

Coleta de Amostras para Análise de Nematoides: recomendações gerais



ISSN 1517-5111
ISSN online 2176-5081
Maio, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 255

Coleta de Amostras para Análise de Nematoides: recomendações gerais

Alexandre Moura Cintra Goulart

Embrapa Cerrados
Planaltina, DF
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970 Planaltina, DF
Fone: (61) 3388-9898
Fax: (61) 3388-9879
<http://www.cpac.embrapa.br>
sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Fernando Antônio Macena da Silva*
Secretária-Executiva: *Marina de Fátima Vilela*
Secretária: *Maria Edilva Nogueira*

Supervisão editorial: *Jussara Flores de Oliveira Arbués*

Equipe de revisão: *Francisca Elijani do Nascimento*

Jussara Flores de Oliveira Arbués

Assistente de revisão: *Elizelva de Carvalho Menezes*

Normalização bibliográfica: *Paloma Guimarães Correa de Oliveira*

Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar*

Capa: *Leila Sandra Gomes Alencar*

Foto(s) da capa: *Alexandre Moura Cintra Goulart*

Impressão e acabamento: *Divino Batista de Sousa*

Alexandre Moreira Veloso

1ª edição

1ª impressão (2009): tiragem 100 exemplares

Edição online (2009)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Cerrados

G694 Goulart, Alexandre Moura Cintra.

Coleta de amostras para análise de nematoides: recomendações gerais / Alexandre Moura Cintra Goulart. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2009.

31 p.— (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, ISSN online 2176-5081 ; 255).

1. Parasita de planta. 2. Nematóide. I. Título. II. Série.

632.625.7 - CDD 21

© Embrapa 2009

Autores

Alexandre Moura Cintra Goulart

Engenheiro Agrônomo, D.Sc.

Pesquisador da Embrapa Cerrados

goulart@cpac.embrapa.br

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Ailton Rocha Monteiro da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), pela orientação, apoio e colaboração fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), pelo apoio concedido.

Apresentação

Nematoides fitoparasitas são vermes microscópicos que habitam o solo e atacam as plantas (geralmente as raízes ou outros órgãos subterrâneos), causando sérios danos às culturas agrícolas e acarretando prejuízos econômicos ao produtor rural.

Para a aplicação de estratégias de manejo de nematoides, é necessária a realização prévia de análise de nematoides, coletando amostras de solo e raízes e enviando a um laboratório de Nematologia.

Os resultados de análises nematológicas devem expressar, de maneira mais confiável possível, a situação real no campo, em relação aos nematoides que ocorrem em um determinado local. Nesse sentido, é muito importante que a coleta de amostras no campo seja feita corretamente, de acordo com recomendações técnicas apresentadas neste trabalho.

José Robson Bezerra Sereno
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução.....	11
Distribuição de Nematoides no Campo	13
Conceitos e Objetivos da Amostragem.....	15
Planos de Amostragem	16
Suficiência da Amostragem	18
Recomendações Gerais para Coleta de Amostras Nematológicas	20
O que coletar	20
Quanto coletar.....	22
Onde coletar	23
Como coletar.....	26
Acondicionamento, identificação e transporte das amostras	27
Referências	28
Abstract	32

Coleta de Amostras para Análise de Nematoides: recomendações gerais

Alexandre Moura Cintra Goulart

Introdução

Os nematoides são animais invertebrados, geralmente microscópicos, pertencendo a um filo próprio: Nematoda Potts, 1932 (MAGGENTI, 1981; BONGERS; FERRIS, 1999; HUGOT et al., 2001). Estima-se que existe 1 milhão de espécies de nematoides, das quais não mais que 20 mil já foram descritas (EISENBACK, 1998).

Entre os animais multicelulares, os nematoides são os mais abundantes. Constituem grupo altamente diversificado, incluindo formas com diversos hábitos alimentares e diferentes papéis ecológicos no solo. Os nematoides ocupam habitats mais variados que os de qualquer outro grupo de metazoários, salvo os artrópodos. São considerados organismos aquáticos, podendo viver em águas marinhas, águas doces ou películas de água do solo (MAGGENTI, 1981).

Nematoides fitoparasitas (ou fitonematoides) são vermes microscópicos que habitam o solo e atacam as plantas (geralmente as raízes ou outros órgãos subterrâneos), causando sérios danos às culturas agrícolas e acarretando prejuízos econômicos ao produtor rural. Pode-se afirmar que não há uma espécie de planta, cultivada ou não, que não seja hospedeira de uma ou mais espécies de fitonematoides. Entre os nematoides de maior importância agrícola, podem ser citados: *Meloidogyne* spp. (nematóide das galhas), *Pratylenchus* spp. (nematóide

das lesões radiculares), *Heterodera glycines* Ichinohe (nematóide dos cistos da soja), *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (nematóide reniforme), *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (nematóide cavernícola), *Tylenchulus semipenetrans* Cobb (nematóide dos citros), entre outros (FERRAZ; MONTEIRO, 1995; WEISCHER; BROWN, 2001).

As perdas de produção em diversas culturas agrícolas, por causa de nematoides, estão em torno de 12 %, em média (WEISCHER; BROWN, 2001), mas frequentemente ocorrem perdas maiores. Em relação ao nematóide *Pratylenchus brachyurus* Filipjev & Schuurmans Stekhoven, por exemplo, foram demonstradas perdas de até 30 % na produção de soja em condições experimentais de campo nos Estados Unidos (SCHMITT; BARKER, 1981). No Brasil, há relatos frequentes de produtores, informando reduções de até 30 % (ou, em alguns casos, até 50 %) na produção de soja em áreas infestadas, especialmente no Cerrado (PLANTIO DIRETO, 2007; GOULART, 2008). Outros nematoides fitoparasitas podem causar prejuízos semelhantes em várias culturas. Um levantamento de caráter mundial realizado no final do século XX revelou que as perdas econômicas globais na agricultura pelo parasitismo por nematoides eram da ordem de 78 bilhões de dólares por ano (WEISCHER; BROWN, 2001; LUC et al., 2005).

