



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA — MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU
Belém, PA.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A COLETA DE AMOSTRAS PARA EXAME FITOPATOLÓGICO

Belém, PA

1986

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA — MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU
Belém, PA.



**CONSIDERAÇÕES SOBRE A COLETA DE AMOSTRAS
PARA EXAME FITOPATOLÓGICO**

Francisco das Chagas de Oliveira Freire

EMBRAPA-CPATU. Documentos, 37

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à
EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n

Telefones : (091) 226-6622, 226-6612

Telex : (091) 1210

Caixa Postal, 48

66000 — Belém, PA

Tiragem : 500 exemplares

Comitê de Publicações: Célio Francisco M. de Melo - Presidente
Francisco José Câmara Figueirêdo
João Olegário P. de Carval'ho
Jonas Bastos da Veiga
Milton G. da Costa Mota
Nazira Leite Nassar
Paulo Choji Kitamura
Raimundo Freire de Oliveira
Ruth de Fátima Rendeiro Palheta
Tatiana Deane de Abreu Sá Diniz

Freire, Francisco das Chagas de Oliveira

Considerações sobre a coleta de amostras para exame fitopatológico. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1986.

16p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 37).

1. Planta — Doença — Diagnóstico. I. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido. II. Título. III. Série.

CDD : 581.2

S U M Á R I O

INTRODUÇÃO	5
OBTENÇÃO DE INFORMAÇÕES	6
COLETA, PRESERVAÇÃO E REMESSA DO MATERIAL VEGETAL .	10
COLETA, PRESERVAÇÃO E REMESSA DE AMOSTRAS DE SOLO .	12
CONCLUSÕES	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

CONSIDERAÇÕES SOBRE A COLETA DE AMOSTRAS PARA EXAME FITOPATOLÓGICO

Francisco das Chagas de Oliveira Freire¹

O fitopatologista é comumente chamado a observar, diagnosticar e quase sempre dar sugestões acerca de como corrigir os problemas ocorrentes nos plantios. Tais problemas podem freqüentemente não serem devido a fitomoléstias, o que entretanto não elimina a importância de se conhecer se o problema é causado ou não por uma doença. De acordo com o julgamento do fitopatologista, a causa e a solução do problema podem significar a diferença entre o lucro e o prejuízo para o agricultor, especialmente considerando-se os elevados custos de produção atuais.

O diagnóstico de doenças de plantas é indispensável quando se deseja conhecer fitomoléstias que ocorrem em determinados estádios de crescimento das plantas, suas distribuições em épocas particulares do ano e sob certas condições ambientais. O diagnóstico correto é essencial para se planejar medidas eficazes de controle da doença. O diagnóstico mais preciso, evidentemente, é aquele o qual a inspeção e a coleta de amostras são realizadas "in loco" pelo próprio especialista. Um observador atento e experiente pode obter dados valiosos, os quais contribuem para todo o processo de identificação da fitomoléstia. Entretanto, nem sempre é viável a presença do especialista no local do problema, máxime nas condições da Amazônia, onde as diversas culturas estão distribuídas por extensas áreas, a distâncias praticamente impossíveis de serem alcançadas em prazo hábil. Tal situação é mesmo bastante comum, considerando-se,

¹ Eng. Agr. Ph.D. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48. CEP 66000. Belém, PA.

ademais, o reduzidíssimo número de fitopatologistas em atividade na região amazônica.

Pelo exposto, a situação mais freqüentemente encontrada é o exame, pelo fitopatologista, de amostras coletadas por outras pessoas, normalmente agrônomos, com diferentes especialidades, extensionistas ou mesmo os próprios agricultores interessados. Assim, a necessidade de se coletar amostras que representem o mais próximo possível a situação observada no campo, na sementeira ou viveiro ou mesmo na casa de vegetação, assume caráter decisivo para a correta identificação do organismo envolvido no processo infeccioso e, em última análise, de todo o processo dinâmico que caracteriza uma fitomoléstia. Por outro lado, existe pouco ou nenhum mérito em se analisar acuradamente poucas amostras ou mesmo um número elevado de amostras quando as mesmas foram incorretamente coletadas. É por demais reconhecido entre os fitopatologistas, a dificuldade de se analisar amostras coletadas por pessoas não familiarizadas com a atividade fitopatológica. Tais amostras, em sua grande maioria, chegam aos laboratórios deterioradas e sem condições de ensejar um exame preciso, quase sempre por terem sido imprópriamente coletadas e/ou acondicionadas de maneira inadequada.

Este trabalho enfoca os métodos de coleta e preservação de amostras de interesse fitopatológico, com o intuito de melhor instruir a amostragem e, por consequência, facilitar ao fitopatologista a idealização de um quadro realístico acerca da fitomoléstia e da necessidade da indicação ou não de medidas para seu controle.

OBTENÇÃO DE INFORMAÇÕES

O primeiro passo antes da coleta e posterior diagnose de uma fitomoléstia é se obter uma perspectiva da situação ocorrente no campo, na sementeira ou viveiro ou na casa de vegetação. Esta etapa inicial envolve uma cuidadosa inspeção das plantas, bem como uma entrevista com o agricultor ou proprietário, a fim de se conhecer a estória do plantio. No caso de o próprio agricultor ser também o coletor do material, ele melhor que nin

guém deverá prestar as informações pertinentes ao problema observado. Como freqüentemente os agricultores desconhecem a importância das informações a serem fornecidas, cabe ao extensionista, quase sempre, ou a quem mais coletar o material, obtê-las do modo mais fiel possível. A retrospectiva do plantio e a correta descrição dos sintomas, como eles se apresentam "in loco", são de importância equivalente a uma perfeita amostragem do material a ser analisado.

Ao se iniciar a obtenção de informações, há de se atentar para a determinação da distribuição da doença. Este aspecto poderá identificar se o agente causal da doença é de hábito aéreo e/ou de solo. Se as plantas doentes estão espalhadas regularmente em uma determinada área isto pode sugerir tratar-se de um patógeno de hábito aéreo. Caso as plantas doentes se distribuam em pequenas áreas circulares pode ser uma indicação de parasitismo por organismos de hábito de solo, como certos fungos, nematóides ou bactérias, ou ainda os distúrbios podem ser devido a descargas elétricas (raios). Áreas de plantas doentes irregularmente espalhadas também podem ser causadas por patógenos de hábito de solo. Por outro lado, uma diversidade enorme de fatores pode causar sintomas semelhantes, confundindo e dificultando a obtenção de informações. Algumas vezes, os sintomas precipitadamente atribuídos a fitomoléstias são na realidade ocasionados por fatores abióticos (não causados por organismos), tais como implementos agrícolas, aplicação errônea de defensivos, agrotóxicos, herbicidas ou, de modo bastante comum, sintomas causados por deficiência de macro e micronutrientes, presença de elementos tóxicos no solo ou mal drenagem do solo. Ataques ocasionados por insetos são muitas vezes confundidos com fitomoléstias. Nestes casos, porém, a obtenção de informações a amostragens corretas serão decisivas para que o fitopatologista encontre a causa definitiva do problema. Nas partes 1 e 2 da Tabela 1 encontram-se expostas perguntas indispensáveis as quais deverão ser formuladas quando da coleta do material a ser examinado.

TABELA 1. Ficha de informações (partes 1 e 2) a ser preenchida durante a coleta de amostras de partes vegetais ou solo.

PARTE 1 (INFORMAÇÕES GERAIS)

Nome do proprietário ou interessado _____

Local e data da coleta _____

Nome vulgar e/ou científico da planta _____

Idade da planta _____

Procedência das sementes ou mudas _____

Área cultivada _____

Porcentagem aproximada de ataque _____

Cultura plantada anteriormente _____

Tratamento fitossanitário

Fungicida (dosagem, intervalo de aplicação) _____

Inseticida (dosagem, intervalo de aplicação) _____

Outros (dosagem, intervalo de aplicação) _____

Adubação

Fórmula _____

Época de aplicação _____

Tipo de solo

Arenoso _____

Argiloso _____

Argilo-arenoso _____

Drenagem (ruim, razoável, boa, excelente) _____

Clima (atualmente)

Seco _____

Úmido _____

TABELA 1. (continuação)

PARTE 2 (SINTOMAS OBSERVADOS)

Na planta em geral

Murcha total ou parcial _____

Amarelecimento _____

Desfolhamento _____

Podridão _____

Morte _____

Nas folhas

Queima total ou parcial _____

Clorose total ou parcial _____

Manchas arredondadas ou irregulares _____

Enrugamento _____

Cortadas ou perfuradas _____

No caule e raízes

Lesões deprimidas ou não _____

Lesões secas ou úmidas (resinas, gomas) _____

Galerias ou perfurações _____

Podridão _____

Nos frutos

Podridão seca ou úmida _____

Localização das lesões (apical, peduncular, generalizada) _____

Características das lesões (superficiais, profundas) _____

Queda precoce dos frutos _____

Fendilamentos ou rachaduras _____

Perfurações _____

COLETA, PRESERVAÇÃO E REMESSA DO MATERIAL VEGETAL

É sempre oportuno ressaltar a necessidade de uma amostragem representativa do problema, tal como se apresenta "in loco". Fitopatógenos raramente atacam uniformemente populações de plantas, de sorte que o modo e o período de desenvolvimento da doença variam entre as plantas dentro da mesma população. Assim, algumas plantas estarão mortas e apodrecidas, enquanto outras estarão mostrando, ainda, os sintomas iniciais da doença ou mesmo sem qualquer sintoma visível, muito embora já estejam infectadas. Sem dúvida, as amostras mais importantes são aquelas coletadas quando as plantas exibem os sintomas iniciais da doença ou das alterações as quais se supõem tratar-se de uma doença. Com efeito, tais amostras, no caso de realmente representarem uma fitomoléstia, contêm quase sempre apenas o organismo causal (patógeno), facilitando o isolamento e a identificação do patógeno, quando necessários. Amostras coletadas a partir de plantas já completamente mortas (dessecadas) ou em decomposição normalmente não possuem qualquer valor fitopatológico, posto que mostram-se totalmente invadidos por organismos secundários (organismos os quais nenhuma relação apresentam com o quadro sintomatológico inicial).

A decisão de coletar plantas inteiras ou apenas partes da planta como amostras requer certos critérios. Se a doença mostra-se localizada, como manchas necróticas, então a coleta de folhas, parte dos ramos ou frutos individuais é suficiente. Nos casos em que a doença apresenta-se espalhada pela planta, normalmente necessitam-se secções consideráveis do caule e raízes ou mesmo plantas inteiras. Evidentemente, algumas particularidades precisam ser destacadas. No caso de plantas hortícolas, mudas, plantas envasadas ou outras plantas herbáceas não existem inconvenientes em se coletar a planta inteira. Na realidade, a coleta total da planta é mesmo recomendado quando se tratam de sintomas típicos de murcha ou mesmo nos casos em que os sintomas aparentemente não caracterizam uma fitomoléstia. Em se tratando de plantas perenes ou de árvores, logicamente, a coleta e a remessa de plantas inteiras tornam-se praticamente im

possíveis. Em tais situações devem-se escolher as partes vegetais de onde o provável patógeno deverá ser mais facilmente encontrado. Em tais circunstâncias, as partes coletadas (raízes, secções do caule ou ramos, folhas e frutos) deverão estar apresentando os sintomas iniciais do problema a fim de que o isolamento do patógeno (se for o caso), no laboratório, possa ser realizado a partir da zona de transição entre os tecidos infectados e os tecidos ainda aparentemente saudáveis.

