



GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO

**SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA
ABASTECIMENTO, AQUICULTURA E PESCA**

**INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA E
FLORESTAL DO ESPÍRITO SANTO**

CERTIFICAÇÃO FITOSSANITÁRIA DE ORIGEM

Vol. I - PRAGAS



RECOMENDAÇÕES BÁSICAS PARA COLETA E ENVIO DE MATERIAL PARA DIAGNÓSTICO FITOPATOLÓGICO

José Aires Ventura
Inorbert de Melo Lima
Hélcio Costa

1. INTRODUÇÃO

Doenças de plantas podem ser causadas por micro-organismos (bióticas) ou por causas abióticas (fitotoxidade, fatores climáticos, deficiências nutricionais, dentre outros). Os métodos de controle variam consideravelmente de uma doença para outra. O diagnóstico correto, e em tempo hábil, é essencial para se recomendar medidas eficazes de controle, podendo significar a diferença entre o lucro e o prejuízo para o produtor. Esse diagnóstico pode ser realizado pela observação das plantas no campo, avaliando os sintomas apresentados e/ou pelos estudos efetuados no laboratório, em amostras coletadas, representativas das plantas doentes.

Para a realização de um diagnóstico fitopatológico é importante que a amostra seja representativa e chegue ao laboratório em boas condições para o exame, bem como venha acompanhada das informações que possibilitem o diagnóstico correto e seguro.

Muitas amostras chegam aos laboratórios de fitopatologia em condições inadequadas para a

realização das análises, tanto por deficiências de embalagens como de coleta, além de reduzida informação quanto a dados agronômicos e climáticos (LIBERATO; VENTURA; COSTA, 1996). Para evitar essa situação, alguns pontos fundamentais devem ser respeitados na coleta e no envio das amostras para os laboratórios, além das informações que irão auxiliar o fitopatologista na diagnose.

O tempo para se completar o diagnóstico depende de cada caso (de acordo com a espécie vegetal e a doença), podendo variar de poucos minutos a muitos dias. A diagnose diretamente no campo, baseada na observação dos sintomas apresentados pela planta doente e sinais dos patógenos, requer conhecimentos específicos sobre a cultura, bem como uma grande experiência por parte daquele que faz o diagnóstico. Em alguns casos, o diagnóstico é relativamente fácil. No entanto, muitas vezes, torna-se necessária a análise da planta doente, ou partes desta, em laboratório, para confirmar a diagnose, pois uma doença pode apresentar diferentes sintomas nos seus diferentes estágios de evolução, podendo em um desses estágios assemelhar-se a outra doença ou mesmo a sintomas da infestação de insetos ou de deficiência nutricional, o que poderá conduzir a um diagnóstico incorreto. Assim sendo é importante fazer os postulados de Koch para se ter certeza de que é um agente biótico.

As amostras de plantas doentes devem ser devidamente coletadas, embaladas e transportadas até ao laboratório, além de acompanhadas de informações necessárias ao fitopatologista. Muitas amostras

chegam aos laboratórios de fitopatologia de forma inadequada para diagnóstico, tanto por deficiências de embalagens, como de coleta, além de reduzida informação quanto a dados agronômicos e climáticos, em alguns casos sem mesmo o nome da planta ou o endereço completo do produtor ou pessoa que enviou a amostra. Nesses casos, faz-se necessário o contato, nem sempre fácil, com o produtor que enviou a amostra para a obtenção destas informações, com grande perda de tempo e retardando o diagnóstico (LIBERATO; VENTURA; COSTA, 1996; VENTURA, 1976; VIANA; MOREIRA, 1984; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 1985).

2. COLETA DAS AMOSTRAS

O ideal é que a observação da lavoura e coleta das amostras sejam realizadas pelo próprio fitopatologista ou técnico qualificado, que poderá obter as informações que vão contribuir para a diagnose e recomendação de medidas de controle.

