

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIENCIAS AGRARIAS

A VITICULTURA NA ENCOSTA SUPERIOR DA SERRA GERAL
DO RIO GRANDE DO SUL: PROBLEMAS E PERSPECTIVAS

JULIANA CRISTINA VIECELLI

Trabalho apresentado como um dos
requisitos para obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo , pela
Universidade Federal de Santa
Catarina.

Orientador: Miguel Pedro Guerra
Supervisor: Gilmar Barcelos Kuhn

Florianópolis, Junho de 1994

138690

I

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Miguel Pedro Guerra, por sempre ter demonstrado interesse e boa vontade em me orientar.

Ao Engº Agro Gilmar Barcelos Kuhn, pesquisador da EMBRAPA/CNPUV, que com tanta simpatia e interesse aceitou me supervisionar durante meu estágio.

Além de todos os outros funcionários da EMBRAPA/CNPUV, em especial,

Ao Dr. Paulo R.D. de Oliveira,

Ao Dr. Sadi Manfredini,

Ao Dr. Umberto A. Camargo,

Aos técnicos Roque e Valtair,

Aos laboratoristas Adriano, Vanderlei, Volmir e Vânia e à bolsista Maria Luiza, por, de alguma forma, terem contribuído substancialmente para que esse estágio se tornasse possível e valioso,

E a minha família e a todos os amigos, pelo apoio durante toda trajetória da minha graduação.

II

DEDICATORIA

A Catharina Ercy, minha mãe, por representar para mim o maior exemplo de dedicação.

SUMARIO

	Página
1. Apresentação.....	01
2. Introdução.....	02
2.1. Aspectos gerais da região fisiográfica da Encosta Superior do Nordeste da Serra Geral do Rio Grande do Sul.....	03
2.1.1. Localização geográfica e caracte- rísticas edafoclimáticas de Bento Gonçalves.....	03
2.1.2. A tradição da vitivinicultura na região de Bento Gonçalves, RS.....	05
3. EMBRAPA-CNPUV - Uma breve apresentação.....	08
4. A cultura da videira (<i>Vitis</i> spp.).....	09
4.1. Espécies e cultivares.....	09
4.2. Breves noções da morfologia e fisiologia dos principais órgãos da videira (<i>Vitis</i> spp.).....	10
4.2.1. raízes.....	11
4.2.2. caule, cepa ou tronco.....	11
4.2.3. ramos.....	11
4.2.4. folhas.....	12
4.2.5. flores.....	12
4.2.6. frutos.....	12
4.3. Condições edafoclimáticas básicas para o cultivo da videira (<i>Vitis</i> spp.).....	13
4.3.1. clima.....	13
4.3.2. condições hídricas.....	13
4.3.3. solo.....	13
5. Laboratórios da EMBRAPA/CNPUV e suas atividades básicas.....	14
5.1. Laboratório de cultura de tecidos.....	14
5.1.1. Apirenia.....	15
5.2. Laboratório do Enquimica.....	17
5.3. Laboratório de Fitopatologia e Virologia.....	18
6. Principais problemas fitossanitários que ocor- rem nos vinhedos da região.....	18
6.1. Pragas.....	18
6.1.1. Pérola da terra (<i>Eurhizococcus</i> <i>brasiliensis</i>).....	18
6.1.2. Filoxera (<i>Phylloxera vitifoliae</i>).....	21
6.1.3. Cochonilhas (<i>Icerya schrottkyi</i> ; <i>Lecanium persicae</i> e <i>Hemiber-</i> <i>lesia latanie</i>).....	21
6.1.4. Broca dos ramos.....	21
6.1.5. Mosca das frutas (<i>Anastrepha</i> <i>fraterculus</i>).....	22
6.1.6. Formigas.....	22
6.2. Doenças Fúngicas.....	22
6.2.1. Antracnose (<i>Elsinoe ampelina</i>).....	22
6.2.2. Mildio (<i>Plasmopara viticola</i>).....	22
6.2.3. Oidio (<i>Uncinula necator</i>).....	23
6.2.4. Podridão cinzenta(<i>Botrytis cinerea</i>).....	23
6.2.5. Podridão ácida.....	24

