

TECIDOS VEGETAIS

Ciríaca A.F. de Santana do Carmo¹
Ana Rita de Araújo Nogueira²
Alaíde Soares de Oliveira³
Délcio Gomes de Almeida⁴
Francisco Duarte Fernandes⁴
Gilson Villaça Exel Pitta⁵
Gonçalo Mourão Carlos⁴
Henrique de Oliveira⁶
João Batista Mamão³
Maria José Aguirre Armelin⁷
Marcelo Francisco C. Saldanha¹
Mário Miyazawa⁸
Shirlei Scramim⁹
Washington de Oliveira Barreto¹
Yolanda A. Rufini¹⁰

1. INTRODUÇÃO

A análise química de tecido vegetal consiste na determinação de teores dos elementos, principalmente em folhas, resultando em diagnóstico do estado nutricional da planta, que irá permitir, por sua vez, avaliação complementar das condições da fertilidade do solo. Esse diagnóstico refletirá os efeitos da interação solo-planta-clima e também do manejo, constituindo-se ferramenta importante no estabelecimento de um programa racional de adubação, que permita o adequado suprimento de nutrientes.

¹ Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

² Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

⁴ Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

⁵ Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

⁶ Embrapa Pantanal, Corumbá, MS

⁷ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, São Paulo, SP

⁸ Instituto Agronômico do Paraná, IAPAR, Londrina, PR

⁹ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

¹⁰ Centro Nacional de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba, SP

No entanto, para diagnóstico mais seguro, deve-se levar em conta a variação quantitativa dos elementos nos tecidos vegetais. Os fatores que influenciam a concentração dos elementos são os seguintes:

- fatores inerentes à planta: espécie, porta-enxerto, idade fisiológica, sistema radicular;
- fatores inerentes às condições ambientais: tipo de solo, clima, relevo, drenagem, manejo;
- fatores inerentes à interação dos itens citados, como, por exemplo, estado fitossanitário.

A desconsideração desses fatores pode acarretar erros na interpretação dos resultados das análises, com possíveis conseqüências negativas na orientação da adubação a ser empregada.

É oportuno observar que, dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostras é a mais crítica. Em geral, é nessa etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo. Por isso, os passos do procedimento de pré-tratamento de amostras deverão ser sempre considerados cuidadosamente.

2. AMOSTRAGEM

O princípio básico de amostragem consiste na seleção de partes da planta (normalmente folhas), que apresentem maior estabilidade possível em relação aos fatores que afetam sua composição. Por outro lado, devem apresentar alta sensibilidade quanto a variações de composição decorrentes de tratamentos experimentais ou variações de práticas de manejo da cultura.

As amostras devem ser colhidas quando as culturas estiverem apresentando seu maior crescimento vegetativo, antes de atingirem o florescimento. A época de coleta

varia de cultura para cultura. A parte da planta requerida para amostragem também é de grande importância, pois há diferenças no teor de nutrientes entre folhas, caules e raízes. No caso de determinações para pesquisa, recomenda-se analisar a planta separadamente (raiz, caule e folhas). As folhas recém-maduras são os órgãos que melhor representam o estado nutricional da planta, uma vez que são o centro dos processos metabólicos e refletem bem a composição e as mudanças na nutrição. Deve-se levar em consideração a época do ano em que será coletada, a posição da folha no vegetal, o número de folhas por planta e por área. Deve-se também tomar as seguintes precauções:

- não misturar folhas de variedades ou espécies diferentes;
- não misturar plantas que apresentem visualmente sintomas de deficiência nutricional com plantas de aparência normal;
- não misturar, em nenhum caso, folhas com idades fisiológicas diferentes;
- no caso de plantas perenes, não colocar na mesma amostra folhas de ramos produtivos e folhas de ramos vegetativos;
- no caso de plantas perenes enxertadas, não misturar folhas de plantas que tenham copa ou porta-enxerto diferentes;
- coletar folhas livres de doenças, insetos e danos mecânicos;
- evitar a mistura, na mesma amostra, de folhas de plantas que não representem a condição média da lavoura ou pomar;
- evitar a coleta de amostras de folhas logo após adubação no solo ou foliar e/ou pulverizações com defensivos;
- evitar amostras de plantas próximas de estradas ou de carregadores.

