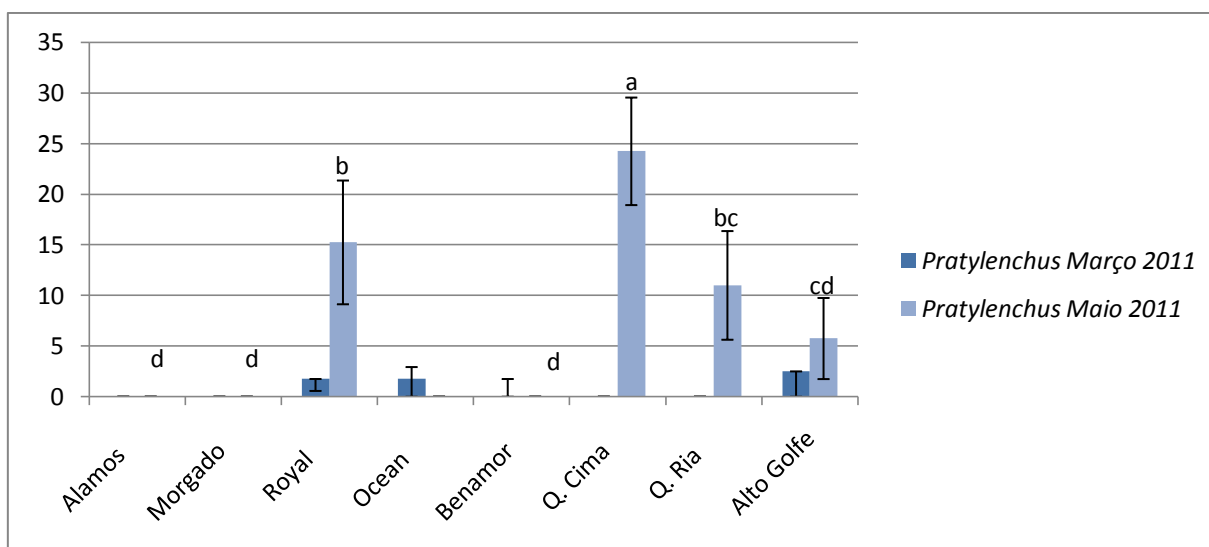


Figura 82 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Pratylenchus* por campos de golfe e por amostragem. Para *Pratylenchus* em Março – $p = 0,568$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 83 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicriconemoides* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Hemicriconemoides* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para Álamos em Maio de 2011; e Morgado do Reguengo, Benamor, Quinta da Ria, Quinta de Cima e Alto Golfe, em Março e Maio de 2011; onde não foram encontrados géneros de *Hemicriconemoides*.

Para a amostragens de Março de 2011 foi observado que no género *Hemicriconemoides* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. O campo de golfe Royal é significativamente diferente dos campos: Ocean e Álamos. Contudo Ocean e Álamos não são significativamente diferentes entre si.

Para a amostragem de Maio 2011 no género *Hemicriconemoides*, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,440$).

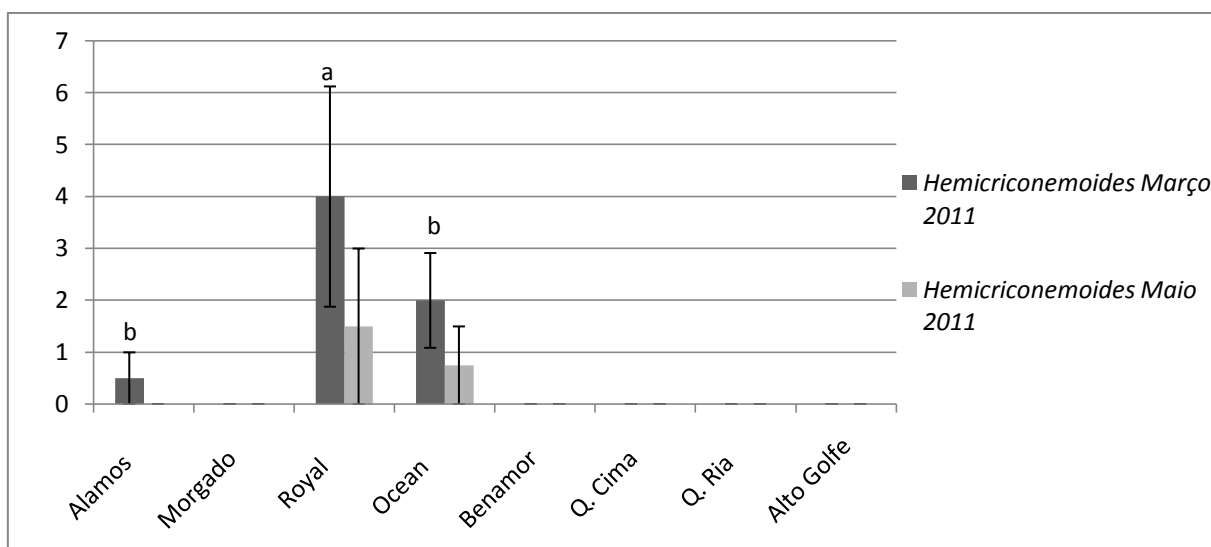


Figura 83 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicriconemoides* por campos de golfe e por amostragem. Para *Hemicriconemoides* em Maio – $p = 0,440$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 84 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchulus* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Tylenchulus* foi observado em todos os campos de golfe e em todas as épocas de amostragem. Excepto para, Morgado do Reguengo, Março de 2011; e Álamos, Benamor e Alto Golfe em Março e Maio de 2011; onde não foram encontrados géneros de *Tylenchulus*.

Para a amostragens de Março de 2011 foi observado que no género *Tylenchulus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. O campo de golfe Quinta de Cima é significativamente diferente dos restantes campos de golfe, o mesmo acontece para o campo de golfe Ocean, mas Royal e Quinta da Ria não são significativamente diferentes entre si.

Para a amostragem de Maio 2011 no género *Tylenchulus*, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,225$).

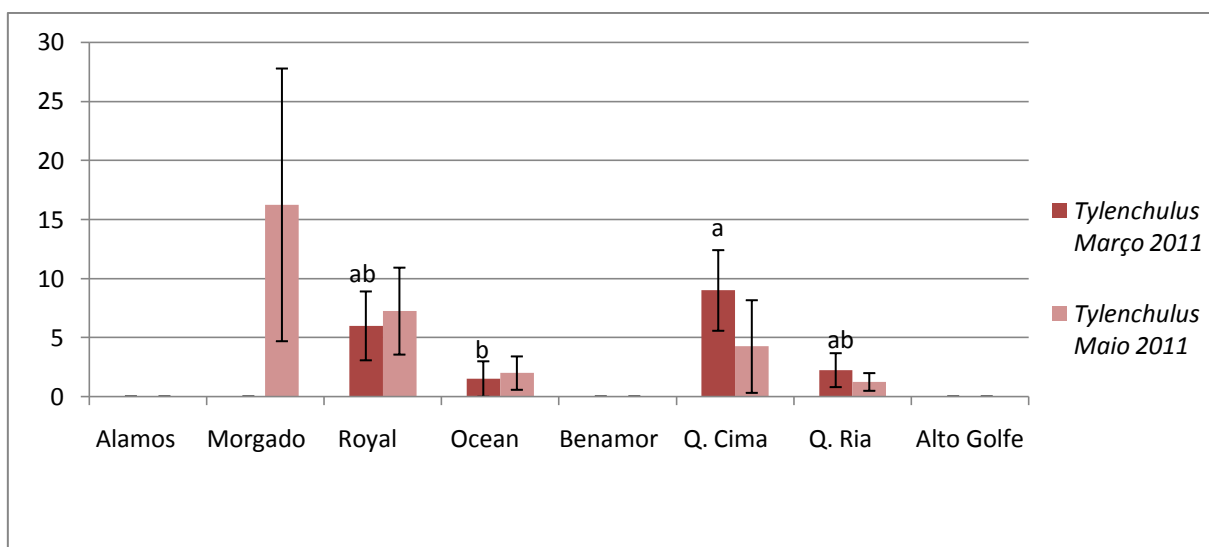


Figura 84 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchulus* por campos de golfe e por amostragem. Para *Tylenchulus* em Maio – $p = 0,225$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 85 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Paratrichodorus* por campos de golfe e por amostragem (Março e Maio de 2011).