As amostras devem ser coletadas preferencialmente com diferentes estágios de evolução da doença, representando, o mais próximo possível, a situação observada no campo. Isto permitirá ao fitopatologista determinar a evolução dos sintomas, o que, conjugado com as informações adicionais, possibilita, avaliar corretamente o quadro sintomatológico e efetuar o estudo etiológico (do agente causador da doença). É fundamental a presença, na amostra, de plantas exibindo órgãos afetados, onde se note a existência simultânea de tecidos sadios e doentes. Amostras

coletadas de plantas já completamente mortas dificultam o diagnóstico. A diagnose é facilitada quando se verifica a presença de sinais do agente patogênico (estruturas de fungos, galhas de nematoides etc.).

2.1. CUIDADOS NA COLETA

- a) Antes de coletar a amostra, examine bem as plantas, inclusive as raízes (se possível), à procura de sintomas e sinais.
- b) Colete todas as partes da planta com os sintomas observados. Colete também o colo e as raízes de plantas com amarelecimento ou murcha.
- c) No caso de plantas pequenas, colete a planta inteira, com as raízes, tendo o cuidado de não "puxar" a planta, para não destruir as raízes.
- d) Colete só plantas com partes sadia e doente, e não já totalmente mortas ou em decomposição.
- e) Nunca colete uma única planta ou parte dela. Colete um número razoável (no mínimo três ou mais), considerando, porém, a viabilidade de envio e o custo do transporte para o laboratório.
- f) De plantas raquíticas, com sintomas de deficiências nutricionais, em áreas localizadas no plantio, colete também amostra do colo e raízes, retirando-as com cuidado e colete amostras de solo na projeção da copa, até 25-30 cm de profundidade. Colete 10 a 20 amostras por ha, misturando e retirando ± 1 kg de solo para análise. Colete também amostras separadas de área com plantas sadias.

As amostras não devem ser muito reduzidas, o que

pode dificultar o isolamento do patógeno ou impedir a realização de todos os procedimentos necessários ao diagnóstico.

- a) No caso de plantas de pequeno porte (feijoeiro, alface etc.), sempre que possível, deve-se coletar a planta inteira, com as raízes.
- b) Se a doença mostrar-se localizada com manchas cloróticas e necróticas, então pode-se coletar os órgãos da planta, como caule, folhas, frutos e/ou ramos individuais.
- c) Nos casos em que ocorrem sintomas de amarelecimento, murcha e seca da planta, devem-se coletar plantas inteiras, sempre que possível, ou então pedaços consideráveis dos ramos (ou caule), além de raízes e colo da planta, bem como amostra de solo próximo às raízes, pois estes sintomas podem estar associados a danos causados nas raízes e/ou no colo da planta.
- d) Sempre que as plantas apresentarem crescimento reduzido (nanismo), com sintomas de deficiência nutricional, geralmente formando áreas localizadas dentro do plantio (reboleiras), com baixa produção e cloróticas, devem ser coletadas amostras de solo das raízes e do colo da planta. As amostras do sistema radicular nunca devem ser obtidas puxando a planta, mas arrancando-a, cavando em volta e retirando-a, com o solo aderente, evitando lavar as raízes.
- e) Em plantas com suspeita de infestação de nematoides, o solo próximo às raízes deve ser coletado. No caso de nematoides deve-se evitar coletar amostras quando o solo estiver muito seco