Para a aplicação de estratégias de manejo de nematoides, é necessária a realização prévia de análise em laboratório, coletando amostras de solo e raízes e enviando a um laboratório de Nematologia que oferece o serviço de análises nematológicas. Não é possível fazer o diagnóstico correto de doenças causadas por nematoides somente com base em observação visual de sintomas no campo. A análise em laboratório especializado, portanto, é imprescindível para o manejo de nematoides. Os resultados da análise devem conter informações sobre a identificação e a quantificação das espécies de nematoides presentes no local, ou seja:

- a) Quais espécies de nematoides parasitas de plantas estão ocorrendo no local.
- b) Qual o nível populacional (ou número de indivíduos) de cada espécie.

Com base nessas informações, o profissional responsável terá condições de estabelecer um plano de ação para o manejo (ou controle) adequado de nematoides, visando reduzir ou eliminar os danos e prejuízos.

Os resultados de análises nematológicas devem expressar, de maneira mais confiável possível, a situação real no campo, em relação aos nematoides que ocorrem em um determinado local. Nesse sentido, é muito importante que a coleta de amostras no campo seja feita corretamente.

Distribuição de Nematoides no Campo

A distribuição espacial (no espaço) e temporal (ao longo do tempo) de nematoides no campo deve ser considerada cuidadosamente na amostragem.

Um modelo de distribuição (ou dispersão) de organismos é o arranjo desses organismos dentro do domínio a ser amostrado. Diferentes fatores podem influenciar a distribuição de organismos, como, por exemplo, disponibilidade de nutrientes, habitat apropriado para reprodução e sobrevivência, interação com outros organismos da mesma espécie ou diferentes espécies. O conhecimento prévio da distribuição dos organismos é importante no estabelecimento de um plano de amostragem. Os principais modelos de distribuição espacial e horizontal de patógenos de plantas são (AMORIM, 1995):

- Distribuição em agregados: quando os organismos tendem a se encontrar reunidos em grupos no campo (Fig. 1B).
- Distribuição ao acaso: quando a distribuição dos organismos ocorre de maneira inteiramente casualizada (Fig. 1A).
- Distribuição regular: quando os organismos estão uniformemente distribuídos em uma população (Fig. 1C).

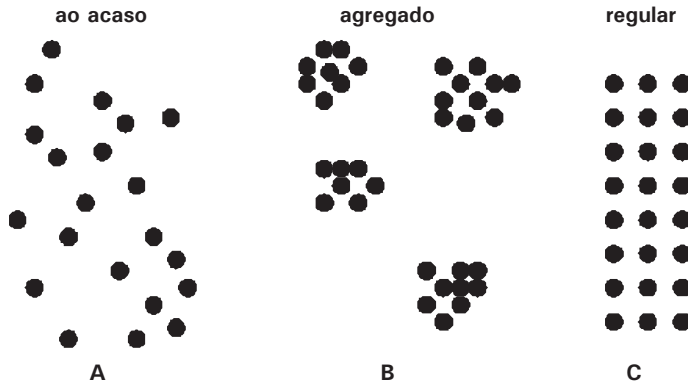


Fig. 1. Tipos de distribuição espacial e horizontal de organismos.

A: ao acaso; B: em agregados; C: regular.

Adaptado de Amorim (1995).

Um método simples para avaliar a distribuição horizontal de organismos é baseado na média e na variância da amostra. Dessa forma, a distribuição em agregados caracteriza-se por apresentar valores de média inferiores aos da variância. Distribuição inteiramente ao acaso apresenta valores semelhantes para média e variância, enquanto distribuição regular mostra valores de média superiores aos da variância (BARKER, 1985; AMORIM, 1995).

No caso de nematoides, a distribuição espacial e horizontal é bastante desuniforme (desigual ou errática), ocorrendo tipicamente em agregados, podendo manifestar sintomas em reboleiras ou manchas no campo. Fitonematoides são muito mais numerosos ou abundantes em locais próximos às raízes de plantas e menos numerosos em outros locais. Esse padrão de distribuição deve ser considerado nos planos de amostragem recomendados. A distribuição horizontal de nematoides é afetada pela presença de raízes, umidade, tipo de solo e outros fatores físicos e biológicos, incluindo o movimento de animais, enxurradas, máquinas e implementos (NORTON, 1978; BARKER, 1985; SHURTLEFF; AVERRE III, 2000; FREITAS et al., 2001).

A distribuição vertical (em profundidade no perfil do solo) de nematoides é muito variável, dependendo da cultura, espécie de

nematoide e tipo de solo. Igualmente importante, as flutuações sazonais ou padrões de distribuição temporal variam de acordo com a cultura, espécie de nematoide e condições edafoclimáticas (BARKER, 1985).

Conceitos e Objetivos da Amostragem

A coleta de amostras (ou amostragem) é utilizada para obter informações que representem de modo mais fidedigno possível a realidade no local que se pretende amostrar. Considerando que não é possível analisar todo o volume de solo e de raízes que ocorrem em uma determinada área no campo, são coletadas amostras que devem representar a adequadamente realidade da lavoura e essas amostras são posteriormente analisadas em laboratório.

Os principais objetivos da amostragem para análise de nematoides são relacionados com atividades de (BARKER, 1985):

- Consultoria ou assistência técnica.
- Pesquisa científica.
- Quarentena ou prevenção.