O género *Paratrichodorus* apenas foi observado no Morgado do Reguengo e no Alto Golfe.

Para todas as amostragens foi observado que no género *Paratrichodorus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos.

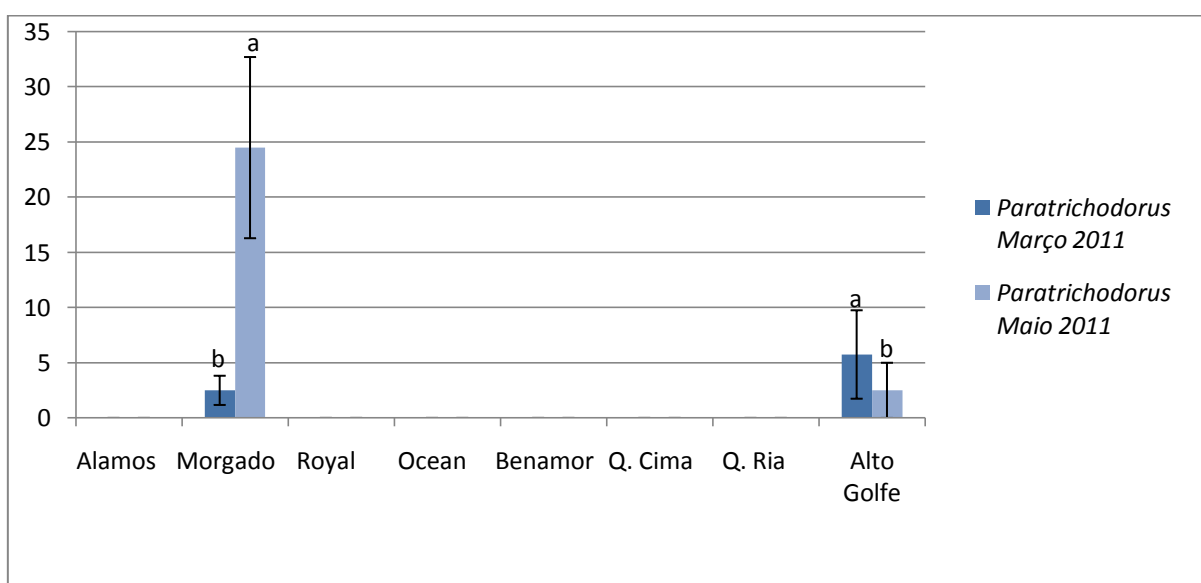


Figura 85 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Paratrichodorus* por campos de golfe e por amostragem. Para

Paratrichodoros em Março - $p = 0,386$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

3.1.2. Discussão

De um modo geral, todos os campos foram significativamente diferentes entre si para cada género e para diferentes épocas de amostragem. Contudo houve excepções:

- Amostragem de Março 2011, género *Meloidogyne* (Figura 78).
- Amostragem de Maio 2011, género *Tylenchorynchus* (Figura 79).
- Amostragem de Maio 2011, género *Hemicycliophora* (Figura 80).
- Amostragem de Março 2011, género *Pratylenchus* (Figura 82).
- Amostragem de Maio 2011, género *Hemicriconemoides* (Figura 83).

Essas excepções poderão estar relacionadas com o facto da maioria dos valores médios serem baixos.

Os valores mais elevados foram para os géneros *Meloidogyne*, *Tylenchorynchus*, e *Tylenchulus*, o que sugere que se trata de géneros frequentes para campos de golfe na região do Algarve independentemente das suas características.

Apesar das diferenças significativas entre os campos de golfe, seria de esperar que campos com a mesma localização geográfica (Figura 22), com a mesma gestão, idades (Tabela 7), tipos de relvas (Tabela 7) e com as mesmas técnicas culturais e químicas: Álamos/Morgado do Reguengo, Royal/ Ocean e Quinta Ria/Quinta de Cima, pudessem ter géneros relacionados entre si (teste de Duncan), o que nem sempre se verificou:

- Para o género *Tylenchorynchus* na amostragem de Março 2011 havia maior relação entre os campos Royal golf course e Benamor (Figura 78).

- Para o género *Hemicycliophora* na amostragem de Março 2011 havia uma maior relação entre o Morgado do Reguengo e a Quinta da Ria (Figura 79).

- Para o género *Pratylenchus* na amostragem de Maio 2011, havia uma maior relação entre os campos Quinta da Ria, Royal golf course e Alto golfe (Figura 81).

- Para o género *Tylenchulus* na amostragem de Março 2011, havia uma maior relação entre os campos Quinta da Ria e Royal golf course (Figura 83).

- Para o género *Paratrichodorus* e para Março 2011, houve uma maior relação entre o Morgado do Reguengo e o Alto Golfe (Figura 84).

Isto pode ser explicado pelo facto dos nemátodes fitoparasitas terem maior mobilidade vertical que horizontal (Anónimo, 2000; Crow, 2005), apesar de poderem espalhar-se facilmente devido á actividade humana, água da rega, máquinas de corte, detritos do solo e material vegetal contaminado (Crow, 2005).

3.2. Campos de Golfe do Grupo Oceânico

3.2.1. Resultados

As figuras (86 até 90) correspondem a Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo de diferentes géneros por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho de 2010, Setembro de 2010 e Abril de 2011)

Para todos os géneros e para todas as amostragens (excepto em 5 géneros e 3 amostragens) verificou-se que existem diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os campos amostrados (Figuras 86 até 90)

As excepções encontradas foram:

- Amostragem de Julho de 2010, género *Helicotylenchus*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,155$) (Figura 86).

- Amostragem de Julho de 2010, género *Meloidogyne*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,064$) (Figura 87).

- Amostragem de Julho de 2010 e Setembro de 2010, género *Tylenchorynchus*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,605$ e $p = 0,200$) (Figura 88).

- Amostragem de Julho de 2010, género *Hemicycliophora*. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,460$) (Figura 90).

A Figura 86 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho 2010, Setembro 2010 e Abril 2011).

O género *Helicotylenchus* foi encontrado em todos os campos do grupo Oceânico e em todas as épocas de amostragem.

Para todas as amostragens foi observado que no género *Helicotylenchus* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. Contudo, na amostragem de Julho de 2010, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,155$).

Na amostragem de Setembro 2010 observou-se que o campo de golfe Victoria foi significativamente diferente dos restantes campos mas não foi tão significativamente diferente para o campo de golfe Pinhal. O campo de golfe Faldo foi significativamente diferente dos restantes. E não houve diferenças significativas entre os campos: Laguna, Millennium, Old Course e O'Connor.

Na amostragem de Abril 2011 observou-se que o campo Victória foi significativamente diferente dos restantes. Mas os campos: Laguna, Millennium, Old Course, Pinhal, Faldo e O'Connor não foram significativamente diferentes entre si.