A fim de ilustrar este documento, a Tab. 1 apresenta o número, parte da planta e o tipo de folhas que devem ser coletados para a análise, assim como a época de amostragem, em função da cultura.

Tabela 1. Procedimento de amostragem para diagnose foliar em diversas culturas

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	N ^o de folhas e n ^o de plantas
Abacateiro	Limbo	3 ou 4 meses da brotação da primavera	4 folhas/árvore, nos 4 pontos cardeais, 25 árvores.
Abacaxi	Folha "D" inteira	No florescimento	1 folha por planta, amostra de 50 plantas.
Aipo	Pecíolo	Folha mais nova completamente desenvolvida, metade do ciclo vegetativo plantas com 25 e 35 cm.	1 por planta, amostra de 50 plantas.
Alface	Nervura mediana da folha envolvente	No aparecimento da cabeça.	1 por planta, amostra de 50 plantas.
Alfafa	Seção média da haste	No florescimento	Amostra de 50 plantas.
Algodão	Limbo	Da 5 ^a folha a partir do ápice da haste principal, no florescimento (1 ^a folha é aquela completamente aberta).	1 por planta, amostras de 30 plantas.
Ameixeira	Folha com pecíolo	Da parte média do ramo do ano, situado à altura média da planta, no florescimento	4 a 8 folhas por árvore, nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Amendoim	Folha com pecíolo	Do 4 ^o raquído do ramo principal, a partir da base, sem contar os ramos cotiledonares.	Uma por planta, amostras de 50 plantas.
Amoreira	Limbo	Da 1 ^a folha adulta abaixo do ponto de crescimento, na época da colheita.	2 folhas por planta, amostras de 50 plantas
Arroz	Toda parte aérea	30 dias após a germinação	Amostras de 20 plantas.
Aspargo	Ramos	No outono, 30 cm superiores dos ramos, eliminando-se a haste.	Amostras de 25 plantas.
Aveia	Limbo	Das 4 primeiras folhas, a partir do ápice, no florescimento	Amostras de 50 plantas.
Bananeira	Folha	10 cm centrais da 3 ^a folha a partir do ápice, eliminando-se a nervura central, na época de emissão da inflorescência.	1 folha por planta, amostras de 25 plantas.
Batata	Folíolo	Da 3 ^a folha, a partir do tufo apical, aos 30, 50 e 70 dias.	Amostras de 30 plantas.

Continua

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Beterraba	Limbo	A partir da coroa intermediária, na metade do ciclo.	Amostras de 50 plantas.
Brócoli	Nervura central de folhas externas	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 plantas.
Cafeeiro	Folha com pecíolo	3 ^o par a partir do ápice dos ramos, da altura média da planta, no verão.	4 folhas por planta nos pontos cardeais, amostras de 25 plantas.
Cana-de-açúcar	Folhas	20 cm centrais da folha +3, excluída a nervura central, aos 9 meses de idade (obs.: para “cana de ano” a amostragem é feita aos 4-5 meses de idade)	1 por planta, amostras de 100 plantas.
Cenoura	Limbo ou toda a parte aérea	Das 4 primeiras folhas a partir do ápice, no florescimento.	Amostras de 50 plantas.
Couve de Bruxelas	Folhas sem pecíolo	Folhas mais novas, plenamente desenvolvidas no verão.	Amostras de 50 plantas.
Couve-flor	Nervura central das folhas externas	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 plantas.
Chá	Folhas	2 ^a folha a partir do ápice dos ramos não lignificados, maio a junho.	4 folhas por planta, amostras de 25 plantas.
Cítricos	Folha com pecíolo	Folhas geradas na primavera, com 6 meses de idade, nos ramos com frutos.	4 folhas por árvore nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Ervilha	Limbo ou pecíolo	Do 3 ^o nó a partir do ápice, quando a planta estiver com 8 a 9 nós	Amostras de 50 plantas.
Feijoeiro	Folhas	Todas as folhas no florescimento	Amostras de 10 plantas.
Fumo	Folhas	4 ^a e 6 ^a folhas acima da base no florescimento	Amostras de 30 plantas.
Macieira	Folhas com pecíolo	Do ramo do ano, no florescimento	4 a 8 por árvore, nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 árvores.