ou encharcado. Devem ser coletadas amostras separadas de áreas onde as plantas exibam sintomas da doença e de áreas onde as plantas estão aparentemente saudáveis. Para as coletas de solo, os detritos da superfície do terreno devem ser removidos no local da coleta. Com um enxadão abre-se o solo em forma de "V", da superfície até 25-30 cm de profundidade, coletando uma fatia de solo, de espessura homogênea. Pode-se também usar trado para coletar a amostra. Em se tratando de plantas anuais, coletar a amostra na zona das raízes da planta, e no caso de plantas perenes, coletar a amostra na projeção da copa, incluindo os quatro quadrantes da planta (norte, sul, leste e oeste). Procurar coletar junto com o solo as raízes da planta, principalmente radículas (raízes mais finas). Devem ser coletadas 10-20 subamostras por ha, percorrendo o talhão em zigue-zague, que devem ser bem misturadas, retirando-se então uma amostra composta ($\pm$ 1 kg de solo e cerca de 10 g de raízes), sendo embalado em sacola plástica limpa, fechada em seguida, para evitar perda de umidade. Devem ser colocadas duas etiquetas, escritas a lápis, sendo uma por dentro da sacola, com o solo. No caso de nematoides que parasitam a parte aérea das plantas, coletar os órgãos infestados ou a planta inteira, preferencialmente.

3. PREPARO DAS AMOSTRAS

A amostra deve chegar ao laboratório o mais rápido possível após a coleta. Caso contrário, alguns cuidados

gerais devem ser observados:

- a) Se a chegada prevista ao laboratório for até um dia após a coleta, embale a amostra em saco de papel. Se usar sacos plásticos, faça pequenos furos. Em épocas de tempo quente, deve-se transportar as amostras em caixa de isopor.
- b) Com previsão de chegada entre um e dois dias após a coleta da amostra, plantas ou órgãos herbáceos devem ser colocados entre folhas de jornal umedecidas com água (se possível gelada), dentro de saco plástico não furado e transportados em caixa de isopor, contendo, se possível, alguns cubos de gelo. Se isso não for possível, e em épocas mais frias do ano, amostras de plantas pouco suculentas podem ser enviadas como descrito no item anterior.
- c) Se a chegada prevista ao laboratório for superior a dois dias, as amostras no caso de plantas ou órgãos herbáceos, devem ser prensadas (herborizadas) entre jornais, trocando-os sempre que for necessário, até ficarem devidamente secas (as folhas se quebram ao serem dobradas), e as amostras de frutos e órgãos suculentos podem ser enviadas dentro de líquidos conservantes, tal como etanol 70% (mistura de álcool hidratado comercial 96% e água, na proporção de 3:1). Se houver suspeita de doenças causadas por vírus, as amostras não devem ser herborizadas, devendo chegar frescas ao laboratório.
- d) Plantas, caules ou raízes lenhosas devem, após ligeira secagem, ser enviadas em caixa de papelão.
- e) Amostras de solo não podem secar ou ficar expostas a altas temperaturas.

4. ENVIO DAS AMOSTRAS

Para permitir um exame mais fácil e preciso, o ideal é que a amostra chegue ao laboratório ainda fresca, preferencialmente recém-colhida. Porém, nem sempre isso é possível. Para que a amostra não resseque ou se deteriore durante o transporte, dificultando ou inviabilizando o diagnóstico, são necessários alguns cuidados.

5. ACONDICIONAMENTO

O modo de acondicionamento da amostra depende do tempo estimado a ser transcorrido entre a sua coleta e chegada ao laboratório, bem como do tipo de amostra. As causas mais comuns de inutilização de amostras são: ressecamento (perda de umidade), devido à falta de embalagem; mofo, devido à embalagem em saco plástico fechado (durante alguns dias) sem nenhum cuidado adicional; e deterioração, em função de serem enviadas em embalagens e líquidos impróprios para a conservação ou junto com detritos vegetais.

Podem-se enviar as amostras a fresco, em sacos de papel fechados. No caso de se dispor apenas de sacos plásticos, estes poderão ser utilizados, devendo ser feitos diversos orifícios pequenos nos sacos, a fim de evitar o acúmulo de umidade em seu interior e o desenvolvimento de organismos saprófitas, o que pode mascarar os sintomas da doença e dificultando o diagnóstico. Em regiões de clima quente, transportar as amostras dentro de caixas de isopor, quando possível.