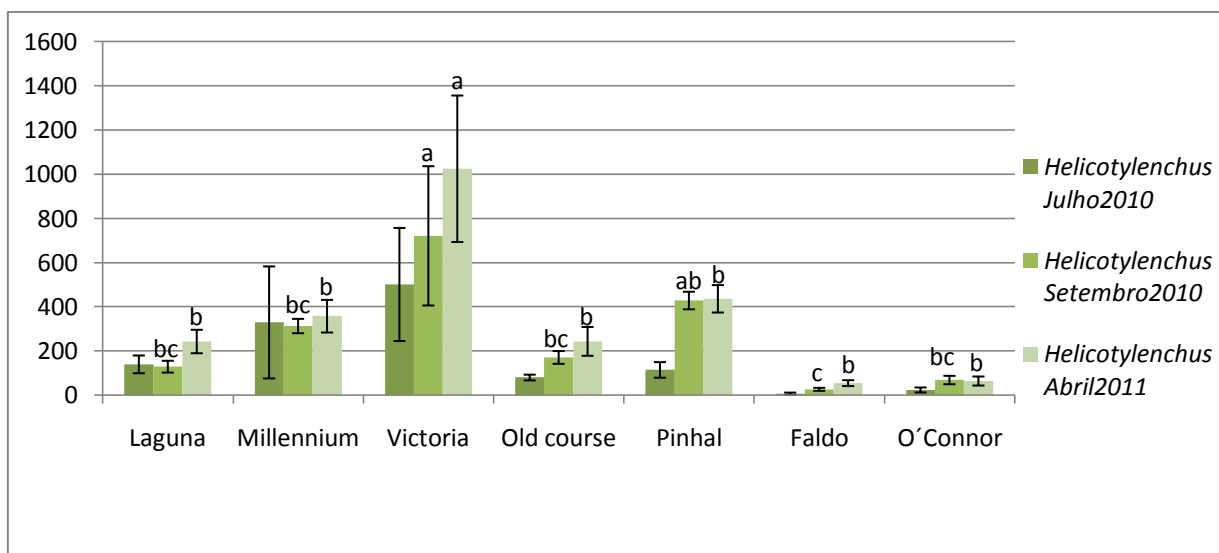


Figura 86 - Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Helicotylenchus* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem. Para *Helicotylenchus* em Julho de 2010 - $p = 0,155$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 87 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho 2010, Setembro 2010 e Abril 2011).

O género *Meloidogyne* foi encontrado em todos os campos do grupo Oceânico e em todas as épocas de amostragem, excepto para os campos Faldo e O'Connor em Julho de 2010.

Para todas as amostragens foi observado que no género *Meloidogyne* existem diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os diferentes campos. Contudo na amostragem de Julho de 2010, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,064$).

Na amostragem de Setembro 2010 o campo de golfe Pinhal foi significativamente diferente dos restantes campos de golfe, o mesmo para o campo de golfe Millennium. Mas os campos: Laguna, Old Course, Victoria, Faldo e O'Connor não foram significativamente diferentes entre si.

Na amostragem de Abril de 2011 o campo de golfe Pinhal foi significativamente diferente dos restantes campos de golfe, o mesmo para o campo de golfe Laguna. Mas os campos de golfe: Victoria e Old Course; Faldo e O'Connor não foram significativamente diferentes entre si. O Campo Millennium é significativamente diferente do campo de golfe Faldo e O'Connor mas não é significativamente tão diferente do Laguna, Victoria e Old course.

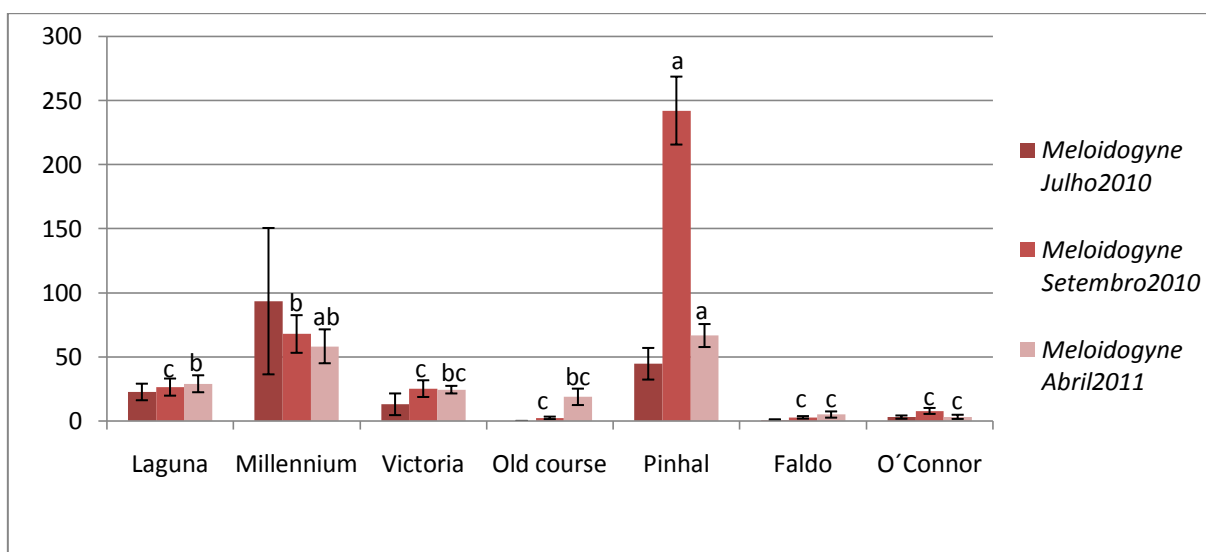


Figura 87 - Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Meloidogyne* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem. Para *Meloidogyne* em Julho de 2010 - $p = 0,064$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 88 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho 2010, Setembro 2010 e Abril 2011).

O género *Tylenchorynchus* foi encontrado em todos os campos do grupo Oceânico e em todas as épocas de amostragem, excepto para os campos Faldo e O'Connor nas amostragens de Julho de 2010 e Abril de 2011.

Nas amostragens de Julho de 2010 e Setembro de 2010, verificou-se que não existem diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,605$ e $p = 0,200$).

Na amostragem de Abril de 2011, houve diferenças significativas entre os diferentes campos de golfe. O campo de golfe Millennium foi significativamente diferente dos campos: Laguna, Old course e Pinhal, mas não foi tão significativamente diferente do campo Victória. Os campos Laguna e Pinhal não foram diferentes significativamente entre si. E o Campo de golfe Old Course é significativamente diferente dos campos: Victoria e Millennium, mas não tão significativamente para Pinhal e Laguna.

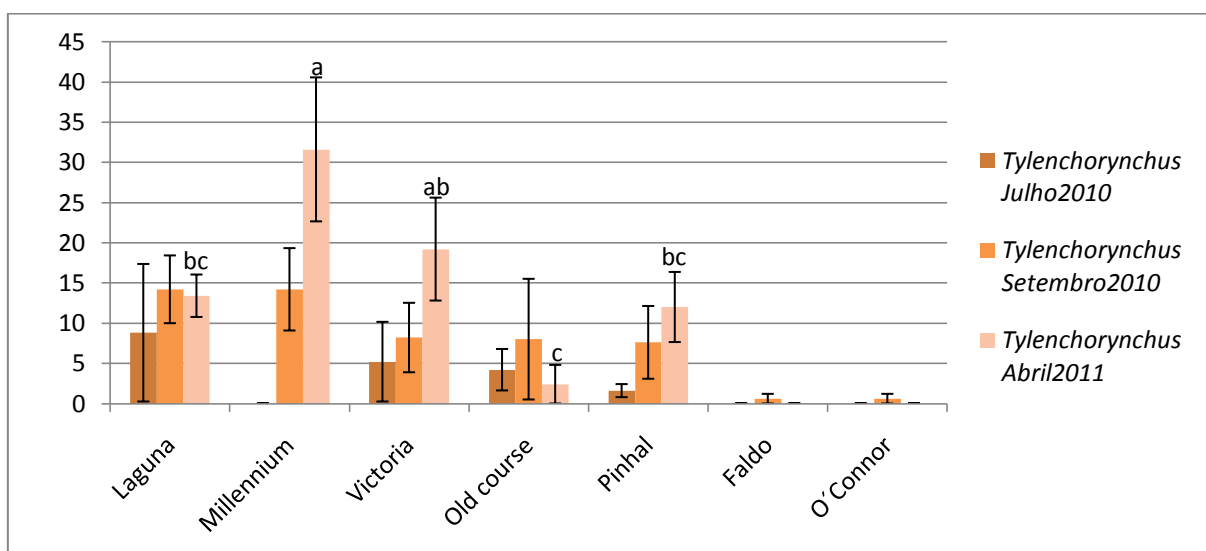


Figura 88 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Tylenchorynchus* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem. Para *Tylenchorynchus* em Julho de 2010 – $p = 0,605$; em Setembro de 2010 – $p = 0,200$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 89 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Xiphinema* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho 2010, Setembro 2010 e Abril 2011).