6.2.6. Fusariose (<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>Herbemontis</i>).....	24
6.3. Viroses.....	24
6.3.1. Micoplasmas, viróides e vírus.....	25
6.3.1.1. Como se dá a infecção por vírus nas plantas.....	26
6.3.2. Viroses: problema sério dos vi- nhedos do RS.....	27
6.4. Viroses já identificadas no mundo e no RS.....	28
6.4.1. Vírus do enrolamento da folha ("Grapevine leafroll").....	31
6.4.2. Vírus do intumescimento dos ramos ("Grapevine corky bark disease").....	35
6.4.3. Vírus da canelura do tronco da videira ("Grapevine stem pitting").....	37
6.4.4. Vírus dos entre-nós curtos da vi- deira ("Grapevine fanleaf virus").....	39
6.4.5. Vírus da necrose das nervuras ("Vein necrosis").....	41
6.4.6. Vírus das manchas das nervuras ("Grapevine Fleck disease").....	45
6.5. Importância da utilização de material vegetativo livre de vírus.....	48
6.5.1. Como Pode Ser Feito o Controle de Viroses.....	49
6.6. Métodos de controle e obtenção de material vegetativo livre de vírus.....	50
6.6.1. Seleção Sanitária.....	50
6.6.1.1. Seleção Morfológica.....	50
6.6.1.2. Seleção Biológica.....	51
6.7. Testes normalmente empregados para detecção de vírus em videira(<i>Vitis</i> spp.).....	51
6.7.1. Indexagem sobre cultivares indicadoras.....	51
6.7.2. Inoculação mecânica em plantas herbáceas.....	53
6.7.3. Serologia.....	54
6.7.3.1. Obtenção do anti-soro.....	54
6.7.3.2. Viroses para os quais é feito o teste.....	54
6.7.4. Testes para detecção de vírus em videira (<i>Vitis</i> spp.), execu- tados no laboratório de fitopatologia e virologia da EMBRAPA-CNPUV.....	55
6.7.5. Termoterapia.....	60
6.8. Controle de vetores.....	63
7. Métodos utilizados para multiplicação de clones com sanidade comprovada na EMBRAPA- CNPUV.....	64
8. Distribuição de Material sadio pela EMBRAPA-CNPUV.....	65
9. Diferenças entre viroses e sintomas de deficiências minerais em videira(<i>Vitis</i> spp.).....	66
10. Conclusão.....	68
11. Referências Bibliográficas.....	69
12. Anexos.....	72

Lista de Figuras	Página
Figura 01- Mapa do Rio Grande do Sul.....	05
Figura 02- Mapa de Bento Gonçalves e seus limites.....	06
Figura 03- Sequência de nucleotideos e estrutura secundária do víróide da doença da batata.....	25
Figura 04- Organização molecular do vírus do mosáico do tabaco.....	26
Figura 05- Planta infectada com vírus do enrolamento da folha cv. Cabernet Franc.....	34
Figura 06- Planta sadia da cultivar Cabernet Franc.....	34
Figura 07- Folhas da cv. Cabernet Franc infectada com o vírus do enrolamento (avermelhada) e ao lado, folhas de planta sadia da mesma cultivar.....	35
Figura 08- Planta infectada com o vírus do intumescimento dos ramos, cultivar porta-enxerto LN 33.....	37
Figura 09- Planta infectada com o vírus da canelura, cv. indicadora SBB.....	39
Figura 10- Planta infectada com vírus dos entre-nós curtos da videira, cultivar indicadora Rupestris du Lot.....	41
Figura 11- Planta infectada com vírus da necrose das nervuras porta-enxerto R110.....	44
Figura 12- Detalhe do teste de indexagem, sobre cultivares indicadoras, em casa de vegetação na EMBRAPA/CNPUV	51
Figura 13- Detalhe do teste serológico ELISA (Enzime - linked Immunoabsorbent Assay).....	58
Figura 14- Câmara de termoterapia (modelo: Estufa para B.O.D/ FANEM).....	60
Figura 15- Câmara para cultura "in vitro" de plântulas de videira.....	61
Figura 16- Casa de vegetação, EMBRAPA/CNPUV.....	61
Figura 17- Telado, EMBRAPA/CNPUV.....	61

1. APRESENTAÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Este relatório tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular, o qual tem, como principal meta colocar o estudante em contato direto com a realidade profissional.