Para a aplicação de manejo integrado de nematoides (consultoria ou assistência técnica), o principal objetivo da amostragem é relacionar os números e espécies de nematoides com o desenvolvimento da cultura, bem como selecionar e avaliar táticas de manejo. Por outro lado, projetos de pesquisa têm como objetivo importante a caracterização e o entendimento da dinâmica de populações de nematoides. O objetivo de qualquer programa de quarentena ou prevenção é detectar os nematoides presentes e prevenir a disseminação dos mesmos. Os objetivos específicos devem estar bem definidos antes do planejamento das atividades de amostragem. O tipo e quantidade de dados necessários, assim como o plano e esquema de amostragem, dependem sempre dos objetivos da amostragem. Ao estabelecer os

procedimentos de amostragem para atender a um propósito específico, o responsável deve estar familiarizado com a precisão e acurácia esperadas. Menores erros de precisão e acurácia são esperados quando organismos estão distribuídos ao acaso no solo. Raramente, porém, nematoides apresentam distribuição ao acaso. Normalmente, nematoides ocorrem de maneira agregada (distribuição em agregados), resultando em erros muito maiores de exatidão (precisão e acurácia) da amostragem. Por exemplo, a amostragem para análise de nematoides apresenta com frequência erros de exatidão maiores que 10 % ou 15 %, em contraste com o erro esperado de até cerca de 10 % em amostragens para análises de organismos que apresentam distribuição ao acaso (SOUTHWOOD, 1968; BARKER; NUSBAUM, 1971; BARKER; CAMPBELL, 1981; BARKER, 1985). Dessa forma, nematoides que ocorrem em níveis populacionais baixos podem não ser detectados pela análise. Esse erro não pode ser eliminado completamente, mas pode ser minimizado, dentro do possível, seguindo as recomendações técnicas de coleta de amostras nematológicas.

Planos de Amostragem

Para qualquer patógeno vegetal, a escolha do plano de amostragem adequado depende da distribuição espacial da doença no campo. Para cada tipo de doença e dependendo também dos objetivos, pode-se utilizar um determinado plano ou padrão de amostragem. Os principais planos de amostragem para avaliação de doenças de plantas são os seguintes (MCSORLEY, 1987; AMORIM, 1995):

- Amostragem ao acaso: nesse caso, qualquer local do campo tem igual probabilidade de ser selecionado para amostragem. A utilização de amostragem inteiramente casualizada é recomendada principalmente para doenças que se distribuem de maneira uniforme (modelo de dispersão regular) no campo. Como isso raramente ocorre, a amostragem ao acaso raramente tem sido empregada para avaliação de doenças de plantas. Nesse tipo de amostragem, as

unidades a serem amostradas podem ser determinadas por tabelas casualizadas, figuras geradas por computador ou sorteio simples.

- Amostragem sistemática: em uma amostragem desse tipo, as amostras são coletadas de maneira sistemática, ou seja, as subamostras são retiradas em intervalos iguais e fixos. Por exemplo, a cada dez linhas, deve-se atravessar o talhão escolhendo-se como amostra uma planta a cada 20 m. Esse tipo de amostragem é muito usual em trabalhos que envolvem avaliação de doenças de plantas.

Tanto a amostragem ao acaso quanto a amostragem sistemática podem ser feitas em estratos, sendo nesse caso denominadas de amostragem estratificada. Esse plano de amostragem é recomendado para casos em que a população é heterogênea (dispersão em agregados). Nesse caso, antes de iniciar a amostragem, a área total deve ser dividida em estratos homogêneos, ou seja, áreas menores (subáreas), semelhantes em relação a várias características como, por exemplo, tipo de solo, relevo, altitude, topografia, histórico agrícola, cultura e variedade, etc (AMORIM, 1995).

No caso de amostragens para análise de nematoides, as amostras devem ser coletadas de maneira estratificada e sistemática, considerando que a distribuição espacial-horizontal desses organismos no campo é agregada. Devem ser coletadas amostras compostas de várias subamostras. Quanto maior o número de subamostras coletadas para compor cada amostra, mais precisos e confiáveis serão os resultados. Segundo Barker (1985), cuja metodologia de coleta é amplamente aceita para trabalhos com nematoides parasitas de plantas, recomenda-se utilizar, no mínimo, 20 a 30 pontos de coleta para áreas de 1 a 2 hectares. Alguns exemplos de esquemas para coleta de amostras no campo são apresentados na Fig. 2. Para realização de análises nematológicas em áreas de produção comercial, com objetivo de diagnose e planejamento do controle de nematoides, o esquema de amostragem mais utilizado e recomendado é em zigue-zague (Fig. 2B).

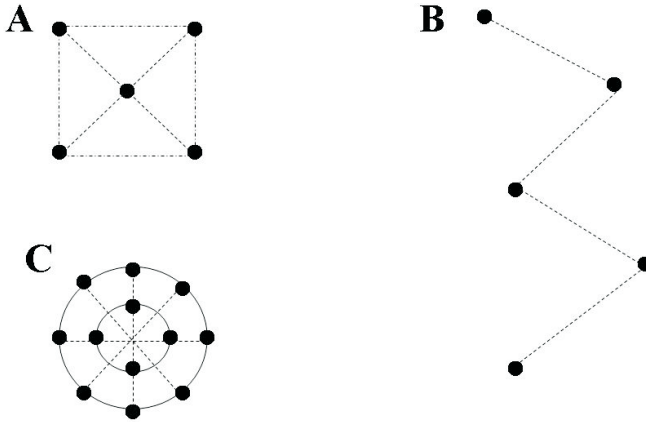


Fig. 2. Exemplos de esquemas de amostragem para análise de nematoides. Cada pequeno círculo preenchido com a coloração escura (●) representa um ponto de coleta (ou subamostra). (A) Esquema de um quadrado: cinco subamostras compõem uma amostra composta (MATTOS, 1999); (B) Esquema em zigue-zague (BARKER, 1985); (C) Esquema de círculos concêntricos: doze subamostras compõem uma amostra composta (CARES; HUANG, 2008).

Cares e Huang (2008) propuseram a padronização de sistema de amostragem para acessar a biodiversidade de nematoides em solos tropicais (para fins de pesquisa), estabelecendo pontos de coletas distribuídos em uma grade de amostragem com pontos equidistantes de 100 m, sendo que, em cada ponto (no cruzamento de duas linhas imaginárias), seria coletada uma amostra composta por 12 subamostras de solo, coleadas em pontos equidistantes (4 em um círculo de 6 m de diâmetro e 8 em um círculo de 12 m de diâmetro), com cada subamostra coletada na profundidade de zero a 20 cm (Fig. 2C).

Suficiência da Amostragem

No caso de amostragem com o objetivo de diagnose de doenças causadas por nematoides e o planejamento de controle dessas doenças em áreas de produção comercial, pode-se adotar o critério de Barker (1985), em relação à suficiência da amostragem: utilizar, no mínimo, 20 a 30 pontos de coleta para áreas de 1 a 2 ha.

Para determinar a suficiência da amostragem em trabalhos de pesquisa, após a finalização das identificações taxonômicas dos nematoides presentes nas amostras coletadas, devem ser preparados gráficos representativos dos números acumulados de táxons de nematoides em relação ao número de amostras coletadas. Gráficos que relacionam o número de grupos taxonômicos (gêneros ou espécies, por exemplo) encontrados com o “esforço amostral” são fartamente estudados em ecologia, em relação a diversos organismos, com esse mesmo objetivo (BREWER, 1994; GOODELL, 1982; KREBS, 1994; MAGURRAN, 1988). Exemplos desse tipo de gráfico são apresentados nas Fig. 3 e 4 (amostras de solo e raízes, respectivamente). Nesse caso, as comunidades de nematoides foram estudadas em São Carlos, SP, em três diferentes ecossistemas, um de vegetação natural (Cerrado) e dois de agroecossistemas (cultura perene: pomar de goiaba; cultura anual: plantio de milho irrigado; ambas estabelecidas no Cerrado), por amostragens feitas em duas épocas do ano e cada amostra composta de três subamostras (GOULART, 2002; GOULART; FERRAZ, 2005).

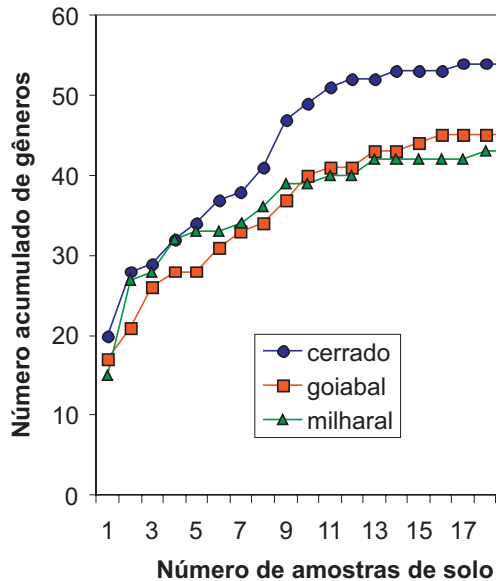


Fig. 3. Números acumulados de gêneros de nematoides em relação ao número de amostras de solo coletadas em áreas de Cerrado, goiabal e milharal em São Carlos, SP (amostragens realizadas em maio de 1999 e fevereiro de 2000). Cada amostra composta de três subamostras.

Fonte: Goulart (2002).

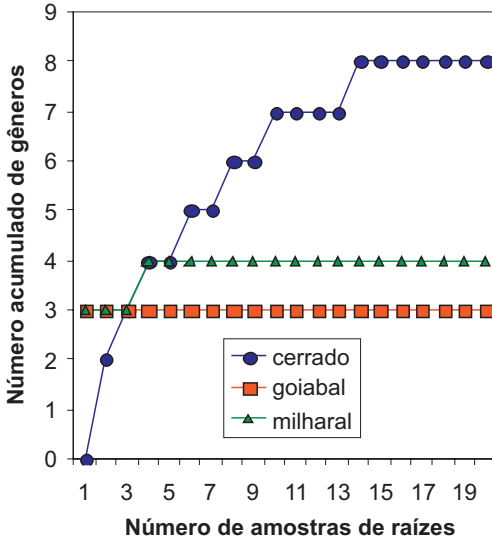


Fig. 4. Números acumulados de gêneros de nematoides em relação ao número de amostras de raízes coletadas em áreas de Cerrado, goiabal e milharal em São Carlos, SP (amostragens realizadas em maio de 1999 e fevereiro de 2000). Cada amostra composta de três subamostras.
Fonte: Goulart (2002).

Recomendações Gerais para Coleta de Amostras Nematológicas

A seguir, são apresentadas recomendações gerais para coleta de amostras nematológicas. Vários textos da literatura nematológica (BARKER; NUSBAUM, 1971; EDWARD; MISRA, 1974; AYOUB, 1977; BARKER; CAMPBELL, 1981; GOODELL, 1982; BARKER, 1985; SOUTHEY, 1986; MCSORLEY, 1987; FORTUNER, 1991; LIMA, 1992; TIHOHOD, 1993; SHURTLEFF; AVERRE III, 2000; FREITAS et al., 2001; BRIDGE; STARR, 2007; FREITAS et al., 2007; KHAN, 2008) serviram de base para a elaboração dessas recomendações, especialmente Paschoal et al. (1995).

O que coletar

Solo e raízes devem ser coletados, sempre que possível. O solo a ser coletado deve ser proveniente da rizosfera. No caso de raízes, para a maioria dos casos, recomenda-se coletar preferencialmente as radículas, ou seja, as raízes mais finas (raízes secundárias, terciárias, etc.). Em sua maioria, fitonematoides têm preferência por parasitar raízes mais

finas. Contudo, algumas vezes devem ser coletadas raízes lenhosas, pois o nematoide encontra-se nessas raízes mais grossas e resistentes, como é o caso de cafeeiro parasitado por *Meloidogyne coffeicola* Lordello & Zamith. As raízes coletadas devem estar vivas. Assim, também poderão ser recuperados mais facilmente os nematoides ainda vivos. Para determinados grupos de nematoides, como o gênero *Meloidogyne* (nematoides formadores de galhas), há necessidade de obtenção de exemplares ainda vivos para a identificação de espécies (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

Geralmente, para trabalhos de pesquisa nas áreas de ecologia e diversidade de nematoides, são coletadas apenas amostras de solo. No entanto, amostras de raízes devem ser coletadas também, permitindo a obtenção de maior número de informações sobre as comunidades amostradas. Em alguns estudos realizados no Brasil, foi possível verificar que a coleta de raízes, além de solo, permitiu a identificação de certos gêneros-chave de nematoides fitoparasitas, especialmente os endoparasitas, como *Pratylenchus*, os quais possibilitaram a discriminação entre os tratamentos e áreas experimentais (GOULART, 2002, GOULART et al., 2003, GOULART et al., 2008a).

O responsável pela coleta de amostras deve certificar-se que as raízes coletadas são mesmo da cultura. Raízes de culturas intercalares ou de plantas daninhas, devidamente identificadas, também podem ser coletadas e embaladas separadamente.

Em alguns casos especiais (como, por exemplo, algumas plantas ornamentais, certas palmáceas, morangueiro, arroz, alho, entre outras), os nematoides podem eventualmente parasitar órgãos aéreos: caules, folhas, flores, frutos ou sementes (FERRAZ; MONTEIRO, 1995). Havendo suspeita nesse sentido, com a orientação do profissional responsável, a parte aérea das plantas também deverá ser coletada.

Recomenda-se coletar amostras de solo com a umidade natural, evitando-se condições de encharcamento ou ressecamento.

Não se deve adicionar água ao solo naturalmente seco, para facilitar a coleta, nem depois, ao solo já coletado. A adição de água ao solo pode prejudicar a conservação adequada da amostra, em virtude da proliferação de microrganismos.

Quanto coletar

A quantidade de material em cada amostra coletada deverá ser 1 kg de solo e pelo menos 200 g de raízes finas (radicelas).

Para coletar raízes de culturas anuais, recomenda-se retirar uma ou duas plantas inteiras em cada ponto de amostragem (subamostra) e, em seguida, deve-se descartar a parte aérea das plantas e acondicionar essas raízes em saco plástico, juntamente com o solo, para assim obter cada amostra composta.

No caso de culturas anuais, para facilitar o trabalho de coleta no campo, deve-se coletar os sistemas radiculares inteiros (retirando a planta inteira e em seguida descartar a parte aérea), evitando assim a tarefa de separar raízes finas e grossas (essa parte será feita no laboratório, posteriormente). Ao retirar cada planta, deve-se também retirar, ao mesmo tempo, o solo que está ao redor das raízes, evitando assim o rompimento e perda de raízes finas na amostragem. Ao fazer a amostragem, nunca se deve puxar as plantas pela parte aérea, pois tal procedimento levaria ao rompimento e perda de muitas raízes finas. Cada planta deve ser retirada com cuidado, juntamente com o solo. O solo que envolve as raízes (e está mais próximo delas) é o solo que deve ser utilizado para a composição de cada amostra.

Muitos fitonematoides são comumente encontrados em maior número nas raízes e, em muitos casos, é necessário obter exemplares vivos das raízes para a correta identificação de espécies no laboratório. Portanto, é importante coletar raízes em quantidade suficiente e adequada além do solo. Em especial no caso de raízes, é altamente desejável que cada amostra composta contenha de fato uma quantidade maior do que o mínimo de 200 g de raízes finas (radicelas).

Quando coletar

A época de florescimento da cultura é a ideal para realizar a análise de nematoides, pois, considerando que as plantas de culturas anuais já estão bem desenvolvidas e ainda não iniciaram a fase de senescência, os nematoides também poderão ser encontrados em níveis populacionais mais elevados. Assim, é possível planejar os cultivos seguintes, com base nos resultados de análises nematológicas. Muitos produtores têm se lembrado da importância de realização de análises de nematoides somente após a constatação de perdas na produção (final da safra). Porém, a fase de colheita das culturas anuais, assim como logo após a colheita e na entressafra, em geral não são fases adequadas para a realização dessas análises (as raízes encontram-se em processo de envelhecimento e deterioração ou não estão mais presentes no solo).

Eventualmente, pode-se também coletar amostras na fase de pré-semeadura, após o preparo do solo. Porém, é muito importante destacar que essa amostragem antes da semeadura não elimina a necessidade de realizar também a amostragem na época de florescimento da cultura anterior, considerando os motivos já apresentados.

