

## CAPÍTULO 3 - TECIDOS VEGETAIS

Alaíde Soares de Oliveira<sup>1</sup>  
Ana Rita de Araujo Nogueira<sup>2</sup>  
Ciríaca A. F. de Santana do Carmo<sup>3</sup>, coordenadora  
Décio Gomes de Almeida<sup>4</sup>  
Francisco Duarte Fernandes<sup>4</sup>  
Gilson Villaça Exel Pitta<sup>5</sup>  
Gonçalo Mourão Carlos<sup>4</sup>  
Henrique de Oliveira<sup>6</sup>  
João Batista Mamão<sup>1</sup>  
Maria José Aguirre Armelin<sup>7</sup>  
Marcelo Francisco C. Saldanha<sup>3</sup>  
Mário Miyazawa<sup>8</sup>  
Shirlei Scramin<sup>9</sup>  
Washington de Oliveira Barreto<sup>3</sup>  
Yolanda A. Rufini<sup>10</sup>

### 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.

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; e
- fatores inerentes à interação dos fatores citados, como, por exemplo, estado fitossanitário.

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; <sup>2</sup>Embrapa Pecuária Sudeste; <sup>3</sup>Embrapa Solos; <sup>4</sup>Embrapa Cerrados; <sup>5</sup>Embrapa Milho e Sorgo; <sup>6</sup>Embrapa Agropecuária Oeste; <sup>7</sup>Embrapa Pantanal; <sup>8</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN; <sup>9</sup>Instituto Agronômico do Paraná, IAPAR; <sup>10</sup>Embrapa Meio Ambiente; <sup>10</sup>Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP

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 influenciam sua composição. Além disso, essas partes devem apresentar alta sensibilidade quanto a variações de composição decorrentes de tratamentos experimentais ou 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 adequada 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 e o número de folhas por planta e por área. Deve-se também tomar as seguintes precauções:

- não misturar folhas de variedades ou de espécies;
- não misturar amostras de plantas que apresentem visualmente sintomas de deficiência nutricional com aquelas de plantas de aparência normal;
- não misturar, em nenhum caso, folhas com idade fisiológica diferente;

- 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, de insetos e de danos mecânicos;
- evitar a mistura, na mesma amostra, de folhas de plantas que não representem a condição média da lavoura ou do pomar;
- evitar a coleta de amostras de folhas logo após adubação no solo ou foliar e/ou pulverizações com defensivos; e
- evitar amostras de plantas próximas de estradas ou de carreadores.

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

**TABELA 1. Procedimento de amostragem para diagnose foliar em diversas culturas.**

Cultura	Parte da planta	Idade, época posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Abacateiro	Limbo	3 ou 4 m da brotação da primavera.	4 folhas por 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 5ª folha, a partir do ápice da haste principal, no florescimento (1ª 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 4º ráquis do ramo principal, a partir da base, sem contar os ramos cotiledonares.	1 por planta, amostras de 50 plantas.
Amoreira	Limbo	Da 1ª 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 3ª 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 3ª folha, a partir do tufo apical, aos 30, 50 e 70 dias.	Amostras de 30 plantas.
Beterraba	Limbo	A partir da coroa intermediária, na metade do ciclo.	Amostras de 50 plantas.

*Continua*

Cultura	Parte da planta	Idade, época posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Brócoli	Nervura central de folhas externas	No início da formação da cabeça.	Amostras de 50 plantas.
Cafeeiro	Folha com pecíolo	3º 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	2ª folha a partir do ápice dos ramos não lignificados, de maio a junho.	4 folhas por planta, amostras de 25 plantas.
Citros	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 3º 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	4ª e 6ª folhas acima da base no florescimento.	Amostras de 30 plantas.
Macieira	Folhas com pecíolo	Do ramo do ano, no florescimento.	4 a 8 folhas por árvore, nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 árvores.
Mandioca	Limbo (folíolo)	Da folha que faz um ângulo de 90º com o caule (aproximadamente a 1ª folha a partir do ápice da haste principal). A 1ª coleta quando a planta tiver 1/3 de sua altura, a 2ª após a ramificação sobre os ramos primários e a 3ª 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.

*Continua*

Cultura	Parte da planta	Idade, época posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Milho	Folha	Colher o terço médio na folha +4, a partir do ápice, excluída a nervura central na idade de 9 semanas (folha 1 é aquela em que a inserção da bainha com o colmo é visível).	Amostras de 30 plantas.
Morangueiro	Limbo	Das 3 <sup>as</sup> 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.
Pastagens (gramíneas de várias espécies)	Porção da parte aérea, retirada pelo gado no pastejo	No verão.	Amostra de aproximadamente 200 g 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 folhas por árvore, amostras de 30 árvores.
Repolho	Nervura central da folha externa envolvente	No início da formação da cabeça.	Amostras de 50 folhas.
Seringueira	Folhas sem pecíolo	Árvores de 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 no mesmo buquê. Essas folhas devem ter de 10 a 12 meses.	Amostras de 25 árvores.
Soja	Folha com pecíolo	3 <sup>as</sup> 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 <sup>a</sup> abaixo do 2 <sup>o</sup> 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 <sup>a</sup> folha a partir do ápice, no florescimento.	1 folha por planta, amostra de 25 plantas.

Fontes: 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; e
- 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 das folhas verdes e vigorosas, com água corrente e posteriormente com água destilada. Em seguida, devem ser colocadas em sacos de papel, para secar em estufa de circulação forçada de ar, em temperatura que não exceda 65°C, até massa constante.

No caso de contaminação com terra, poeira e/ou resíduos de pulverização foliar, essa lavagem deverá ser realizada com solução de detergente neutro isento dos macronutrientes e dos micronutrientes minerais, normalmente determinados nos extratos de tecidos vegetais, e o material deverá ser enxaguado várias vezes com água destilada e/ou desionizada. Esse 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 com breve descrição, 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 (moinho de facas do tipo Willey), com peneira de cerca de 1 mm (20 a 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 e 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 kg) devem ser trituradas em partículas de 1 a 2 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, policarbonato 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 por meio de 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;
- perda de amostra, 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 microrganismos;
- estabilidade da amostra, ou seja, o tempo decorrido entre a coleta e a recepção no laboratório.

A umidade poderá afetar a qualidade da amostra durante a estocagem.

### 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, por causa da 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. Para a lavagem da vidraria devem ser utilizados detergentes apropriados e os frascos devem ser enxaguados com água destilada e desionizada. Deixar os frascos pelo menos 24 h em ácido nítrico, p.a., a 10% (v/v), ou ácido clorídrico, p.a., a 10% (v/v), e enxaguar novamente com água desionizada.

### 3.7. ARQUIVO DE AMOSTRAS

Após a realização das determinações, as amostras devem permanecer arquivadas por um certo período, 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.