Caso tenha que esperar um certo tempo para enviar a amostra, essa pode ser colocada na geladeira (nunca no congelador), já acondicionadas para envio, o que aumentará o seu tempo de conservação.

A herbarização pode ser usada principalmente nos casos em que as amostras se constituem de plantas apresentando manchas e lesões nos ramos herbáceos e folhas, causadas por fungos e bactérias. Amostras herborizadas geralmente não permitem a detecção de vírus.

No caso de amostras com suspeita de viroses, estas devem chegar frescas ao laboratório. Nas plantas de pequeno porte, as amostras devem ser constituídas de plantas completas, contendo o sistema radicular e o solo aderido a este, devendo ser enviadas envoltas em papel-jornal umedecido com água fresca, dentro de sacos plásticos. Isto possibilitará, se necessário, o transplântio da planta para vasos em casa-de-vegetação ou telado.

No caso de suspeitar da presença de nematoides, as raízes não devem ser secadas, devendo ser enviadas envoltas em jornal úmido ou junto com a amostra de solo, acondicionadas em sacos plásticos.

Tratando-se de plantas perenes ou árvores, o envio de plantas inteiras é praticamente impossível. As seções de caules, ramos lenhosos e raízes podem ser remetidas em caixas de papelão ou sacos, devendo sofrer uma ligeira secagem antes da embalagem (as amostras de raízes e do colo da planta não devem ser

lavadas em água) para evitar o desenvolvimento de micro-organismos saprófitas, os quais frequentemente mascaram os sintomas da doença e dificultam o diagnóstico.

O solo coletado deve ser enviado com sua umidade natural, não podendo secar (pois os nematoides ficam inativos ou morrem em solos ou raízes secos) e nem ficar exposto a altas temperaturas (deve-se evitar transportar amostras dentro do porta-malas do carro) ou à luz solar direta. As amostras devem chegar ao laboratório em um período não superior a 48 horas após a coleta; caso contrário, deverão ser envolvidas em papel-jornal úmido e acondicionadas em sacos plásticos, dentro de uma caixa de isopor.

Se não for possível enviar as amostras de solo após a coleta, essas podem ficar na parte de baixo de uma geladeira comum por alguns dias, sendo recomendável que esse período não ultrapasse uma semana.

6. CUIDADOS GERAIS

1. Preencher uma ficha com a identificação do material coletado e enviar junto com cada amostra.
2. Embalar as amostras separadamente e identificá-las.
3. A embalagem deve trazer os dizeres: "amostra para diagnóstico".
4. A amostra jamais deve ser congelada ou armazenada em condições de alta temperatura. Não transportar as amostras em porta-malas de

carro (a menos que estejam dentro de caixa de isopor), nem em carrocerias, sem embalagem.

5. Após a coleta, a amostra deve chegar ao destino no menor tempo possível.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

LIBERATO, J. R.; VENTURA, J. A.; COSTA H., **Instruções básicas para coleta e envio de material para exame fitopatológico**. Campos dos Goytacazes-RJ: UENF, 1996. 15p. (UENF, Boletim Técnico 7).

SANTOS, A. F.; ATHAYDE, J. T. **Instruções para amostragem e remessa de material para exame fitopatológico**. Cariacica-ES: EMCAPA, 1982. 5p. (EMCAPA, Comunicado Técnico, 4).

VENTURA, J. A. **Normas fitopatológicas para coleta e envio de material para exame fitopatológico**. Cariacica-ES: EMCAPA, 1976. 4p. (EMCAPA, Comunicado Técnico, 1).

VIANA, F. M. P.; MOREIRA, M. I. P. **Recomendações para envio de material para exame fitopatológico**. Porto Velho-RO: EMBRAPA-UEPAE, 1984. 12p.

VIEIRA, M. F.; CARVALHO-OKANO, R. M. **Instruções básicas para a coleta e remessa de plantas para identificação**. Viçosa, Conselho de Extensão - UFV, 1985. 11p. (Informe Técnico, 1985).