Onde coletar

Qualquer local onde as plantas não estão se desenvolvendo bem (levando em consideração também as condições de clima, fertilidade de solo, entre outras) pode ser uma área onde nematoides estão causando danos. Comumente são observadas reboleiras ou manchas no campo, devido ao ataque de nematoides (SHURTLEFF; AVERRE III, 2000). No entanto, com muita frequência, as doenças causadas por nematoides não manifestam sintomas visíveis ou esses sintomas são inespecíficos, podendo ser facilmente confundidos com sintomas relacionados com outras causas, como outras doenças, ataque de pragas, deficiência ou excesso de nutrientes, compactação ou encharcamento de solo, etc (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

Em cada ponto de coleta, as amostras de solo e de raízes devem ser retiradas da camada de 0 cm a 20 cm ou 0 cm a 30 cm de profundidade do solo. Em agroecossistemas, os nematoides são encontrados majoritariamente na faixa de 15 cm a 20 cm abaixo da superfície do solo (NORTON; NIBLACK, 1991), porém a distribuição vertical de nematoides em solos é bastante variável (BARKER, 1985). Pode-se também realizar amostragens separadamente em várias camadas de profundidade (GOULART et al., 2008b; TOMAZINI, 2008), dependendo dos objetivos. Quando há intenção de obter, em especial, nematoides dos gêneros *Longidorus* e *Xiphinema*, recomenda-se coletar amostras também em camadas mais profundas de solo, até 40 cm ou 50 cm, pois esses nematoides são encontrados com frequência em maiores profundidades (PASCHOAL et al., 1995).

Durante a amostragem, deve-se caminhar em zigue-zague no local (Fig. 5); coletar amostras junto às plantas com sintomas moderados, evitando-se aquelas muito atacadas e já gravemente depauperadas (se houver manchas ou reboleiras, amostrar em suas periferias ou margens, especialmente se os sintomas forem muito severos nas plantas da parte mais central das reboleiras). Além da amostragem nas reboleiras, pode-se fazer também, separadamente, amostragem nas áreas fora das reboleiras (áreas aparentemente sem problemas), constituindo assim dois tipos de amostras: (A) das reboleiras; (B) de áreas próximas, com plantas aparentemente saudáveis, conforme a Fig. 6 (PASCHOAL et al., 1995; SHURTLEFF; AVERRE III, 2000).

No caso de vegetação arbórea, as amostras devem ser retiradas de pontos próximos à linha de projeção da copa, onde as raízes mais jovens e ativas podem ser encontradas (BARKER, 1985; FORTUNER, 1991).

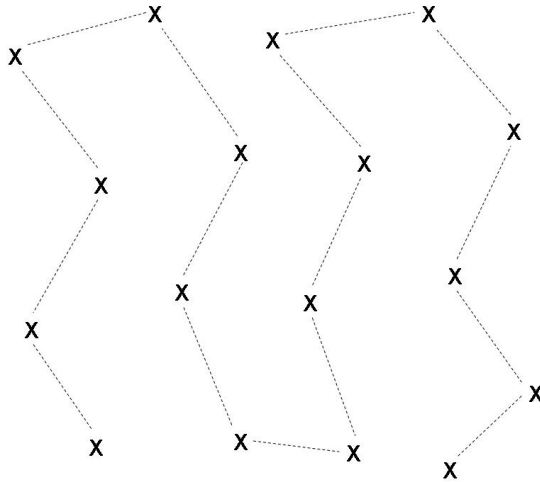


Fig. 5. Coleta de amostras de solo e raízes em área sem reboladeiras de plantas com sintomas; as subamostras tiradas nos pontos assinalados com "X" formarão a amostra composta.

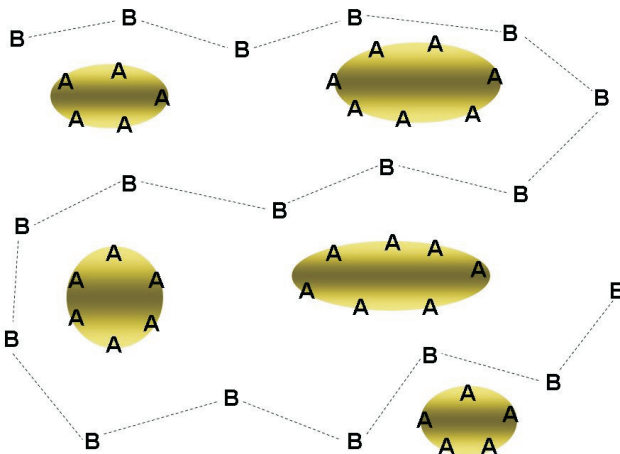


Fig. 6. Coleta de amostras de solo e raízes em área com reboladeiras de plantas com sintomas; as subamostras tiradas nos pontos assinalados com a letra A, nos bordos das reboladeiras, formarão a amostra composta A; as subamostras dos pontos assinalados com a letra B, de plantas aparentemente saudáveis, formarão a amostra composta B.

Como coletar

Cada amostra composta deve ser formada por subamostras (de solo e raízes) coletadas em áreas semelhantes (ou, preferencialmente, uniformes ou homogêneas) em relação a várias características, principalmente tipo de solo, histórico agrícola e topografia. As subamostras devem ser postas em um balde grande e bem misturadas de modo a constituir amostra composta representativa da área. Recomenda-se coletar, no mínimo, 10 a 30 subamostras por hectare para formar uma amostra composta. Eventualmente, quando as condições do local forem de fato homogêneas, pode-se obter uma amostra composta representativa de uma área de vários hectares. Nesse caso, recomenda-se a utilização do maior número possível de subamostras para formar cada amostra composta (no mínimo, 10 a 30 subamostras por hectare). Se a área for muito grande, mesmo que aparentemente homogênea, recomenda-se dividi-la em quadrantes de, preferencialmente, 2 ha (ou, no máximo, 10 ha); selecionar pelo menos 5 a 10 quadrantes e retirar uma amostra composta de cada quadrante selecionado. O responsável pela coleta deve utilizar o bom senso para a definição do número de subamostras e amostras que irá representar a área. Quanto maior o número de subamostras e de amostras, obviamente, mais precisos e confiáveis serão os resultados da análise.

É importante destacar que, sempre em cada ponto de coleta (subamostra), raízes devem ser coletadas, e não apenas solo. Portanto, cada subamostra (obtida em cada ponto de coleta) e cada amostra devem conter, necessariamente, solo e raízes.

As subamostras de solo ou raízes podem ser obtidas com uso de enxadões, enxadas, pás retas, trados-de-solo ou equipamentos afins. Em geral, os trados-de-solo facilitam a retirada padronizada das subamostras. Com enxadão ou enxada, deve-se fazer uma cova em “V” e retirar uma fatia de espessura uniforme de uma de suas paredes. Com pá reta, deve-se fazer cova cilíndrica ou trapezoidal e retirar a fatia de um lado vertical.

Para amostragem em viveiros de mudas, devem-se escolher ao acaso dez ou mais mudas para cada lote de mil, considerando plantas da mesma espécie e variedade, além de mesmo tipo de solo, atentando para mudas enfezadas ou subdesenvolvidas, fazendo amostragem separada para elas. Para maior facilidade de embalagem e transporte até ao laboratório, no caso de mudas crescidas, poderá ser eliminada a parte aérea das plantas, realizando-se o corte do caule logo acima do nível do solo. Muitas vezes não é preciso coletar as mudas inteiras, bastando parte de suas radículas e do solo ao redor delas.

Acondicionamento, identificação e transporte das amostras

As amostras de solo e de raízes, juntas, deverão ser acondicionadas em sacos plásticos, de paredes grossas e resistentes, bem fechados e devidamente identificados.

Fichas e etiquetas contendo o maior número possível de informações deverão acompanhar as amostras: número ou código da amostra; local (propriedade, município, estado e país); proprietário, cultura atual (nomes científico e vulgar); variedade ou cultivar; idade ou estágio das plantas, área amostrada, danos e sintomas (descrição, distribuição e porcentagem de plantas atacadas); histórico agrícola (culturas anteriores, mencionando pelo menos os últimos quatro anos); tipo de solo; tipo de preparo de solo (“plantio” direto, convencional ou outro), plantas daninhas ocorrentes; tratos culturais realizados (especialmente irrigação e produtos químicos aplicados); condições climáticas nos últimos 15 dias; nome do coletor; data da coleta; culturas futuras desejadas (opções); e outras observações de interesse.

As amostras devem ser enviadas ao laboratório nematológico com a maior rapidez possível. Nunca se deve deixar as amostras em ambiente aquecido pela exposição ao sol, pois o aquecimento e a incidência de luz podem prejudicar a conservação das amostras, causando a morte de nematoides. Caixas térmicas ou de isopor são indicadas para o acondicionamento de amostras durante o transporte ao laboratório. É

importante que as amostras nunca sejam colocadas em congelador, pois o resfriamento excessivo também é prejudicial para nematóides. Amostras adequadamente embaladas podem ser mantidas em geladeira, regulada para temperatura mais elevada, por no máximo 3 a 4 dias, na impossibilidade de encaminhá-las imediatamente ao laboratório. Temperaturas de 10 °C a 15 °C prolongam a sobrevivência de nematóides nas amostras, mas abaixo de 8 °C podem lhes causar danos.

Queda e compressão das amostras também podem ser prejudiciais para certos nematóides, especialmente dos gêneros *Trichodorus*, *Paratrichodorus*, *Longidorus* e *Xiphinema*. Produtos químicos também podem afetar as amostras, portanto as mesmas devem ser acondicionadas em recipientes limpos e sem resíduos tóxicos.

Referências

- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. v. 1, Princípios e conceitos. São Paulo: Ceres, 1995. p. 647-671.
- AYOUB, S. M. **Plant nematology**: an agricultural training aid. Sacramento: Department of Food and Agriculture; State of California, 1977.
- BARKER, K. R. Sampling nematode communities. In: BARKER, K. R.; CARTER, C. C.; SASSER, J. N. (Ed.). **An advanced treatise on *Meloidogyne***: II. Methodology. Raleigh: North Carolina State University/USAID, 1985. p. 3-17.
- BARKER, K. R.; CAMPBELL, C. L. Sampling nematode populations. In: ZUCKERMAN, B. M.; ROHDE, R. A. (Ed.) **Plant parasitic nematodes**. v. 3. New York: Academic Press, 1981. p. 451-473.
- BARKER, K. R.; NUSBAUM, C. J. Diagnostic and advisory programs. In: ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; ROHDE, R. A. (Ed.) **Plant parasitic nematodes**. v. 1. New York: Academic Press, 1971. p. 281-301.
- BONGERS, T.; FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 14, p. 224-228, 1999.
- BREWER, R. Community and ecosystem ecology. In: BREWER, R. **The science of ecology**. Ft Worth: Saunders College/Harcourt Brace College, 1994. p. 263-306.
- BRIDGE, J.; STARR, J. L. **Plant nematodes of agricultural importance**: a color handbook.

Boston: Academic Press, 2007. 152 p.

CARES, J. E.; HUANG, S. P. Soil nematodes. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNALL, D. E. (Ed.). **A handbook of tropical soil biology: sampling and characterization of below-ground biodiversity**. London: Earthscan, 2008. p. 97-106.

EDWARD, J. C.; MISRA, S. L. **An introduction to plant nematology**. Allahabad: Central Book Depot, 1974. 82 p.