Continua

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Mandioca	Limbo (folíolo)	Da folha que faz um ângulo de 90 ^o com o caule (aproximadamente a 1 ^a folha a partir do ápice da haste principal). A 1 ^a coleta quando a planta tiver 1/3 de sua altura, a 2 ^a após a ramificação sobre os ramos primários e a 3 ^a coleta é feita sobre os ramos secundários.	Amostras de 30 plantas por época
Mangueira	Folha com pecíolo	Da parte média dos ramos do último ano, na altura média das plantas no florescimento.	4 folhas por árvores nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Milho	Folha	Colher o terço médio na folha +4, a partir do ápice, excluída a nervura central na idade de 9 semanas (folha um é aquela em que a inserção da bainha com o colmo é visível).	Amostras de 30 plantas.
Morangueiro	Limbo	Das 3 ^{as} folhas, a partir do ápice, no florescimento.	1 folha por planta, amostras de 50 plantas.
Nogueira Pecã	Folíolo	Um par da parte média da folha com ráquis que aparece nos ramos terminais, 6 a 8 semanas após o florescimento.	4 partes por árvore, nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 plantas.
Pastagem (gramíneas de várias espécies)	Porção da parte aérea, retirada pelo gado no pastejo	No verão	Amostra de aproximadamente 200 gramas de material fresco.
Pereira e Pessegueiro	Folhas com pecíolo	Dos ramos do ano no florescimento	4 a 8 folhas nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 plantas.
Pinheiro	Folhas (agulha)	Dos ramos do último ano, no verão	10 por árvore, amostras de 30 árvores.
Repolho	Nervura central da folha externa envolvente	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 folhas.

Continua

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Seringueira	Folhas sem pecíolo	Árvores até 4 anos: 2 folhas da base de um buquê terminal situado no exterior da copa e em plena luz. Essas folhas têm de 4 a 6 meses. Árvores com mais de 4 anos: 4 folhas da base em um mesmo buquê. Essas folhas devem ter de 10 a 12 meses.	Amostras de 25 árvores
Soja	Folha com pecíolo	3 ^{as} folhas, no florescimento.	Amostras de 30 plantas.
Sorgo	Folha	30 cm do terço médio da folha +4 a partir do ápice, excluída a nervura central na idade de 9 semanas.	Amostras de 30 plantas.
Tomate	Folhas sem pecíolo	1 ^a abaixo do 2 ^o cacho floral, na época da sua emissão.	Amostras de 30 plantas.
Trigo	Limbo ou toda a parte aérea	Das 4 primeiras folhas, a partir do ápice, no florescimento	Amostras de 50 plantas.
Videira	Limbo	Da 6 ^a folha a partir do ápice, no florescimento.	1 folha por planta, amostra de 25 plantas.

(Fonte: TRANNI et al., 1983; MILLS & JONES JUNIOR, 1996)

3. PROCEDIMENTO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE FOLHAS NO CAMPO

O procedimento para coleta de amostras de folhas é semelhante àquele descrito para amostragem de solo:

- caminhamento em ziguezague.
- caminhamento em x;
- caminhamento em nível.

As subamostras que formarão a amostra composta devem ter número aproximadamente igual de folhas.

3.1. COLETA DA AMOSTRA

O ideal é que a amostra chegue ao laboratório ainda verde (no máximo 2 dias após a coleta). Entretanto, caso não seja possível e para evitar o desenvolvimento de agentes patogênicos e/ou saprófitas, recomenda-se a lavagem, somente para as folhas verdes e vigorosas, com água corrente e posteriormente com água destilada. Em seguida, devem ser colocadas para secar em sacos de papel, em estufa de circulação forçada de ar, a temperatura que não exceda 65°C, até peso constante.

No caso de contaminação com terra, poeira e/ou resíduos de pulverizações foliares, esta lavagem deverá ser realizada com solução de detergente neutro isento dos macro e micro nutrientes minerais, normalmente determinados nos extratos de tecidos vegetais, e enxaguado várias vezes com água destilada e/ou deionizada. Este procedimento deve ser realizado antes que as folhas murchem.

O envio das amostras ao laboratório deve ser feito em sacos de papel comum ou de pano (algodão) ou em embalagem fornecida pelo laboratório. No caso de determinação de boro, utilizar papel encerado, pois o papel comum contamina a amostra com o elemento. Identificar a amostra e preencher o formulário indicando quais os elementos a serem determinados.