O género *Xiphinema* foi encontrado em todos os campos do grupo Oceânico e em todas as épocas de amostragem, excepto para Millennium em Julho de 2010.

Em todas as amostragens houveram diferenças significativas entre os campos de golfe.

Para a amostragem de Julho de 2010 observou-se que o campo de golfe Old Course foi significativamente diferente dos restantes campos de golfe. Os restantes campos de golfe não foram significativamente diferentes entre si.

Para a amostragem de Setembro de 2010 observou-se que o campo de golfe Old Course foi significativamente diferente dos restantes campos de golfe. O campo Victoria foi significativamente diferente dos outros campos excepto para o Pinhal onde não foi tão significativamente diferente. Os campos Laguna e Faldo não foram significativamente diferentes entre si.

Para a amostragem de Abril de 2011 observou-se que os campos Old Course e Faldo foram significativamente diferentes dos restantes campo. Os campos: Victoria e Millennium; Pinhal, Laguna e O'Connor não foram significativamente diferentes entre si.

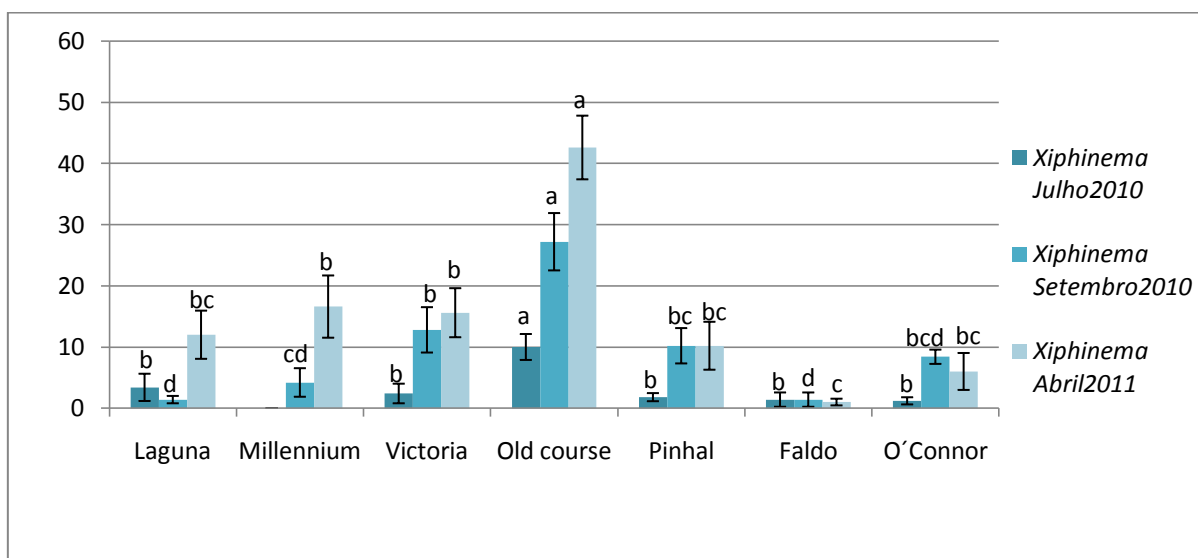


Figura 89 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da flutuação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Xiphinema* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan)

A Figura 90 corresponde aos valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem (Julho 2010, Setembro 2010 e Abril 2011).

O género *Hemicycliophora* foi encontrado em todos os campos do grupo Oceânico e em todas as épocas de amostragem, excepto para Faldo em Julho de 2010 e O'Connor Julho de 2010.

Em todas as amostragens houve diferenças significativas entre os campos de golfe excepto para a amostragem de Julho de 2010 onde se verificou que não existiram diferenças significativas entre os campos de golfe amostrados ($p = 0,460$).

Em Setembro de 2010 o campo Millennium foi significativamente diferente de todos os campos de golfe, excepto para o Pinhal onde não foi tão significativamente diferente. Entre os campos: Victoria e Old Course; Laguna, Faldo e O'Connor não existem diferenças significativas.

Na amostragem de Abril 2011 o campo Millennium foi significativamente diferente dos restantes. Os campos: Laguna, Victoria, Old Course, Pinhal, Faldo e O'Connor não foram significativamente diferentes entre si.

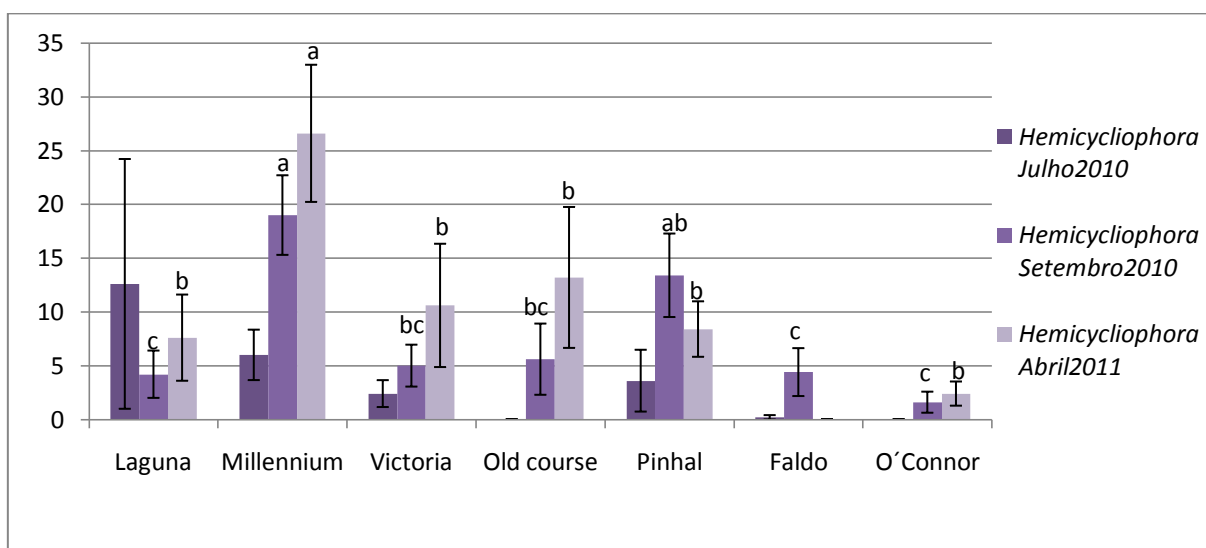


Figura 90 – Valores médios de indivíduos extraídos pelo método da fluturação centrífuga por 100 gramas de solo do género *Hemicycliophora* por campos de golfe do grupo Oceânico e por amostragem. Para *Hemicycliophora* em Julho de 2010 – $p = 0,460$. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a 95% (Teste de Duncan).

3.2.2. Discussão

Tal como para os campos anteriores, também em campos do mesmo grupo, como é o caso do Grupo Ocêânico têm diferenças significativas no que diz respeito a géneros e tempos de amostragem. Apesar destes campos terem gestão e métodos culturais iguais, as suas variedades de relvas (Tabela 8) e idades (Tabela 7) diferem entre si, daí que possam existir diferenças entre eles. As exepções verificaram-se para:

- Amostragem de Julho de 2010, género *Helicotylenchus* (Figura 86).
- Amostragem de Julho de 2010, género *Meloidogyne* (Figura 87).
- Amostragem de Julho de 2010 e Setembro de 2010, género *Tylenchorynchus* (Figura 89).
- Amostragem de Julho de 2010, género *Hemicycliophora* (Figura 90).

Este facto, confirma a tendência que os géneros *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchorynchus*, são os géneros mais comuns aos campos de golfe independentemente das características dos mesmos.

V – CONCLUSÃO

Eliminar nemátodes de um relvado é extremamente difícil, contudo, existem maneiras de evitar danos causados por nemátodes fitoparasitas. Um dos caminhos é um diagnóstico preciso e antecipado que permita a execução de uma manutenção eficaz de modo aos relvados apresentarem as melhores condições sanitárias.

Um dos primeiros objectivos deste trabalho era determinar de entre os vários métodos de extracção de nemátodes: método do funil de Baermann, método da raiz macerada e método da flutuação centrífuga, qual ou quais os métodos mais eficazes. Apesar da variabilidade da amostra (tipo de solo, material, crivagem) determinou-se que o método mais eficaz para todos os géneros encontrados, foi o método da flutuação centrífuga, o que está de acordo com a bibliografia que afirma ser o método mais independente das características de cada género, sendo possível com este método extrair qualquer tipo de nemátode fitoparasita.

Para um determinado género *Xiphinema* houve uma excepção, onde o método do funil de Baermann foi tão ou mais eficaz que o método da flutuação centrífuga. Isto acontece devido à elevada mobilidade que este género tem. Contudo, apesar deste resultado, continua-se a achar que o método mais representativo é o método da flutuação centrífuga uma vez que apresentou maior variedade e quantidade de géneros.

O segundo objectivo deste trabalho era determinar quais os géneros mais comuns de nemátodes fitoparasitas nos relvados de campos de golfe da região algarvia. Segundo este estudo ficou concluído que os nemátodes mais frequentes foram: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchorynchus*.

O género *Helicotylenchus* foi de todos os mais abundante aparecendo quase sempre em valores superiores a 100 indivíduos por 100 gramas de solo. Este género apesar de fitoparasita, tem a particularidade de ter baixo grau de patogenicidade, e por este motivo são raros sintomas de danos nos relvados a não ser que o seu número seja bastante elevado.

Está estipulado para a Europa e os Estados Unidos que o limite de dano é de 400 indivíduos por 100 gramas de solo. O que foi visível neste trabalho para alguns campos de golfe amostrados (campos de golfe Victoria e Pinhal) é que esse valor foi ultrapassado e não foram observados sintomas nos *greens*. Este facto leva-nos a concluir que deveriam ser feitos estudos de modo a adaptar melhor os limites de dano standardizados à realidade Portuguesa.

Meloidogyne foi o segundo género mais comum. Este género tem a particularidade de na Irlanda e Inglaterra ser de elevada patogenicidade sendo apenas precisos 20 indivíduos por 100 gramas de solo para causar danos severos nos relvados.

Tal como para o género *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* ultrapassou em muito esse limite de dano, tendo apenas sido visíveis danos (campo de golfe Pinhal) quando esta atingiu valores bastantes superiores (242 indivíduos por 100 gramas de solo). Mais uma vez se conclui que deveriam ser feitos trabalhos de modo a encontrar quais os limites de danos mais realistas para Portugal.

O terceiro género mais comum foi *Tylenchorynhus*. Este género também é bastante comum noutros países, contudo apareceu neste trabalho em números muito baixos.

Estes dados poderão sugerir que este género apesar de comum não representa ameaça para os relvados uma vez que tal como para o género *Helicotylenchus* spp., são precisos elevados números de indivíduos (300 indivíduos por 100 gramas de solo) para causar danos. No entanto deveriam ter sido feitas mais amostragens e em alturas diferentes.

Foram também encontrados em diferentes campos de golfe, os seguintes géneros: *Xiphinema*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus*, *Paratrichodorus*, *Hemicycliophora*, *Hemicriconemoides* e *Criconemella*. Contudo os valores encontrados são muito pequenos e muito pouco representativos, sugerindo que: deveriam ter sido feitas mais amostragens e em alturas diferente do ano para mais facilmente entender o seu ciclo de vida e o seu contributo para danos ou não nos greens.

O terceiro objectivo do trabalho era associar campos com os mesmos: métodos culturais e químicos, gestão, clientes, idades, tipos de relvas, e localização a diferentes géneros.

Este objectivo não foi atingido, todos os campos mostraram-se bastante diferentes entre si e mesmo onde não houve diferenças significativas, os dados recolhidos eram em número reduzido ou insuficientes, o que sugere que deveriam ter sido feitas mais amostragens e em épocas diferentes do ano. Segundo a bibliografia, as alturas de maiores danos são no final do verão e no início da Primavera, mas nem sempre neste trabalho essa regra foi confirmada o que sugere que deveriam ter sido feitas amostragens também no Inverno e Outono.

Onde os resultados foram mais elevados e onde não foram visíveis diferenças significativas foi para nos géneros: *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchorynchus*. Isto sugere mais uma vez que estes géneros são os mais comuns

estando distribuídos pelos campos de forma semelhante independentemente das suas características.

VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, G. S. And GUGINO, B. K. (2007). Soil sampling for plant-parasitic nematode assesment. Cornell University, USA.

AGRIOS, G.N. (2005). Plant Pathology, 5th ed. Academic Press, USA, 922 pp.

ALFARO, A. And GOHEEN, A.C., (1974). Transmission of strains of grapevine fanleaf virus by Xiphinema index. Plant Disease Reporter 58: 549 – 552 pp.

ALGARVE GOLFE, (2000). A Importância do golfe no Algarve, Almancil, não publicado.

ANÓNIMO (1996). Collecting and submitting soil samples; RPD nº 1100, May 1996, University of Illinois, USA.

ANÓNIMO (2000). Nematode parasites of turfgrass; RPD 1108: Report on plant disease. University of Illinois, USA.

ANÓNIMO (2008). Nematode diseases of plants; PP401.08: Agriculture and Natural Resources. Ohio State University, USA.

ANR-523. Nematode Pests on Turf: Their identification And Control. Alabama Cooperative Extention System.

AYOUB, S. M., (1980). Plant Nematology, an agricultural training aid. Sacramento, CA: Nema Aid Publications. 195 pp

BANNON, J.H. And INSERRA, R.N., (1990). Nematode vectors – Transmission of plant viruses. Fla. Dep. Agric. & Consumer Ser., Division of Plant Industry. Nematology Circular nº 178: 1 – 4 pp.

BARKER, K.R. (1985). Sampling nematode communities. Pp. 3-18 in K.R. Barker, C.C. Carter and J.N. Sasser (eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. II. Methodology. North Carolina State Univ. Graphs. Raleigh, N.C.

BARKER, K.R. (1985a). Soil Sampling methods and Procedures for field diagnosis. Pp. 11-20 in B. M. Zuckerman, W. F. Mai, And M. B. Harrison, eds. Plant Nematology laboratory manual. University of Massachussetts Agricultural Experiment Station, Amherst, MA.

BARKER, K.R. And NUSBAUM, C.J. (1971). Diagnosis and advisory programs. Pp. 281 – 301 in B. M. Zuckerman, W. F. Mai And R. A. Rhode, eds. Plant Parasitic Nematodes. Volume I. New York, NY: Academic Press.

BARKER, K.R., NUSBAUM, C.J. And NELSON, L.A. (1969). Effects of storage temperature and extraction procedure on recovery of plant-parasitic nematodes from field soils. Journal of Nematology 1: 240-247 pp.