EISENBACK, J. D. Morphology and Systematics. In: BARTELS, J. M. (Ed.). **Plant and nematode interactions**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1998. p. 37-63.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A.R. Nematóides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1 São Paulo: Ceres, 1995. p. 168-201.

FORTUNER, R. Methods for collection and preparation of nematodes: part 1: field sampling and preparation of nematodes for optic microscopy. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 75-87.

FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; OLIVEIRA, R. D. L. Métodos em nematologia vegetal. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007, p. 253-291.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 84 p.

GOODELL, P. B. Soil sampling and processing for detection and quantification of nematode populations for ecological studies. In: FRECKMAN, D. W. (Ed.). **Nematodes in soil ecosystems**. Austin: University of Texas Press, 1982. p. 178-198.

GOULART, A. M. C. **Diversidade de nematóides em áreas de vegetação nativa e cultivada em São Carlos, Estado de São Paulo, Brasil**. Piracicaba, 2002. 151 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematóides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008 (Embrapa Cerrados. Documentos, 219).

GOULART, A. M. C.; FERRAZ, L. C. C. B. Amostragem em estudo de biodiversidade de nematóides em cerrado preservado ou substituído por culturas agrícolas. **Fitopatologia Brasileira**, Supl., p. 163, 2005.

GOULART, A. M. C.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B. Comunidades de nematóides em Cerrado com vegetação original preservada ou substituída por culturas: diversidade taxionômica. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 129-137, 2003.

GOULART, A. M. C.; MARCHÃO, R. L.; VILELA, L.; SANTOS JUNIOR, J. D. G.; SÁ, M. A. C. Diversidade de nematóides em um latossolo vermelho sob sistemas de integração

lavoura-pecuária no Cerrado. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília, DF. **Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais: anais...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008a. 1 CD-ROM.

GOULART, A. M. C.; SÁ, M. A. C.; SANTOS JUNIOR, J. D. G.; FERREIRA, E. A. B.; RESCK, D.V.S. Diversidade de nematóides em solo sob Cerrado preservado ou submetido a sistemas de manejo. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília, DF. **Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais: anais...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008b. 1 CD-ROM.

HUGOT, J. P.; BAUJARD, D.; MORAND, S. Biodiversity in helminthes and nematodes as a field study: an overview. **Nematology**, v. 3, p. 199-208, 2001.

KHAN, M. R. **Plant nematodes: methodology, morphology, systematics, biology and ecology.** Enfield: Science Publishers, 2008. 360 p.

KREBS, C. J. **Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance.** New York: Harper Collins College, 1994. 801 p.

LIMA, R. D. Sintomatologia e diagnose de nematóides. **Informe Agropecuário**, v. 16, ln. 172, p. 17-22, 1992.

LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.) **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.** Wallingford: CABI Publishing, 2005. 871 p.

MAGGENTI, A. **General nematology.** New York: Springer Verlag, 1981. 372 p.

MAGURRAN, A. E. **Ecological diversity and its measurement.** London: Croom Helm, 1988. 179 p.

MATTOS, J. K. A. **Caracterização das comunidades de nematóides em oito sistemas de uso da terra nos cerrados do Brasil Central.** Brasília, 1999. 113 f. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília.

MCSORLEY, R. Extraction of nematodes and sampling methods. In: BROWN, R. H.; KERRY, B. R. (Ed.) **Principles and practice of nematode control in crops.** Sydney: Academic Press, 1987. p. 13-46.

NORTON, D. C. Aspects of geographical distribution. In: NORTON, D. C. **Ecology of plant-parasitic nematodes.** New York: John Wiley, p. 1-15, 1978.

NORTON, D. C.; NIBLACK, T. L. Biology and ecology of nematodes. In: NICKLE, W.R. (Ed.) **Manual of agricultural nematology.** New York: Marcel Dekker, 1991. p. 47-72.

PASCHOAL, A. D.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B.; MARICONI, F. A. M.;

- FLECHTMANN, C. H. W.; INOMOTO, M. M. **Animais de interesse agrícola, veterinário e médico**: apontamentos práticos de zoologia e parasitologia. Piracicaba: Centro Acadêmico “Luiz de Queiroz”, 1995. 224 p.
- PLANTIO DIRETO. Passo Fundo, n. 99, maio/junho de 2007. 36 p.
- SCHMITT, D. P.; BARKER, K. R. Damage and reproductive potentials of *Pratylenchus brachyurus* and *P. penetrans* on soybean. **Journal of Nematology**, v. 13, p. 327-332, 1981.
- SHURTLEFF, M. C.; AVERRE III, C. W. **Diagnosing plant diseases caused by nematodes**. Minnesota: APS Press, 2000. 187 p.
- SOUTHEY, J. F. Principles of sampling for nematodes. In: SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. London: Her Majesty’s Stationery Office, 1986. p.1-4.
- SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods**. London: Methuen, 1968. 391 p.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372 p.
- TOMAZINI, M. D. **Caracterização das comunidades de nematóides em mata nativa e áreas contíguas submetidas a diferentes tipos de uso agrícola em Piracicaba (SP)**. Piracicaba, 2008. 67 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- WEISCHER, B.; BROWN, D. J. F. **Conhecendo os nematóides**: nematologia geral. Sofia: Pensoft Publishers, 2001. 209 p.

Sampling for Nematode Analysis: general recommendations

Abstract

Nematodes can cause high damages in many crops. In order to manage this organisms, avoiding losses in agriculture, it is necessary to collect soil and root samples in the field and send them as soon as possible to a nematology laboratory. Sampling for nematode analysis should be carefully done, according to scientific recommendations. In this work, this recommendations and instructions are presented and discussed.

Index terms: nematodes, plant parasitic nematodes, sampling, nematode analysis, damages, management.