



Método de Amostragem para Estimar Incidência de Frutos com Infecções Latentes de *Glomerella cingulata* e *Botryosphaeria dothidea* em Pomares de Macieiras¹

Ana Beatriz Costa Czermainski²
Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza³

Os modernos sistemas produtivos agrícolas, tal como a Produção Integrada de Frutas, preconizam o uso de tecnologias de baixo impacto ambiental bem como a preservação da saúde do consumidor e dos agentes envolvidos em todas as etapas do processo produtivo. Por outro lado, para viabilizar o sistema produtivo de frutas é necessário o uso de agroquímicos, os quais acarretam riscos para o ambiente e para o homem. Considera-se que uma forma de reduzir agroquímicos consiste em racionalizar o seu uso, embasando a decisão de intervenção no monitoramento dos componentes biológicos e ambientais que condicionam a ocorrência de epidemias.

O monitoramento, como ferramenta de manejo integrado de pragas, vem sendo utilizado maciçamente em fruteiras, mas o seu desenvolvimento maior diz respeito a insetos e são poucos os trabalhos científicos que têm estudado seus componentes para o caso de doenças. A amostragem para dados de incidência é um desses componentes e é de fundamental interesse para estudos epidemiológicos que visem diagnósticos precisos e intervenções seguras no manejo de doenças de plantas. As estratégias de manejo integrado de doenças dependem do conhecimento da dinâmica da população dos patógenos ou de seus efeitos no campo. Para

tanto, medidas precisas da severidade ou da incidência das doenças são essenciais e dependem de planos amostrais específicos. No entanto, mesmo em estudos que envolvem monitoramento, a amostragem não é um aspecto explorado.

Verões quentes e úmidos são condições comuns na área de produção de maçãs do Brasil e favorecem o desenvolvimento de inúmeras doenças fúngicas, principalmente a podridão amarga (*Glomerella cingulata*) e a podridão branca (*Botryosphaeria dothidea*), conhecidas como doenças de verão e que têm como característica comum a de apresentar uma fase de infecção latente (Boneti et al., 1999). Nas últimas safras, nos pólos produtores do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, perdas elevadas de frutos têm ocorrido, tanto nos pomares como durante o período de pós-colheita, devido a essas doenças, destacando-se a podridão branca das maçãs, que afeta principalmente a cv. Fuji.

Estudos recentes desenvolvidos no país (Embrapa Uva e Vinho, dados não publicados) têm definido aspectos relacionados ao controle químico, à origem do inóculo, ao modo de disseminação e a métodos de tratamento dos frutos para detecção da infecção latente de *B. dothidea*.

¹ Resultados parciais de pesquisa financiada pela FAPERGS, CNPq e ABPM.

² Eng. Agron., M. Sc., Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves, RS. (ana@cnpuv.embrapa.br).

³ Eng. Agron., PhD, Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves, RS. (rosa@cnpuv.embrapa.br).

O desenvolvimento de um método de estimação da incidência de infecções latentes, na fase de pré-colheita, é desejável para avaliar a eficácia do método utilizado no manejo da doença em cada local e para programar a comercialização e o tempo de armazenamento da fruta, conforme a taxa de perda causada pela doença durante o armazenamento a frio.

Não há informações sobre a estratégia para obtenção de amostras de maçãs em pomares. No Brasil, as amostragens a campo são efetuadas empiricamente na tentativa de medir incidência e prováveis perdas de frutos, sem medida de confiabilidade nas estimativas nem de custos de amostragem. Deste modo, um plano de amostragem vem sendo estudado e o número de plantas a serem amostradas foi estabelecido (Czermainski & Valdebenito-Sanhueza, 2001).

O objetivo deste trabalho é apresentar uma recomendação mais detalhada da utilização do método de amostragem e sua aplicação nos pomares de macieira.

O número mínimo de plantas

Num pomar, para efeito de amostragem de frutos, há dois aspectos quantitativos, chamados níveis hierárquicos de amostragem,



a serem abordados: o número de frutos por planta e o número de plantas por área. Para o primeiro nível, foi fixada a quantidade de 20 frutos por planta. Para a determinação do número de plantas, foram efetuados levantamentos amostrais da incidência de infecções latentes em dois pomares comerciais com a cv. Fuji, no município de Vacaria, RS. As populações amostradas consistiram de 2000 plantas. No pomar 1, 10 fileiras de 200 plantas, com espaçamento de 4 m entre fileiras e 1 m entre plantas, a área alvo foi de cerca de 0,8 ha.

No pomar 2, a população foi delimitada em 20 fileiras de 100 plantas, numa área de 2,5 ha (espaçamento 5 m entre filas e 2,5 m entre plantas). Para o cálculo do número de plantas, partiu-se de uma amostra-piloto de 40 plantas, obtida por amostragem sistemática nas fileiras de plantio, sorteando-se a primeira planta dentre as 50 primeiras na fileira, e plantas subseqüentes tomadas a intervalos de 50 plantas. Vinte frutos sem sintomas de podridões, tomados a esmo por planta, geraram a medida de incidência da doença (% de frutos com sintoma) nessa amostra preliminar. O número de plantas foi determinado pelo método formal, com base no intervalo de confiança para a média de incidência (Campbell & Duthie, 1989). Considerando-se a semi-amplitude de $0,20.\bar{x}$ como aceitável ($P < 0,05$) no intervalo de confiança para a estimativa da média de incidência (\bar{x}), obteve-se o número mínimo de 14 plantas. Isto significa que, ao serem selecionadas 14 plantas numa população de 2000 plantas, esta amostra levará a uma estimativa da incidência de frutos com infecções latentes, com uma confiança de 95% de que a verdadeira média de incidência está no intervalo de $\bar{x} \pm 0,20.\bar{x}$.

Aplicação em campo

Esquemas amostrais para uso em áreas muito extensas devem ser práticos, rápidos e de baixo custo. Por razões de praticidade, o esquema amostral deve ser sistemático e, para incorporar aleatorização ao mesmo, sorteia-se uma planta dentre as plantas de um grupo inicial (Hughes & Gottwald, 1998). O número de plantas desse grupo inicial onde se efetuará o sorteio da primeira, será estabelecido conforme o tamanho e formato da área a ser amostrada e o tamanho da amostra a ser selecionada. Tem-se, então, o valor mínimo de 14 plantas como referência para uma amostragem criteriosa.

Assim, em pomares comerciais são necessárias as seguintes etapas para obter-se a amostra de frutos convenientemente selecionada:

1) Escolha de subáreas em setores homogêneos do pomar

Em cada setor (população objetivo) do pomar, considerado homogêneo quanto à severidade e incidência das podridões, estabelece-se num croqui uma subárea de cerca de 2000 plantas (população amostrada) na região central do setor. Sugere-se que setores considerados homogêneos tenham no máximo 10 ha, para serem representados por uma única subárea de 2000 plantas.

Ressalta-se, aqui, a importância dos dados históricos sobre o setor - perdas, incidência, etc. - , se houverem, e também a experiência e a observação do técnico ou produtor que gerencia a área e que vão nortear a escolha dessas subáreas.

2) Seleção das plantas amostrais

Escolhida a subárea, com a ajuda de croqui ou mapa é estabelecido o melhor caminho a ser feito. Faz-se o sorteio da primeira planta amostral, a partir de uma "ponta" ou vértice dessa subárea, supondo-se as plantas numeradas; sorteia-se um número entre 1 e 142. Na Tabela 1 apresenta-se uma pequena parte de uma tabela de números aleatórios adaptada de Fisher & Yates, 1963, que pode ser utilizada para este fim. O número sorteado corresponderá à primeira planta da amostra. As demais plantas serão as subseqüentes a essa, contando-se 142 plantas de intervalo. Um croqui ou mapa pode ajudar a guardar a posição das plantas sorteadas para outras amostragens. O GPS é outra ferramenta útil para demarcar a planta sorteada.

3) Coleta dos frutos nas plantas amostrais

A coleta dos frutos feita a esmo, deve ser de, no mínimo, 20 frutos sem sintomas por planta selecionada. Os frutos podem ser colocados em sacolas tipo rede para facilitar a desinfestação.

A frequência da amostragem deve ser determinada de acordo com os objetivos estabelecidos e recurso disponível (Campbell & Duthie, 1989). Se o objetivo é estudar o progresso da taxa de frutos com podridões e a efetividade do controle químico, então amostras mais frequentes serão necessárias do que quando o objetivo é simplesmente avaliar incidência final e medir produção relativa. Sugere-se que a amostragem seja efetuada a cada três semanas em condições normais e a cada duas semanas quando as condições ambientais forem favoráveis às infecções latentes.

O tratamento da amostra e a avaliação

Os frutos amostrados deverão ser desinfestados superficialmente e colocados para incubação em ambiente limpo, com temperatura entre 26°C e 28°C. A desinfestação consiste na imersão dos frutos, por 60 segundos, em solução com álcool a 70% e hipoclorito de sódio 1,25% (alvejante comercial diluído em água 1:1). Após a desinfestação, os frutos são enxaguados em água limpa e deixados secar ao ar e armazenados na sala

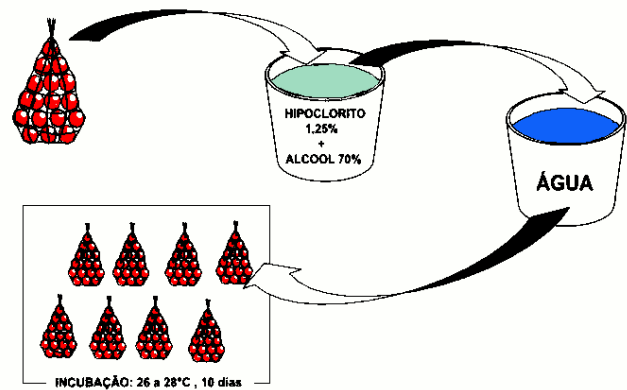


Fig. 1. Desenho esquemático do processo de desinfestação e incubação de amostras de maçãs.