- BARKER, K.R., HUSSEY, R.S., KRUSBERG, L.R., BIRD, G.W., DUNN, R.A., FERRIS, H., FERRIS, V.R., FRECKMAN, D.W., GABRIEL, C.J., GREWAL, P.S., MACGUIDWIN, A.E., RIDDLE, D.L., ROBERT, P.A. & SCHMITT, D.P. (1994). Plant and soil nematodes: societal impact and focus for the future. *Journal of Nematology* 26: 127 – 137 pp.
- BARRET, J. (1991). Anhydrobiotic nematodes pp. 161 – 176. *In* K. Evans [eds.]. *Agricultural Zoology Reviews*. Volume 4. Intecept, Andover, UK.
- BEARD, J. B. (1998). *Turf management for golf courses*. John Wiley & sons, inc. 2^o ed. 793 pp.
- BERGESON, G.B., (1972). Concepts of nematode – Fungus associations in plant disease complexes. *Experimental Parasitology* (32): 301 – 314 pp.
- BERGESON, G.B., ATHOW, K.L., LAVIOLETTE, F.A., And SISTER M. THOMASINE, 1964. Transmission, movement and vector relationships of tobacco ringspot virus in soybean. *Phytopathology* 54: 723-728 pp.
- BEZOOIJEN, J. (2006). *Methods and techniques for nematology*. Wageningen, 112 pp.
- BIRD, A. F. (1962). The inducement of giant cells by *Meloidogyne javanica*. *Nematologica* 8: 1 – 10 pp.
- BIRD, A. F. (1971). Specialized adaptations of nematodes to parasitism. Pp. 35 – 49 *in* B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Rohe [eds.], *Plant Parasitic Nematodes*. Volume II. Academic Press, New York.
- BIRD, A. F. And BIRD, J. (1991). *The structure of nematodes*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA.
- BIRD, A. F.; DOWNTOWN, J.S. And HAWKER, J.S. (1974). Cellulase secretion by second stage larvae of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Marcellia* 38: 165 – 169 pp.
- BRIDGE, J. And STARR, J.L. (2007). *Plant nematodes of agricultural importance: a color handbook*. Academic press, London, 152 pp.
- BRODIE, B.B. And QUATTLEBAUM, B.H. (1970). Vertical distribution and population fluctuations of three nematode species as correlated with soil temperature, moisture, and texture. *Phytopathology* 60: 1286 pp.
- BURSEY, P. (2003). Cultural management of weeds in turfgrass: A review. *Crop Science* 43(6): 1899-1911 pp.
- BYRD, D.W., BARKER, H. F., NUSBAUM, C.J., GRIFFIN, W.E. And STONE, A. (1976) - Two semi-automatic elutriators for extraction nematodes and certain fungi from soil. *Journal of Nematology* 8: 206 – 212 pp.

- CAVENESS, F.E. And JENSE, H.J. (1955). Modifications of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22: 87 – 89 pp.
- CELETTI, M. (2006). Sampling soil and roots for plants parasitic nematodes, Ministry of Agriculture Food & Rural Affairs of Ontario, Canada.
- CHAPMAN, R. F. (1971). *The insects structure and function*. American Elsevier Publishing Company, New York.
- CHEN, Z.X., CHEN, S.Y. And D.W. Dickson (2003). *Nematode Morphology, physiology and ecology: Nematology advances and Perspectives*, Vol.1. CABI Publishing, UK. 635pp.
- CHISTIE, J. R (1959). *Plant nematodes : their bionomics and control*. Agricultural Experiment Stations . University of Florida 256 pp.
- CHISTIE, J. R. And PERRY, V.G. (1955). Removing nematodes from soil. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 18: 106 – 108 pp.
- CHRISTINE, J. R. (1959). *Plant nematodes their bionomics and control*. Agricultural Experiment Stations, University of Florida, Gainesville, FL.
- CHRISTINE, J. R., GOOD, J.M. And NUTTER, G.C.(1954). Nematodes associated with injury to turf. *The Soil Science Society of Florida Vol XIV*: 167-169 pp.
- COLE, C. And COYNE, D. (2007). *Nematologia prática: um guia de campo e de laboratório*. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin
- COOPER, A. F. And VAN GUNDY, S. D. (1971). Senescence, quiescence and cryptobiosis. Pp. 297 – 318 in B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Rohe [eds.], *Plant Parasitic Nematodes*. Volume II. Academic Press, New York.
- CORREIA, A. And MARTINS, V., (2003). Competitividade e eficiência na indústria do golfe: O caso do Algarve. 85-101 pp.
- COUCH, H.B., (1995). *Diseases of turfgrass*, 3rd edition. Krieger Publishing Company, Malabar, Fl. 421 pp.
- COULD, A.B. (2008). Foliar nematodes. *Plant & Pest Advisory* 14 (9): 1 – 5 pp.
- CROLL, N. A. (1970). *The behavior of nematodes*. Edward Arnold, London.
- CROW, W.T., (2001). Nematode management for sod production in Florida. <http://edu.ifas.ufl.edu/IN125>.
- CROW, W.T. (2005). Plant-parasitic nematodes on golf course turf outlooks on pest management 16: 10 – 15 pp.

CROW, W.T., (2005a). Plant-parasitic nematodes on golf course turf outlooks on pest management 16: 277-282 pp.

CROW, W. T. (2005b). How bad are nematode problems on Florida's golf courses. Florida turf Digest. University of Florida, USA.

CROW, W.T., (2005c). Diagnosis of *Trichodorus obtusos* and *Paratrichodorus minor* on turfgrasses in the southern United States. Online Plant Health progress DOI 10.1094/PHP-2005-0121-01-DG.

CROW, W.T. (2007). Nematode management for golf courses in Florida, University of Florida, USA.

CROW, W.T. (2008). Understanding and managing plant-parasitic nematodes on turfgrass in M. Pessarakli (ed.) Turfgrass management and Physiology. Taylor and Francis Group. Boca Raton. Fl.

CROW, W.T. (2009). Lecture notes from class of plant nematodes. University of Florida, USA.

CROW, W.T. And BRAMMER, A. S. (2001). Sting nematode, *Belonolaimus longicaudatus* Rau (Nematoda: Secernentea: Tylenchida: Belonolaimidae). University of Florida, USA.

CROW, W.T. And Dunn, R.A. (2005). Introduction to Plant Nematology. University of Florida, USA.

DECRAEMER, W., KARANASTASI, E., BROWN, D.J. And BACKELJAU, T. (2003). Review of the ultrastructure of the nematode body cuticle and its phylogenetic interpretation. Biological Reviews 78: 465 – 510 pp.

DE LEY, P. And BLAXTER, M.L. (2002). Systematic position and phylogeny: Biology of nematodes. Taylor & Francis, London, pp. 1-30 pp.

DUNCAN, D.B. (1955). Multiple Range and Multiple F test. Biometrika, 11: 1-42 pp.

EISENBACK, J. D. (2002). Identification Guides for the most common genera of plant-parasitic nematodes. Virginia Polytechnic Institute State University, Virginia.

ELLIS, S.D., BOEHM, M.J. And RHODES, L.H. (2008). Nematode Diseases of plants. Agriculture and Natural Resources, Ohio State University.

EVANS, A. A. F. And PERRY, R. N. (1976). Survival strategies in nematodes. Pp. 386-424 in N. A. Croll [ed.], The Organization of Nematodes. Academic Press, London.

FLEMING, C.C. (2006). Major Nematode Threats to Turfgrass Production. VIII Congresso APG, Albufeira.

- FLEMING, C. C. (2008). Plant parasitic nematodes: a new turf war?. *Biologist* 55(2): 76 – 82 pp.
- FRECKMAN, D. W. (1982). Parameters of the nematode contribution to ecosystems. Pp 81 – 97 *in* D. W. Freckman, ed. *Nematodes in soil ecosystems*. Austin, TX: University of Texas Press.
- FRECKMAN, D. W., KAPLAN, D. W. And VAN GUNDY, S. D. (1977). A comparison of techniques for extraction and study of anhydrobiotic nematodes from dry soils. *Journal of Nematology* 9: 176 – 181 pp.
- GAUGLER, R. And BILGRAMI, A. L. (2004). *Nematode Behaviour*. CABi Publishing, UK, 419 pp.
- GHEYSEN, G.; VAN DER EYCKEN, W., BARTHELIS, N.; KARIMI, M. And VAN MONTAGU, M. (1996). The exploitation of nematode-responsive genes in novel nematode control methods. *Pesticide Science* 47: 95 – 101 pp.
- GOAD, C.L., ZHANG, H. And MARTIN, D.L. (2002). Factors associated with populations of plant-parasitic nematodes in bentgrass putting greens in Oklahoma, Oklahoma State University, USA.
- GOLINOWSKI, W.; GRUNDLER, F.M. And SOBCZAR, M. (1996). Changes in the structure of *Arabidopsis* during female development of the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *Protoplasma*, in press.
- GOMEZ, A. K. And GOMEZ, A.A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. John Wiley & Son, 2^o ed. 679 pp.
- GRAVATO, M.J. (2010). *Apontamentos das aulas do Mestrado em Manutenção de Campos de Golfe*, Universidade do Algarve.
- HAGAN, A. (1997). *Nematode pests of turf: Their identification and control*. Alabama Cooperative Extension System. ANR – 523.
- HARRISON, B.D., FINCH, J.T., GIBBS, A.J., HOLLINGS, M. SHEPHERD, R.J., VALENTA, V. And WETTER, C., (1971). Sixteen groups of plant viruses. *Virology* 45: 356-363 pp.
- HAYDU, J. And HODGES, A. (2002) *Economic dimensions of the Florida golf course industry*. Florida Cooperative Extension Service Document FE344. University of Florida, Gainesville, FL, USA.
- HEWITT, W.B., RASKI, D.J., And GOHEEN, A.C. (1958). Nematode as vector of soilborne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology* 48: 586-595 pp.

HOOPER, D. J. (1990). Extraction and processing of plant and soil nematodes. Pp 45 – 68 in M. Luc and R. A. Sikora And Bridge, J., eds. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, UK: CABI International.

HOOPER, D.J. And EVANS, K. (1993). Extraction, identification and control of plant parasitic nematodes. Pp 1 – 59 in K.Evans, D.L. Trudgill, And J.M. Webster, eds. Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Wallingford, UK: CAB International.

<http://economia.publico.pt>

<http://ocid.nacse.org/nematodes/index.php>

<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/gene>

HUANG, C.S. (1985). Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol.1, J.N. Sasser and C.C. Carter, eds (North Carolina state University Graphics), 155 – 164 pp.

HUANG, S.P. And PEREIRA, A.C. (1994). Influence of inoculum density, host, and low temperature period on delayed hatch of *Meloidogyne javanica* eggs. Journal of Nematology 26: 72 -75 pp.

HUSSEY, R.S. (1989). Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. Annual Review Phytopathology 27: 123 – 141 pp.

HUSSEY, R.S. And MIMS, C.W. (1991). Ultrastructure of esophageal glands and their secretory granules in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Protoplasma 156: 9 – 18 pp.

JENKINS, W.R. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant disease Reporter 48: 629 pp.

JONES, F.G.W. (1974). Control of nematode pests, background and outlook for biological control, in Price Jones. D.; Solomon, M.E. (editors) Biology in pest and disease control, 249 – 268 pp.

JONES, M.G.K. (1981). Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia. Annual Appl. Bio. 97: 223 – 229 pp.

JORDAN, K.S. And MITKOWSKI, N.A. (2006). Population dynamics of plant-parasitic nematodes in golf courses greens turf in Southern New England, University of Rhode Island, USA.

KARSSSEN, G., BOLK, R.J., VAN AELST, A.C., And VAN DEN BELD, I. (2004). Description of *Meloidogyne minor* n. sp., a root knot nematode associated with yellow patch disease in golf course. Nematology 6: 59-72 pp.

- KELSHEIMER, E. G. And OVERMAN, A. J. (1953). Notes on some ectoparasitic nematodes found attacking laws in the Tampa Bay area. Proc. Fla. Hort. Soc. 66: 301 – 303 pp.
- KORITSAS, V.M. And ATKINSON, H.J. (1994). Proteinases of female of the phytoparasite *Globodera pallida*. Parasitology 109: 357 – 365 pp.
- LAMBERT, G.L. And BEKAL, S. (2002). Introduction to plant-parasitic nematodes. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-2002-1218-01.
- LAMBERTI, F. And ROCA, F. (1987). Present status of nematodes as vector of plant viruses. Pp 321-328 in J.A. Veech and D.W. Dickson eds. Vistas on Nematology, Society of Nematologists, Inc. Hayattsville, MD.
- LAMBERTI, F., TAYLOR, C.E., And SEINHORST, J.W. (1975). Nematodes vectors of plant viruses. Plenum Press. 460 pp.
- LUC, J. E., And CROW, W.T., (2004). Sting nematode: Not a steward of the environment. Golf Course Management 72(9): 86–88 pp.
- MAI, W. F. And MULLIN, P. G. (1996). Plant-Parasitic Nematodes: A pictorial key to genera. Cornell University press, USA.
- MARTIN, B. (2008). Nematode control. In L.B. McCarty (ed.) 2009 Pest control guidelines for professional turfgrass managers. South Carolina Cooperative Extension Service. Clemson University. EC699.
- MASHELA, P., McSorley, L. W.Duncan And R. A. Dunn (1991). Correlation of *Belonolaimus longicaudatus* and *Hoplolaimus galeatus*, and soil texture with yield of alyceclover (*Alysicarpus spp.*). Nematropica 21: 177 – 184 pp.
- MCCARTY, L. B., (2001). Best golf course management practices. Prentice Hall, Upper Sadde River, NJ. 672 pp.
- MCCLURE, M.A. (1977). *Meloidogyne incógnita*: a metabolic sink. Journal of Nematology 9: 88 – 90 pp.
- MCGUIRE, J.M., (1973). Retention of tobacco rindspot vírus by *Xiphinema americanum*. Pytopathology 63: 324-326 pp.
- MCSORLEY, R. (1987). Extraction of nematodes and sampling methods. In Principles and Practice of Nematode Control in Crops (R.H. Brown, B.R. Kerry, eds.), 13-41 pp. Academic Press, Australia.
- MCSORLEY, R. (2003). Adaptations of nematodes to environmental extremes. Florida Entomologist 86(2): 138 – 142 pp.

- McSORLEY, R. And WALTER, D.E. (1991). Comparison of soil extraction methods for nematodes and microarthropods. *Agriculture Ecosystems and Environment* 34: 201 – 207 pp.
- MOTA, M., (1989). Extracção de nemátodes do solo e de tecidos vegetais. Universidade de Évora. 45 pp.
- MOTA, M., (1989a). Caracterização morfológica e identificação dos nemátodes-dos-quistos, *Heterodera* spp. e *Globodera* spp. (Nematoda: Eteroderidae). Universidade de Évora. 81 pp.
- MOTA, M. (2010). Apontamentos das aulas de fitoparasitismo, Universidade de Évora.
- PAPADOPOULOU, J. And TRIANTAPHYLLOU, A. C. (1982). Sex differentiation in *Meloidogyne incógnita* and anatomical evidence of sex reversal. *Journal Nematology* 14 : 549 – 566 pp.
- PATTON, A.; MOSELEY, D.; BATERMAN, R. And KIRKPATRICK, T. (1997). Nematode management in laws. *Agriculture and Natural Resources FSA6141*. University of Arkansas.
- PERRY, R.N. (1996). Chemoperception in plant parasitic nematodes. *Annual Review Phytopathology* 34, in press.
- PERRY, V.G. (1965). Host-parasite relationships of certain nematodes and crop plants in Florida. *Fla. Agric. Exp. Stn. Ann. Rep.*: 115-116 pp.
- PERRY, R.N. And MOENS, M. (2006). *Plant Nematology*. CABI Publishing, UK. 447pp.
- PETRIA, L. (2000). Biochemical mechanisms of plant nematode resistance. *Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Le Rheu* vol 10(3): 221 – 223 pp.
- PICKUP, J. And ROTHERY P. (1991). Water-loss and anhydrobiotic survival of nematodes of Antartic fellfields. *Oikos* 61: 379 – 388 pp.
- POWELL, N.T., (1971). Interactions Between Nematodes and Fungi in Disease complexes. *Annual Review of Phytopathology*, Vol 9: 253 – 271 pp.
- PROT, J.C. And VAN GUNDY, S.D. (1981). Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second-state juveniles. *Journal of Nematology* 13: 213-217 pp.
- RILEY, I. T. (2008). *Anguina tricini* is a potencial vector of *Clavobacter toxicus*. *Australasian Plant Pathology* (21):147 – 149 pp.