O referido estágio abrangeu, dentro da Fruticultura, a cultura da videira e foi realizado na cidade de Bento Gonçalves, RS, na EMBRAPA/CNPBV - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ Centro Nacional de Pesquisa da Uva e do Vinho -, no período de 16.02.94 a 30.03.94.

As atividades desenvolvidas neste período foram as seguintes:

- Acompanhamento da confeita, no fim da safra, das coleções do referido Centro;
- Análise de mosto das uvas colhidas das coleções, sejam de pH, °Brix e acidez;
- Observação dos trabalhos referentes à obtenção de uvas apirenas no laboratório de cultura de tecidos;
- Realização de testes serológicos para a virose do enrolamento das folhas da videira ("grapevine leafroll") e para a virose dos entre-nós curtos da videira ("grapevine fanleaf virus");
- Inoculação mecânica em plantas herbáceas para detecção de viroses.

Decidiu-se, porém dar maior ênfase às viroses presentes nos vinhedos do RS, por este ser, atualmente, um dos sérios problemas enfrentados por todos que, de uma ou de outra forma, encontram-se ligados com a vitivinicultura. Sendo assim, procurou-se descrever tal problema mais detalhadamente, assim como as possíveis soluções já encontradas para contorná-lo.

Entretanto nas páginas que seguem são também abordadas questões que vão desde uma caracterização edafoclimática da região em questão até um breve comentário do que significa a tradição da vitivinicultura nesta.

Também são descritas outras patogenicidades de ocorrência comum nos vinhedos locais sem o que tornaria tal relatório incompleto.

2. INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis spp.*), cultura milenar e de ampla distribuição geográfica, sempre mereceu a atenção de muitas pessoas, das mais diferentes classes e dos mais diversos povos da humanidade.

De acordo com EINSET & PRATT(1975), o cultivo da videira é uma velha arte. Documentos relatam a viticultura e a fabricação de vinhos no Egito a 5000 ou 6000 anos a.C. Onde se iniciou a civilização humana, em uma região entre os mares Cáspio e Negro, a uva desenvolveu-se. Esta região é considerada pelos taxonomistas como o centro de origem da uva (*Vitis vinifera*) no velho mundo.

Já HENDRICK(1942) citado por SOUZA(1969), menciona achados frequentes de semente de uva de permeio como vestígios das populações pré-históricas e cujos frutos constituíam importante parte do seu cardápio.

SOUZA(1969), afirma então ser a videira já muito antiga sobre nosso planeta. Provavelmente a atual Groelândia e outras regiões hiperbóreas do Norte Europeu são o Centro Paleontológico de origem da videira, isto é, foi nestas áreas que se encontraram os fósseis mais antigos de plantas ancestrais das atuais vides cultivadas.

Na Itália, mais precisamente na Sicília, há indícios da viticultura em torno de 2000 anos a.C., muito provavelmente devido a corrente comercial desta ilha, com outras civilizações (DALMASSO, 1968).

Assim, com o passar dos anos, a vitivinicultura foi se expandindo no mundo, sendo que na Itália, tornou-se uma atividade de elevada importância, importância essa que foi trazida junto dos inúmeros imigrantes italianos que começaram a chegar no Sul do Brasil, em fins de 1800. Desta forma, estava nascendo a forte tradição do cultivo da uva nesta região brasileira, onde sua maior expansão se deu no Rio Grande do Sul, mais precisamente na Serra Gaúcha.