ANEXO

DADOS COMPLETOS PARA A FICHA DE INFORMAÇÕES PARA EXAME FITOPATOLÓGICO

Produtor/Local da Coleta: _____ Data da coleta: ____/____/____
Remetente: _____ Nº da amostra: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Estado: ____ CEP: _____ Telefone: _____
Cultura: _____ Cultivar: _____ Área plantada (ha): _____
Espaçamento: _____ Idade das plantas atacadas: _____

Parte atacada: raízes () caule () ramos () frutos () folhas () flores ()

Sintomas observados:

Na planta geral: murcha () amarelecimento () desfolha () morte ()

podridão () nanismo () subdesenvolvimento () outros ()

Nas folhas: pústula () amarelecimento () manchas () crestamento ()

enrolamento () deformações () verrugas () outros ()

Nos ramos: envassouramento () manchas () podridões () seca ()
morte dos ponteiros () outros ()

Nas flores: queima () seca () manchas () queda () outros ()

Nos frutos: podridão seca () podridão mole () verrugas ()

manchas () rachaduras () deformações () queda precoce ()

lesão no pedúnculo () outros ()

No caule e nas raízes: podridão seca () tombamento () galhas ()

cancro () escurecimento interno () gomose () tumor ()

podridão mole () pião torto () outros ()

Quando apareceu a doença: _____ dias (aproximadamente)

Distribuição da doença na lavoura: reboleira () geral ()

uma planta () algumas plantas ()

Porcentagem aproximada de ataque: 0-10% () 10-50% () 50-100% ()

Disseminação da doença: lenta () moderada () rápida ()

Na região, a doença: ocorre sempre () raramente () 1ª vez ()

Culturas anteriores na área de coleta: _____

Condições de tempo na semana anterior: nublado () ensolarado ()

muita chuva () pouca chuva () nenhuma chuva ()

Condições anormais de tempo durante o cultivo: _____

Distância da lavoura mais próxima com a mesma doença: _____

Cultivos vizinhos: _____

Consórcio: sim () não ()

Com qual cultura? : _____

Rotação: sim () não ()

Com qual cultura? : _____

Utiliza cobertura morta: sim () não () Qual? : _____

Localização do plantio: baixada () encosta () áreas altas () plano ()

Ocorrência de insetos na lavoura: sim () não () Quais? : _____

Plantas daninhas comuns na lavoura: _____

Agrotóxicos usados (fungicidas, herbicidas, inseticidas etc.): _____

Nome Comum	Dosagem	Época de aplicação

Aplicou mistura de agrotóxicos: sim () não ()

Quais misturou? : _____

Usou herbicida com o mesmo pulverizador que usa fungicida e inseticida? sim () não ()

Irrigação: sim () não () Tipo: _____

Tipo de solo: arenoso () argiloso () areno-argiloso () orgânico ()

Drenagem: boa () intermediária () ruim ()

Fertilidade do solo: alta () média () baixa ()

Fez análise: do solo? sim () não () pH: _____ foliar? sim () não ()

Aplicou calcário? sulco () cova () área total () Quanto? (kg/ha) _____

A adubação foi baseada na análise de solo? sim () não ()

Adubação orgânica:

Qual: _____ Quanto: _____ Época: _____

O esterco de gado veio de pasto onde se usou herbicida?

Sim () não ()

Adubação química:

Fórmula: _____ dose (kg/ha): _____ plantio () cobertura ()

Fórmula: _____ dose (kg/ha): _____ plantio () cobertura ()

Onde obteve as sementes ou mudas: _____

Recebe assistência técnica: sim () não () De quem? _____

Destino da produção: consumo próprio ()

produção de sementes () mercado interno () exportação ()

outro (): _____

Observações que achar necessárias:

_____, _____ de _____ de _____

Assinatura do remetente:
