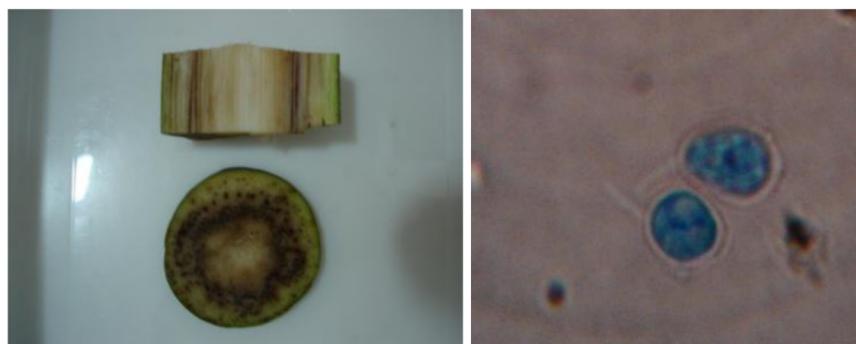


RECOMENDAÇÕES PARA COLETA DE AMOSTRAS - ANÁLISE FITOSSANITÁRIA



MAPA – LANAGRO – GO
2013

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO**

**LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO
MAPA/LANAGRO – GO**

**RECOMENDAÇÕES - COLETA DE AMOSTRAS
PARA ANÁLISE FITOSSANITÁRIA**

**Abmael Monteiro de Lima Junior
Engº Agrº/Fiscal Federal Agropecuário**

RECOMENDAÇÕES GERAIS PARA COLETA DE AMOSTRAS

A diagnose de doença em planta pode ser rápida e simples ou complexa e demorada, dependendo da doença. O tempo para uma resposta pode variar de imediato a até mais de um mês, dependendo da complexidade do diagnóstico. Os fitopatógenos poderão ser identificados em nível de gênero ou espécie, a depender da doença.

Para um diagnóstico preciso, a coleta e envio de materiais para o laboratório é tão importante quanto as análises propriamente dita.

Abaixo algumas recomendações:

Cuidados Gerais

1. Antes da coleta do material para análise, faça planejamento quanto ao seu envio, procurando conciliá-lo à disponibilidade de transporte para a entrega.
2. Aconselha-se evitar o envio de amostras nos fins de semana ou dias próximos aos mesmos, procurando preferencialmente coletá-las e enviá-las de segunda até quarta-feira.
3. Uma ficha de informações, devidamente preenchida, deverá acompanhar cada amostra, de tal forma que, aquelas sem informações não serão analisadas e serão automaticamente descartadas.
Todas as amostras devem ser acompanhadas de uma ficha de informação, “Termo de coleta de amostras”. Envie a ficha com todas as informações solicitadas. Esta ficha deve ser acondicionada em saco plástico (para evitar que a umidade da amostra estrague a ficha). Deve-se preencher um formulário por amostra.
4. Identificar adequadamente cada amostra embalando-as separadamente.
5. As amostras enviadas ao Laboratório devem mostrar desde os sintomas iniciais da doença até os mais avançados.
6. Não adicione água ou embale as amostras muito úmidas.
7. Deve-se evitar o transporte das amostras expostas ao sol ou calor excessivo como em carrocerias abertas ou porta-malas de carro (exceto quando embaladas em caixas de isopor).
8. Não misturar amostras em uma mesma embalagem. A umidade das amostras de raízes ou frutos suculentos pode acelerar a deterioração das amostras de folhas se estas estiverem misturadas.

9. Para a identificação de doenças de plantas não se utiliza solo. Em se tratando de amostras de raízes, estas devem ser enviadas com uma quantidade de solo que seja suficiente para manter a umidade natural do campo.
10. Se as amostras apresentarem espinhos, a embalagem deve conter a inscrição "CUIDADO".
11. Se a previsão da chegada da amostra ao Laboratório for de até dois dias, essa poderá ser embalada preferencialmente, em saco de papel. Pode-se utilizar saco plástico, desde que as amostras sejam embaladas previamente entre folhas de papel para que não haja acúmulo de umidade. Também podem ser mantidas refrigeradas (mas não congeladas: Nunca congelar amostra).
12. Se não for possível fazer com que a amostra chegue ao laboratório neste prazo, então faça uma secagem do material a ser enviado. Coloque o material espalhado dentro de folhas dobradas de jornal (um pouco de material apenas dentro de cada folha) e coloque um peso por cima (uma tábua por exemplo). Troque o jornal duas vezes ao dia até que o material fique seco (um período de três dias costuma ser suficiente para a maioria dos materiais).
13. O produtor ou interessado pode entregar a amostra pessoalmente à clínica ou enviar pelo correio. As amostras enviadas pelo correio devem ser postadas no início da semana para evitar que permaneçam armazenadas no correio durante o final de semana.
14. As amostras devem ser devidamente identificadas e colocadas em uma caixa de papelão reforçada, para evitar que o material se danifique durante o transporte.
15. Para o preparo adequado da amostra siga as recomendações específicas para cada parte da planta.

Observação importante:

O Laboratório reserva-se o direito de descartar sumariamente as amostras que não estiverem em condições de análise. Amostras sem o formulário devidamente preenchido não serão analisadas. A clínica também não se responsabiliza pelos gastos ou custos financeiros dessas amostras, os quais ocorrerão por conta do interessado. Em hipótese alguma haverá devolução de amostras após o diagnóstico, ou mesmo daquelas que forem descartadas pelos motivos mencionados acima ou por qualquer outro.

RECOMENDAÇÕES ESPECÍFICAS PARA COLETA E ENVIO DE MATERIAL PARA DIAGNÓSTICO DE ACORDO COM AS PARTES DAS PLANTAS

Para a diagnose precisa de uma doença de planta é necessário que as amostras cheguem ao laboratório em boas condições, de preferência, frescas e recém-colhidas. A seguir são listadas algumas recomendações sobre o preparo da amostra a ser enviada ao laboratório:

Folhas e plantas pequenas

Devem ser acondicionadas, preferencialmente, em sacos de papel. Pode-se utilizar saco plástico, desde que as amostras sejam embaladas previamente entre folhas de papel para que não haja acúmulo de umidade.

Deve-se coletar de 12 a 20 folhas (quando se tratar de folhas pequenas) contendo sintomas por amostra. No caso de folhas de bananeira para análise de Sigatoka Negra, coletar amostras das folhas 2; 3 e 4.

As folhas não devem ser amassadas ou dobradas.

No caso de plantas pequenas, deve-se coletar toda a planta, inclusive as raízes. Para que não haja danos às raízes, as plantas não devem ser arrancadas do solo, devendo-se cavar ao redor das plantas e retirá-las com cuidado.

A amostra deve conter desde sintomas iniciais da doença até os mais avançados.

Ramos, galhos e troncos

Se for tamanho reduzido, podem ser acondicionados de acordo com o procedimento adotado para folhas e plantas pequenas.

Plantas maiores (ex.: arbustos e árvores), as partes afetadas podem ser serradas ou cortadas e colocadas em caixas de papelão ou sacos.

Frutos

Frutos devem ser enviados frescos e acondicionados em sacos de papel contendo alguns furos.

O transporte até o laboratório deve ser o mais rápido possível, para que não ocorra murchamento ou apodrecimento.

Frutos carnosos maduros são facilmente destruídos no transporte e normalmente necessitam de refrigeração e acondicionamento em caixa de isopor.

Raízes

As raízes devem conter uma quantidade de solo suficiente para manter a umidade natural do campo.

Devem ser envolvidas em jornal umedecido e acondicionadas em sacos plásticos. Não feche o saco.

As raízes devem chegar o mais rápido ao laboratório.

Solo

As amostras de solo para detecção de nematóides, fungos e bactérias fitopatogênicas devem chegar ao laboratório em dois dias, no máximo.

Deve-se coletar de 500 a 1.000 g de solo, nas proximidades das raízes, a uma profundidade de até 30 cm (evitando-se coletar a camada superficial do solo) e conter de 50 a 100 g de fragmentos de raízes.

O solo deve estar úmido (umidade natural) e ser acondicionado em sacos plásticos, os quais devem permanecer fechados.

Não havendo possibilidade das amostras de solo chegarem ao laboratório neste prazo, pode-se guardá-las em uma geladeira comum por um período de, no máximo, uma semana (cuidado: as amostras não podem ser congeladas).

Cuidados durante a coleta das amostras

1. Antes de coletar as amostras, recomenda-se examinar detalhadamente as plantas, incluindo-se as raízes, à procura de sintomas a fim de subsidiar o preenchimento da ficha de informações.
2. Colete todas as partes da planta exibindo sintomas. Quando os sintomas detectados forem no sistema radicular, todas as raízes, incluindo o coletor, deverão, na medida do possível, ser coletadas e enviadas.
3. Quando se tratar de plantas de pequeno porte, aconselha-se enviar a planta inteira.
4. Recomenda-se não coletar plantas já totalmente mortas e secas, mas sim aquelas com partes lenhosas ainda verdes e exibindo os sintomas da doença.
5. Em áreas onde as plantas apresentem sintomas de deficiências nutricionais, recomenda-se a coleta também de amostras de solo para que se proceda a sua análise em laboratórios especializados.

Preparo das amostras a serem encaminhadas ao Laboratório

Como mencionado anteriormente, as amostras deverão chegar ao laboratório o mais rapidamente possível, preferencialmente, ainda frescas. Caso contrário, deverão ser tomados os seguintes cuidados:

1. Se a chegada for prevista para até um dia após a coleta, as amostras poderão ser embaladas em sacos de papel. Se forem utilizados sacos plásticos, aconselha-se efetuar pequenos furos para evitar excesso de umidade. Em caso de materiais tenros e sob condições de climas quentes, aconselha-se o transporte das amostras em caixas de isopor.
2. Para os casos em que a chegada prevista for em torno de dois dias após a coleta, as amostras de plantas tenras (herbáceas) deverão ser colocadas entre folhas de jornal umedecidas em água (se possível gelada), dentro de sacos plásticos não furados e

transportadas em caixas de isopor, contendo, se possível, cubos de gelo. Se isso não for possível, em períodos mais frios do ano, amostras de plantas pouco suculentas poderão ser enviadas como descrito no item anterior.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE AMOSTRAS VISANDO O OBJETIVO

1. Instruções para coleta amostra para moko da bananeira

O Moko da Bananeira é causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, raça 2.

Embora existam sintomas típicos, nem sempre é possível ter certeza a campo deste diagnóstico. Neste caso, envie para o laboratório material sintomático, tais como:

- Corte o pseudocaule e verifique se há escurecimento dos anéis vasculares. Neste caso, corte dois a três cilindros de aproximadamente 10 cm de altura, embale-os individualmente em sacos plásticos e envie-os juntamente com frutos sintomáticos, para o laboratório, o mais rápido possível através de CEDEX.
- Corte os frutos e verifique se têm sintomas de escurecimento. Envie estes frutos para o laboratório



Podridão interna dos frutos
Departament of Agriculture and food and the State of Western Australia



Sintomas de moko da bananeira

- a) Planta adulta; b) Pseudocaule;
- c) Exudação de pus bacteriano em pseudo caule

Diferenças entre Moko da Bananeira e Mal do Panamá

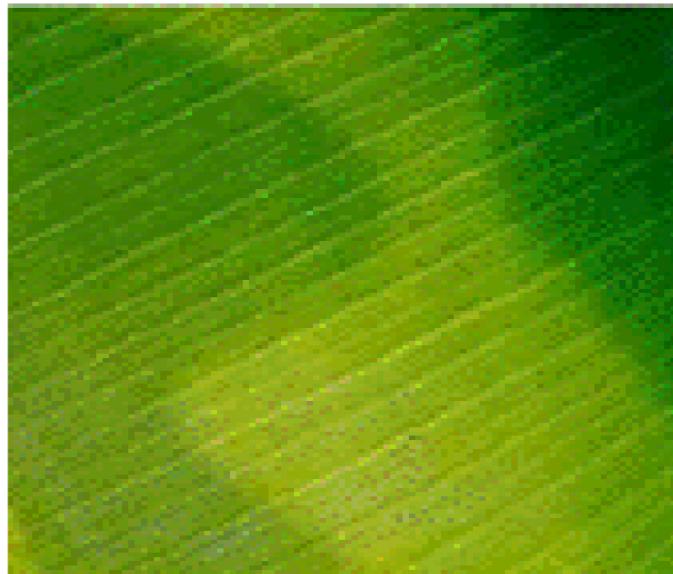
<i>MOKO DA BANANEIRA</i>	<i>MAL DO PANAMÁ</i>
- Ocorre pus bacteriano em cortes do pseudo caule, engaço e pecíolo	- Não ocorre pus bacteriano.
- Manifesta-se em todas as fases de desenvolvimento	- Ocorre em plantas a partir do 4º mês de idade das plantas
- Os sintomas iniciam na parte central do pseudo caule e evolui rumo a periferia	- Os sintomas iniciam na periferia e se direciona rumo ao centro.
- Afeta todos os órgãos da planta.	- Não se observa a doença nos cachos.
- Não se observa rachaduras no pseudo caule.	- Observa-se rachaduras no pseudo caule.
- Teste do copo ocorre fluxo bacteriano.	- Teste do copo não ocorre fluxo bacteriano.

O teste do copo, exsudação bacteriana, para comprovação rápida do Moko da bananeira, consiste em colocarmos 2/3 de água limpa em um copo e em sua parede um pedaço de pseudocaule ou engaço cortado no sentido longitudinal, fazendo-o penetrar ligeiramente na água, por até 15 minutos, onde ocorrerá a descida do fluxo bacteriano se for o caso, ao contrário do mal de panamá.

2. Instruções para coleta amostra para Sigatoka Negra da bananeira

Sintomas:

- a) Estágio 1 – Descoloração de pequenos pontos observados na face inferior da folha. (Observar na segunda ou terceira folha a partir da primeira folha excluindo a folha vela)



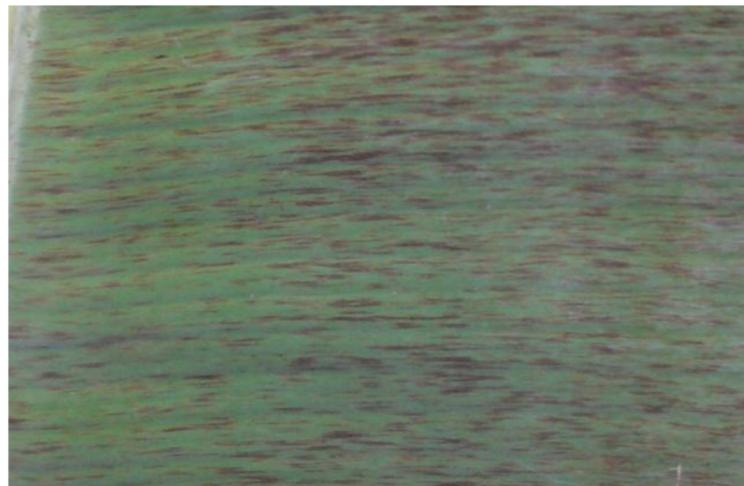
Estágio 1 - Foto Abmael M de Lima

- b) Estágio 2 - Formação de estrias cor de café a partir dos pontos de descoloração.
(Observar na segunda ou terceira folha a partir da primeira folha excluindo a folha vela)



Estágio 2 - Foto Abmael M de Lima

- c) Estádio 3 – Estrias aumentam em comprimento e largura, e a coloração se torna mais intensa. (Observar na segunda ou terceira folha a partir da primeira folha excluindo a folha vela)



Estádio 3 - Foto Abmael M de Lima

- d) Estádio 4 – Estrias cor de café se tornam mais escuras passando à coloração negra. (Observar na segunda ou terceira folha a partir da primeira folha excluindo a folha vela)



Estádio 4 - Foto Abmael M de Lima

- e) Estádio 5 – Formação de lesão única no comprimento com união de várias lesões e aparecimento de halo clorótico ao redor das lesões maiores.



Estádio 5 - Foto Abmael M de Lima

- f) Estádio 6 – Lesões coalescem, seguidas pela seca da parte lesionada. Toda a folha se torna escura com a morte do tecido. Podem ser observadas pontuações escuras que são os corpos de frutificação.



Estádio 6 - Foto Abmael M de Lima

Procedimento de coleta, preparo e acondicionamento

COLETA

- Deve-se priorizar a coleta de folhas mais novas. As folhas mais velhas apresentam necrose adiantada, o que dificulta a diagnose. Portanto, as folhas a serem coletadas devem ser as que apresentam sintomas iniciais.
- As folhas a serem coletadas devem ser preferencialmente as mais novas (segunda ou terceira folha) em plantas que apresentam os sintomas.



PREPARO DA AMOSTRA

- a) – Não há necessidade de se enviar a folha inteira. Bastam alguns pedaços.



Foto Abmael M de Lima

- b) – Acondicionamento: Os pedaços das folhas coletados devem armazenados individualmente entre folhas de papel para conservar a umidade, sem excesso.



Foto Abmael M de Lima

- a) Cada conjunto de folhas de uma planta deve ser armazenado em sacos plásticos, individualmente, para conservar a umidade, sem que ocorra o ressecamento das folhas. Conforme figura abaixo.



Foto Abmael M de Lima

- b) Identificação da Amostra: As amostras devem ser seladas e identificadas com o Termo de Coleta da Amostra

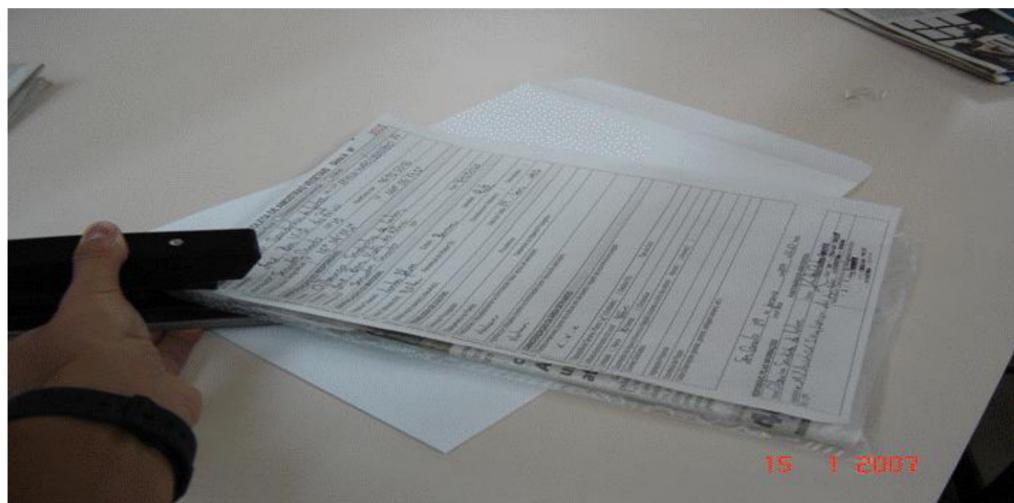


Foto Abmael M de Lima

c) Envio das Amostras:

- É importante que todas as amostras sejam enviadas o mais breve possível.
- Caso as amostras precisem ser armazenadas por algum tempo, este armazenamento deve ser feito sob refrigeração.
- O prazo entre a coleta e o recebimento das amostras pelo laboratório não deve exceder 15 dias.
- As amostras devem encaminhadas devidamente lacradas.

3. Instruções para coleta amostra para Diagnóstico de Cancro cítrico – *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri*

- As amostras mais importantes, são aquelas coletadas quando as plantas exibem os sintomas iniciais ou alterações, das quais se suspeita a doença;
- Amostras com sintomas iniciais, contêm quase sempre apenas o organismo causal da doença;
- Amostras coletadas a partir de plantas mortas ou em decomposição, na maioria das vezes, não possuem qualquer valor fitopatológico, pois nestas condições geralmente estão invadidas por outros organismos secundários e saprófitas;
- As amostras para análise devem constar de folhas, ramos e frutos que apresentem sintomas.

a) . Sintomatologia



Sintomas de cancer em folhas (Copyright DPI NSW)



Sintomas de cancro cítrico em folhas (Copyright DPI NSW)



Sintomas de cancro cítrico em ramos(Copyright DPI NSW)



SINTOMAS DE CANCRO CITRICO NOS FRUTOS

Fonte: Fundecitrus

A doença se manifesta pelo surgimento de pequenas manchas amarelas, com um ponto marrom no centro, que aos poucos vão crescendo e podem ocupar grande parte da casca do fruto.

As manchas são salientes, mais superficiais, parecidas com verrugas, de cor marrom no centro. Em estágio avançado, as lesões provocam o rompimento da casca.

Diferentemente do que ocorre com as lesões de verrugose, as lesões de cancro cítrico não se destacam facilmente da casca de frutos doentes e esta é uma das maneiras de diferenciar as duas doenças quando em frutos.

O preparo, acondicionamento e envio das amostras, devem ser seguidos conforme processos demonstrados em no “procedimento para Sigatoka Negra”.

4. Instruções para coleta amostra para Diagnóstico de Cancro da videira – *Xanthomonas campestris* pv *viticola*

5.

1- As inspeções devem ser feitas olhando todo parreiral, analisando frutos, ramos e folhas.

2- Os sintomas são: ramos com fissuras longitudinais em forma de cancro, nervuras com necroses, presença de manchas pequenas nas folhas, amadurecimento desuniforme dos frutos e presença de lesão necrótica, geralmente na base dos frutos (bagas).

3- As plantas com suspeita do Cancro da Videira devem ser marcadas com uma fita, ou com lacre, ou fazer um croqui do talhão.

4- O material a ser coletado será aquele que apresentar os sintomas, não importando

se em ramo, folha ou fruto independente da quantidade.

5 - As amostras mais importantes, são aquelas coletadas quando as plantas exibem os sintomas iniciais ou alterações, das quais se suspeita a doença;

6 - Amostras com sintomas iniciais, contêm quase sempre apenas o organismo causal da doença;

7 - Amostras coletadas a partir de plantas mortas ou em decomposição, na maioria das vezes, não possuem qualquer valor fitopatológico, pois nestas condições geralmente estão invadidas por outros organismos secundários e saprófitas;

Sintomatologia:

Em plantas infectadas, os sintomas nas folhas surgem como pontos necróticos de 1 a 2mm de diâmetro, com ou sem halos amarelados, algumas vezes coalescendo e causando a morte de extensas áreas do limbo foliar. Nas nervuras e pecíolos das folhas, nos ramos e ráquis dos frutos formam-se manchas escuras e alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra conhecidas como cancros. As bagas são desuniformes em tamanho e cor (NAYUDU, 1972) podendo apresentar lesões necróticas. A intensidade dos sintomas causados por *X. campestris* pv. *viticola* varia segundo o nível de tolerância da variedade à doença e segundo as condições ambientais (LIMA, 2001).



Manchas localizadas nas nervuras e nos bordos das folha
Ana Rosa Peixoto Nascimento



Bagas desuniformes em tamanho e cor

Ana Rosa Peixoto Nascimento



Ramos com sintomas de cancro da videira

Ana Rosa Peixoto Nascimento



Ráquis com sintomas de cancro da videira
Ana Rosa Peixoto Nascimento



Foto: G. Kuhn).

Observação geral : O preparo, acondicionamento e envio das amostras, devem ser seguidos conforme metodologia demonstrada no “procedimento para Sigatoka negra”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FREIRE, F.C. C. Considerações sobre coleta de amostras para exame fitopatológico. EMBRAPA-CPATU, Belém, PA, 1986. 16p.
- Hérculis D. C. et. alli. Manual de coleta de amostras para análise fitopatológica – FESURV, . Rio Verde Go, 2005. 20 p.
- BOLAÑOS, L. M. **Ficha técnica Moko *Ralstonia solanacearum* raza 2.** Dirección SENASICA. Sagarpa, México.
- Departament mof Agriculture and Food, Moko disease Raltonia Solanacearum. (Race 2 biovar 1) Note 175. Australia, 2001.
- Pereira, José Clério Rezende. Contribuição para reconhecimento das sigatokas negra e amarela e das doenças vasculares da bananeira/ José Clério Rezende Pereira, Luadir Gasparotto. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005
- Tim R. Gottwald, USDA, ARS, Orlando, Florida – James H. Graham, University of Florida, Lake Alfred, Florida – Citrus canker. The Plant Health Instructor, DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1002-01. Update 2005
- Manual de Cancro cítrico – FUNDECÍTRUS – Fundo de Defesa da Citricultura, 2006
- Gilmar Barcelos Kuhn, Thor Vinícius Martins Fajardo – Uvas Americanas e Híbridas para Processamento em Clima Temperado – Enbrapa Uva e Vinho – Jan. 2003