Após 8 a 10 dias, conforme o grau de maturação, deve ser feita a contagem dos frutos com sintomas decorrentes de infecções latentes (Fig. 2). A incidência, expressa em porcentagem, será a razão entre o número de frutos com sintoma e o total de frutos da amostra.



Fig. 2. Sintomas de podridão branca (*B. dothidea*) em maçãs, cv. Fuji.

Considerações finais

A amostra preliminar, que levou à determinação de um tamanho de amostra ou número de plantas, foi obtida pressupondo-se distribuição aleatória da doença, isto é, padrão não agregado (sem manchas). Quando a doença em um setor apresenta-se em um padrão sabidamente agregado, certamente essa amostra deverá ser maior (Hughes e Madden, 1994). Em vista disso, estudos específicos de métodos amostrais para padrão agregado das doenças da macieira deverão ser conduzidos.

Em pomares, a população amostrada deverá ser mais restrita do que a população objetivo, pois é inviável proceder amostragem em áreas

extensas. Inferências extraídas da amostra aplicam-se à população amostrada e o julgamento da extensão dessas inferências para a população objetivo depende de outras fontes de informação (Silva, 1996).

No desenvolvimento de um protocolo de amostragem deve-se levar em conta o nível de precisão e os custos da amostragem. Estima-se que o tempo gasto por um monitor para a coleta nas plantas selecionadas, de forma a cobrir uma área de 2000 plantas, seja de uma hora. Os custos adicionais próprios da amostragem são justificáveis pelo retorno obtido.

Este procedimento amostral, por medida de racionalidade, deve ser associado ao já implementado para monitoramento de pragas nos pomares. Note-se que, se há viabilidade prática de serem amostradas mais plantas, estimativas mais precisas serão obtidas e maior será a confiança nas decisões nelas baseadas.

Referências Bibliográficas

BONETI, J. I. da S.; RIBEIRO, L. G.; KATSURAYAMA, Y. **Manual de identificação de doenças e pragas da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 1999. 149p.

CAMPBELL, C. L.; DUTHIE, J. A. Sampling for disease assessment. **Biological and Cultural Tests**, v. 4, p. v-ix, 1989.

CZERMAINSKI, A. B. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Número ótimo de plantas para estimar incidência de frutos com infecções latentes em pomares de macieira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 34., 2001, São Pedro, SP. **Fitopatologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26 (Suplemento), 2001. p 349.

FISHER, R. A.; YATES, F. **Statistical tables for biological, agricultural and medical research**. 6 ed., Longman, London, 1963. 146 p.

HUGHES, G.; GOTTWALD, T. R. Survey methods for assessment of citrus tristeza virus incidence. **Phytopathology**, v. 88, n. 7, p. 715-723, 1998.

HUGHES, G.; MADDEN, L. V. Aggregation and incidence of disease: some implications for sampling. **Aspects of Applied Biology**, v. 37, p. 25-31, 1994.

SILVA, J. G. C. da. **Estatística experimental** (versão preliminar). Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Física e Matemática, 1996. 427 p.

Tabela 1. Números aleatórios.

93225364390710637635870304796807138046153826617004137463525
20140104378765854749238709692520679794582631269881731651969
02836075869068246485945724169209843876220027698529815344094
27200418679793468354877334226291356418547046608347257591382
43138551553457726997862143787310658194787029447901286992063
41359717417409060739653978632275510241923718218274469669219
08925958761714970476193551566187391262161717957045804137486
08229813015391448387593290687377848455600844717560674974603
56390229889517894930467183728002086814239861677052850150018
40278431062985948105630908166707396388305838007966844837660
41870564127088805835068773482739434013354555105438508040560

Fonte: Tabela XXXIII de FISHER e YATES, 1963 (reprodução parcial).

Patrocínio

syngenta



Comunicado Técnico, 41

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

GOVERNO FEDERAL

Trabalhando em todo o Brasil

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Uva e Vinho
Rua Livramento, 515 - C.Postal 130
95700-000 Bento Gonçalves, RS
Fone: (0xx)54 451-2144
Fax: (0xx)54 451-2792
<http://www.cnpuv.embrapa.br>

1ª edição
1ª impressão (2001): 1000 exemplares

Comitê de Publicações

Presidente: Gilmar Barcelos Kuhn
Secretário-Executivo: Nêmora G. Turchet
Membros: Gildo A. da Silva e Francisco Mandelli

Expediente

Revisão do texto: Mônica E. Tomedi Ferrari
Tratamento das ilustrações: Rosa M. Valdebenito Sanhueza e Gladimir V. Barros