- ROBBINS, R.T. And BARKER, K.R. (1974). The effects of soil type, particle size, temperature, and moisture on reproduction of *Belonolaimus longicaudatus*. Journal Nematology 6: 1 – 6 pp.
- ROBINSON, A. F. And HEADL, C. M. (1989). Accelerated movement of nematodes from soil in Baermann funnels with temperature gradients. Journal of Nematology 21: 370 – 378 pp.
- RODRIGUEZ-KABANA, R. And KING, P. S. (1975). Efficiency of extraction of nematodes by flotation-sieving using molasses and sugar and by elutriation. Journal of nematology 7: 54 – 59 pp.
- SANTOS, M.S. And LIMA, M.B. (1985). Fitonematologia: Curso de aperfeiçoamento de patologia das plantas tropicais e subtropicais. Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, Oeiras.
- SCHRECK REIS, C. FREITAS, H. And VAN DER PUTTEN, W.H. (2005). Plant-parasitic nematodes associated with *Ammophila arenaria* (L.) link is Portuguese coastal sand dunes. Nematology Medit. 33: 11 – 18 pp.
- SCHMITT, D.P. And BARKER, K.R. (1981). Damage and reproductive potentials of *Pratylenchus brachyurus* and *P. penetrans* on soybean. Journal of Nematology 13: 327-332 pp.
- SHIH, J. J., PLATZER, E. G. THOMPSON, S. N. And CARROL, E. J. (1996). Characterization of key glycolytic and oxidative enzymes in *Steinernema carpocapsae*. Journal of Nematology 28: 431 – 441 pp.
- SHURTLEFF, M. C. And AVERRE, C. W. (2000). Diagnosing Plant Diseases Caused by Nematodes. American Phytopathological Society, 187 pp.
- SIDDIQI, M.R. (2000). Tylenchida. Parasites of plants and insects. 2 nd edition. CABI, Walling Ford. 833 pp.
- SIJMONS, P.C.; ATKINSON, H.J. And WYSS, U. (1994). Parasitic strategies of root nematodes and associated host cell responses. Annual Review Phytopathology 32: 235 – 259 pp.
- SIKORA, E. J. And Noel, G.R. (1996). Hatch and emergence of *Heterodera glycines* in root leachate from resistant and susceptible soybean cultivars. Journal of Nematology 28: 501 – 509 pp.
- SIKORA, E. J., GUERTAL, E. A. and BOWEN, K. L. (2001). Plant-parasitic nematodes associated with hybrid bermudagrass and creeping bentgrass putting greens in Alabama. Auburn University, USA..

- SLEETH, B. And REYNOLDS, H. W. (1978). Root knot nematode infection as influenced by soil texture. *Soil Science* 80: 459-461 pp.
- SMART, G.C. And NGUYEN, K.B. (1988). Illustrated key for the identification of common nematodes in Florida. Entomology & Nematology Department. Institute of Food and Agricultural Sciences, 40 pp.
- SMILEY, R.W., DERNOEDEM, P.H. And CLARKE, B.B. (1992). Compendium of turfgrass Diseases. Second edition. APS Press, St. Paul, MN.
- SOUTHEY, J.F. (1986). Principles of sampling for nematodes. Pp 1 – 4 in J.F. Southey (ed.). *Laboratory Methods for Working with Plant and Soil Nematodes*. Sixth ed. Her Majesty's Stationary Office. London.
- SPARKS, A. H. (2008). Ecology and Epidemiology. *In Disease Progress over Time. The Plant Health Instructor* DOI: 10.1094/PHI-A-2008-0129-02
- STIRLING, G. (2006). Managing nematodes pests on turfgrass. *Australian Turfgrass Management*: 44 – 48 pp.
- TODD, T. C. (1990). Occurrence, spacial distribution, and pathogenicity of some phytoparasitic nematodes on creeping bentgrass putting greens in Kansas. Kansas State University, USA.
- TOWNSHEND, J.L. (1972). Influence of edaphic factors on penetration of corn roots by *Pratylenchus penetrans* and *P. minyus* in three Ontario soils. *Nematologica* 18: 201-212 pp.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C. (1973). Environmental sex differentiation of nematodes in relation to pest management. *Annual Review Phytopathology* 11: 441 – 462 pp.
- TROXLER, S. (2008). Sampling for plant-parasitic nematodes, Department of Agriculture of North Carolina, USA.
- TRUDGILL, D.L. (1991). Resistance and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual review Phytopathology* 29: 167 – 193 pp.
- TYTGAL, T., DE MEUTTER, J., GHEYSEN, G. And COOMANS, A. (2000). Sedentary endoparasitic nematodes as a model for the other plant parasitic nematodes. *Nematology* 2: 113 – 121 pp.
- VAN GUNDY, S.D. (1985). Ecology of *Meloidogyne spp.* – Emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. *In* J. N. Sasser and C. C. Carter eds. *Advanced Treatise on Meloidogyne* Vol. 1: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC. USA.

VIGLIERCHIO, D.R. And SCHMITT, R.V. (1983). On the methodology of nematode extraction from field samples: comparison of methods for soil extraction. *Journal of nematology* 15(3): 450 – 454 pp.

WALLACE, H.R. (1968). The dynamics of nematode movement. *Annual Review of phytopathology* 6: 91 – 114 pp.

WALLACE, H.R. (1973). *Nematode ecology and plant disease*. Edward Arnold, London.

WALKER, T. And TSUI, T. (1968). Induction of ovoviviparity in *C. rhabditis* by sulfur dioxide. *Nematologia* 14: 148 – 149 pp.

WESTERDAHL, B.B., Harivandi, M.A. And COSTELLO, L.R. (2003). Biology and Management of nematodes on turfgrass in Northern California. *USGA, Green Section Record*: 7-10 pp.

WHARTON, D.A. (1986). *A functional biology of nematodes*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.

WIGGERS, R.J.; STARR, J.L. And PRICE, H.J. (1990). DNA content and variation in chromosome number in plant cells affected by *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne arenaria*. *Phytopathology* 80: 1391 – 1395 pp.

WILLIAMS, T.D. And BRIDGE J. (1983). Plant-parasitic nematodes *in* *Plant Pathologist's pocketbook*. Commonwealth Mycological Institute, UK. pp 225 – 249.

WILLIAMSON, V.M. And HUSSEY, R.S. (1996). Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell* 8: 1735 – 1745 pp.

WINSLOW, R.D., (1961). Laboratory and field studies on the relation of arabis mosaic virus to its nematode vector *Xiphinema diversicaudatum*. *Annals of Applied Biology* 49: 621-633 pp.

WOMERSLEY, C. And CHING, C. (1989). Natural dehydration regimes as prerequisite for the successful induction of anhydrobiosis in the nematode *Rotylenchulus reniformis*. *Journal Exp. Biol.* 143: 359 – 375 pp.

www.wormathlas.org

YEATES, G.W. And BONGERS, T. (1999). Nematode diversity *in* agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* (74)1: 113-135 pp.

ZAR, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. 3 rd Ed.. Prentice Hall International, Inc., New Jersey, U.S.A..