Materiais coletados a partir de plantas hortícolas ou de outras plantas herbáceas deverão ser colocados em sacos de papel, fechados, devidamente etiquetados (identificados) e remetidos o mais rápido possível ao laboratório, acompanhados da ficha de informações. Sacos plásticos poderão também ser utilizados para o acondicionamento do material, mas apenas no caso de as amostras serem examinadas possivelmente no mesmo dia. O motivo é que, no interior dos sacos plásticos, o teor de umidade torna o ambiente extremamente favorável ao desenvolvimento de organismos secundários. No caso de se dispor apenas de sacos plásticos para a coleta e a remessa do material vegetal, e para diminuir o inconveniente mencionado anteriormente, diversos orifícios deverão ser feitos nos sacos a fim de eliminar o excesso de umidade interior, além de não se fechar por completo os sacos. Um período superior a 48 horas, entre a coleta e a chegada do material ao laboratório, poderá tornar as amostras imprestáveis para o exame fitopatológico, em virtude do secamento das amostras (no caso de folhas e ramos), de sua deterioração (órgãos suculentos) ou do excessivo crescimento de organismos secundários. Caso as amostras não possam ser remetidas no mesmo dia para o laboratório elas deverão ser mantidas em geladeira, fora do congelador, até que possam ser enviadas para o exame. Sempre que possível, entretanto, as amostras deverão ser coletadas e remetidas imediatamente para exame. No caso das amostras coletadas necessitarem percorrer um longo percurso entre o local da coleta e o laboratório, elas poderão ser mantidas em boas condições para o exame desde que acondicionadas em sacos plásticos (não perfurados) e mantidas dentro de uma caixa de isopor com cubos de gelo.

Partes vegetais coletadas a partir de plantas perenes e árvores (troncos, secções do caule, secções do estipe, raízes, folhas ou frutos) poderão ser remetidas ao laboratório em caixas grandes de papelão ou mesmo em sacos novos de serapilheira. A melhor forma de acondicionar o material depende do meio de transporte do local de coleta ao laboratório. Uma embalagem melhor protegida torna-se necessária quando as amostras são remetidas por transporte aéreo. Quando enviadas pelo serviço normal de correios, em virtude da demora freqüente de alguns dias, as amostras chegam ao laboratório na grande maioria das vezes já sem condições para uma diagnose precisa. Qualquer que seja o meio de transporte utilizado para a remessa das amostras para exame fitopatológico, o aspecto mais importante é mesmo o período decorrido entre a coleta e a chegada ao laboratório, o qual não deverá nunca ser superior a 48 horas.

COLETA, PRESERVAÇÃO E REMESSA DE AMOSTRAS DE SOLO

A coleta de amostras de solo para exame fitopatológico justifica-se, somente, quando suspeita-se do ataque de nematóides às partes subterrâneas das plantas. Os danos e os sintomas causados por fitonematóides podem ser facilmente reconhecidos no caso de ataque por nematóides das galhas (nematóides que causam tumores nas raízes). Entretanto, a grande maioria dos danos causados por fitonematóides é de difícil diagnose em condições de campo. Muito embora os nematóides possam estar infectando as plantas, os sintomas nem sempre são visíveis na parte aérea. Por outro lado, quando os sintomas são visíveis na parte aérea das plantas, eles podem ser confundidos com sintomas causados por outros organismos, pela toxicidade de elementos no solo ou por deficiência de macro e micronutrientes. Em virtude da dificuldade em se diagnosticar os danos causados pelos nematóides, apenas com base nos sintomas visuais em condições de campo, é que as amostras de solo são processadas em laboratório a fim de se determinar os nematóides presentes. Este exame requer métodos microscópicos em face do diminuto tamanho dos nematóides.

Amostras de solo para exame nematológico devem ser coletadas sempre que as plantas mostrem-se com crescimento reduzido, plantas com sintomas de deficiência mineral, geralmente formando áreas distintas dentro do plantio, plantas com baixa produção e cloróticas. As amostras de solo devem ser coletadas de modo consistente. Amostras separadas devem ser coletadas a partir de áreas onde as plantas exibam os sintomas suspeitos do ataque, bem como de áreas onde as plantas estão aparentemente saudáveis. Amostras de raízes, principalmente raízes secundárias (mais finas), devem ser coletadas juntamente com o solo, evitando-se raízes necrosadas, posto que, em tais raízes, dificilmente serão encontrados nematóides, os quais já migraram para o solo ou foram destruídos durante a decomposição radicular.

Normalmente as amostras de solo poderão ser coletadas juntamente com as raízes, sem que as plantas sejam destruídas. Contudo, não existe inconveniente em se coletar a planta inteira, da qual deverão ser aproveitados apenas o sistema radicular e amostra de solo da rizosfera (solo em torno das raízes). Somente a amostra de solo, juntamente com uma amostra de raízes, entretanto, são suficientes para se ter uma idéia realística acerca do nível populacional dos nematóides ocorrentes no solo.

A exemplo das amostras de partes vegetais, as amostras de solo devem ser representativas das áreas de onde foram coletadas. Um número consistente de amostras deve ser coletado por área amostrada. Um total de 2 kg de solo e 20 g de raízes por hectare, coletados a partir de quinze diferentes pontos da área, são suficientes para a amostragem do problema. Ao final da coleta, todo o solo deverá ser misturado e uma subamostra de 500 g apenas deverá ser remetida ao laboratório para exame. Logicamente, o mesmo deverá ser feito com relação às áreas do mesmo plantio onde as plantas se mostram aparentemente saudáveis.

Para que as amostras de solo possam ser coletadas, torna-se necessário que o solo e as raízes superficiais sejam rejeitados. A razão para tal procedimento é que em virtude da rápida flutuação de temperatura e

umidade na superfície dos solos o número de nematóides varia enormemente. Após a limpeza da camada superficial, as amostras deverão ser coletadas nos primeiros 20 cm do solo. Para a coleta das amostras poderá ser utilizado qualquer tipo de trado ou, mais comumente, uma pá de transplantio ou mesmo um enxadeco. Durante a coleta, as amostras poderão ser colocadas em um balde plástico ou em um saco plástico de 5 kg. Ao final da coleta, após a mistura das amostras, uma subamostra de 500 g deverá ser acondicionada em saco plástico, bem fechado para evitar a dessecação, devidamente identificada e remetida o mais rápido possível ao laboratório, acompanhada da ficha de informações (Tabela 1). Do mesmo modo que as amostras de partes vegetais, as amostras de solo deverão chegar ao laboratório em um período não superior a 48 horas após a coleta. Caso as amostras tenham de viajar grandes distâncias entre o local de coleta e o laboratório de exame, elas deverão ser acondicionadas em uma caixa de isopor com cubos de gelo. As amostras não deverão nunca ficar expostas à luz solar direta nem serem transportadas nos porta-malas dos carros, onde as temperaturas excessivas poderiam inativar um número considerável de nematóides, mascarando o resultado final da avaliação populacional.

CONCLUSÕES

O período entre a detecção de uma fitomoléstia e a constatação de seus prejuízos sobre o plantio é geralmente reduzido, principalmente nos casos em que plantas de ciclo curto estão envolvidas. Assim, torna-se imperioso um rápido diagnóstico por parte do fitopatologista a fim de que as possíveis medidas de controle sugeridas possam ser adotadas em tempo hábil. Entretanto, para que o plano de controle seja eficientemente estabelecido é indispensável, antes de tudo, que sejam realizadas amostragens consistentes, preservação e remessa do material coletado. É objeto do presente documento alertar os interessados, em sua grande maioria extensionistas rurais, para a importância da coleta de amostras realmente representativas do problema, a par da não menos importante coleta de informações no próprio local

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYOUB, S.M. **Plant nematology**; an agricultural training aid. Sacramento, NemaAid Publication. 1980. 195p.
- GONZALEZ, L.C. **Introducción a la fitopatología**. San José, IICA, 1976. 148p. (IICA. Libros y materiales educativos, 29).
- HEALD, F.D. **Introduction to plant pathology**. New York, McGraw-Hill, 1937. 579p.
- HORSFALL, J.G. & COWLING, E.B. **Plant disease**; an advanced treatise. New York, Academic, 1977. v.1. 465p.
- SHURTLEFF, M.C. **How to control plant disease in home and garden**. 2.ed. Ames, Iowa State University, 1966. 649p.
- SOUTHEY, J.F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. London, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Her Majesty's Stationery Office, 1970. 148p. (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Her Majesty's Stationery Office. Technical Bulletin, 2).
- STREETS, R.B. **The diagnosis of plant diseases**; a field and laboratory manual emphasizing the most practical methods for rapid identification. Tucson, the University of Arizona, 1975. 130p.
- STROBEL, G.A. & MATHRE, D.E. **Outlines of plant pathology**. New York, Van Nostrand Reinhold. 1970. 465p.
- YUITE, J. **Plant pathological methods**. Minnesota, Burgess Publishing, 1969. 239p.



Falangola Editora

**Trav. Benjamin Constant, 675
c/ Aristides Lobo
Tels.: 224-8166 - 8012
Belém - Pará**