3.2. IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra deve ser identificada no laboratório contendo breve descrição, um número de entrada no laboratório, nome da cultura, nome do coletor, local e data da coleta, elementos a serem determinados e endereço para o envio dos resultados. Informações complementares, como temperatura e hora de amostragem também podem constar, pois são importantes para análise e interpretação dos resultados.

3.3. MOAGEM

A moagem deve ser realizada em moinho de aço inoxidável de bancada (tipo Wiley), com peneira de cerca de 1,00 mm (20-40 “mesh”). O moinho deve estar limpo e seco. Homogeneizar bem a amostra e moer quantidade suficiente para a análise. A maioria dos métodos de determinação utiliza entre 0,5 a 3,0 g de material moído. Material mais fino utiliza amostras na faixa de 0,5 a 1,0 g. No caso de materiais ricos em óleos ou resinas, sugere-se maceração em gral.

Amostras que envolvam grande volume de massa verde (> 2,0 kg) devem ser trituradas em partículas de 1,0 a 2,0 cm de comprimento com picadeiras ou facas de aço inoxidável, antes da secagem, misturadas uniformemente e então subdivididas.

3.4. ARMAZENAGEM

A amostra, depois de seca, moída e homogeneizada, deverá ser acondicionada em frasco limpo e seco, podendo ser de vidro, polycarbonato ou polietileno, com tampa plástica hermética. A amostra assim acondicionada deverá ser guardada em local fresco e seco, ao abrigo da luz. Para determinação de elementos voláteis, condições especiais de armazenagem deverão ser observadas.

3.5. INTEGRIDADE DA AMOSTRA

A integridade da amostra deverá ser preservada utilizando-se procedimentos adequados de custódia, manuseio, identificação e acondicionamento, desde a coleta no campo até a recepção no laboratório.

Quando as amostras são recebidas no laboratório, deve-se verificar os seguintes itens:

- danos físicos causados por embalagem e proteção inadequadas;
- perdas de amostras por vedação imprópria ou inadequada;
- contaminações possíveis, p.ex.: misturas de amostras de diversas origens;
- condições inadequadas de preservação para o transporte, p.ex.: temperatura, adição de preservativos e alta umidade;
- possíveis efeitos de contaminação por insetos ou outros microorganismos;
- estabilidade da amostra, ou seja, o tempo decorrido entre a coleta e a recepção no laboratório. A umidade poderá afetar a estocagem das plantas.

3.6. PROBLEMAS DE CONTAMINAÇÃO

O conhecimento das prováveis causas de contaminação é essencial para aumentar a eficiência de um programa de análise de plantas, especialmente para determinação de micronutrientes.

As estufas de secagem devem ser construídas em aço inoxidável e pintadas com tinta epóxi de boa qualidade; bandejas galvanizadas não devem ser utilizadas, devido à provável contaminação com zinco. Evitar a introdução sistemática ou acidental de elementos estranhos durante as várias operações analíticas. Sempre que possível, os reagentes devem ser armazenados em frascos de polietileno e para a lavagem da vidraria devem ser utilizados detergentes apropriados e enxaguados com água destilada e deionizada. Deixar pelo menos 24 horas em ácido nítrico, P.A., a 10% (v/v) ou ácido clorídrico, P.A., a 10% (v/v) e enxaguar novamente com água deionizada.

3.7. ARQUIVO DE AMOSTRAS

Após a realização das determinações, as amostras devem permanecer arquivadas por um certo período de tempo, para futuros estudos de confiabilidade.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAPMAN, H.D.; PRATT, P.F. **Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters**. Riverside: University of California, 1961. 305 p.
- MILLS, H.A.; JONES JR., J.B. **Plant Analysis Handbook**. Micro-Macro Publishing, Inc., 1996. 422p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201p.
- MARKET, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element in plant matrices. **Science Total Enviromental**, Brussels, v.176, p.45-61, 1995.
- QUEVAUVILLER, P. Conclusions of the Workshop- improvements of trace element determination in plant matrices. **Science Total Enviromental**, Brussels. v.176, p.141-148, 1995.
- TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1985. 188 p. (Boletim Técnico de Solos, 5).
- TRANI, P.E.; HIROCE, R.; BATAGLIA, O.C. **Análise foliar: amostragem e interpretação**. Campinas: Cargill, 1983, 18p.