E, é na Serra Gaúcha, na Encosta Superior do Nordeste do Rio Grande do Sul, que se encontra a cidade de Bento Gonçalves, onde está instalada a EMBRAPA/CNPBV (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro Nacional de Pesquisa da Uva e do Vinho), justamente pela importância da cultura da videira na região e pela necessidade de, através da pesquisa juntamente com a assistência técnica, incentivar o homem a fixar-se no campo e perseverar no cultivo das vinhas.

Nas páginas que seguem, relatadas com base no estágio curricular realizado na EMBRAPA/CNPBV, buscou-se abordar com maior afinco um dos maiores problemas fitossanitários que afetam de sobremaneira os vinhedos da região em questão, assim com as soluções encontradas para a resolução parcial em alguns casos, e, total em outros para tal problema. Entretanto, procurou-se também, mesmo que brevemente, descrever a rotina de alguns setores do CNPBUV, como do laboratório de Enquímica e do laboratório de Cultura de Tecidos, além de se tentar mostrar algumas características peculiares da região da Serra Gaúcha, mais precisamente da cidade de Bento Gonçalves, indo um pouco além para que também se facilitasse, a quem possa interessar a leitura deste relatório, um entendimento maior do que realmente significa a vitivinicultura neste local, desde a chegada dos primeiros imigrantes italianos até a instalação das indústrias vinícolas da região.

2.1. ASPECTOS GERAIS DA REGIÃO FISIOGRAFICA DA ENCOSTA SUPERIOR DO NORDESTE DA SERRA GERAL DO RIO GRANDE DO SUL

O estado do Rio Grande do Sul, situa-se na posição do extremo meridional do país. Faz divisa ao norte, com o estado de Santa Catarina, com 959 km de extensão; ao oeste com a República Argentina, numa extensão de 724 km de fronteiras; ao sul, com a República do Uruguai, com 1.003,091 km e, ao leste, com o Oceano Atlântico, com 622 km de extensão. Sua área absoluta é de 282.480 km², e, da região sul corresponde a área de 34,23% do seu total (REIS et al., 1972).

Bento Gonçalves pertence à região fisiográfica da Encosta Superior Nordeste do RS, junto das localidades de Antônio Prado, Carlos Barbosa, Caxias do Sul, Cotiporã, Farroupilha, Fagundes Varela, Flores da Cunha, Garibaldi, Nova Roma do Sul, São Marcos, Vila Flores e Veranópolis (28).

2.1.1. LOCALIZAÇÃO GEOGRAFICA E CARACTERISTICAS EDACOCLIMATICAS DE BENTO GONÇALVES

Quanto à localização geográfica, Bento Gonçalves situa-se no Planalto da Serra Geral, Encosta Superior do Nordeste do RS, Microrregião 016-viticultora de Caxias do Sul. Está a 618m de altitude, a 29°10' de latitude e 51°25' de longitude, numa área de 516 km². Os dados meteorológicos (referentes ao período de 1961 a 1990) podem ser observados na tabela que segue:

Tab. 01 - Dados meteorológicos do Município de Bento Gonçalves, RS.

Normais meteorológicas Standard

		PRECIP!	DIAS	TEMP.	TEMP.	TEMP.	HUMID.	NEBULOS	DIREÇ!	VELO!
MESES	PLUVIOM!	COM	MEDIA	MEDIA	MAXIM	MINIM	RELAT	SIDADE	VENTO	MEDIA
	(mm)	PRECIPIDO	ARI	MEDIA	MEDIA	MEDIA	ARI	(0/10)	1a-2a	m/s
JAN	139,5	12	21,8	27,8	17,3	75	4,9	NE:SE	1,5	
FEV	138,9	11	21,7	27,5	17,3	77	5,0	NE:SE	1,5	
MAR	127,5	10	20,3	26,0	16,1	78	4,9	NE:SE	1,5	
ABR	114,5	9	17,5	22,9	13,3	78	5,0	NE:SE	1,5	
MAI	106,6	9	14,5	20,0	10,6	79	4,9	NE:SE	1,5	
JUN	156,8	10	12,8	17,9	8,6	79	5,3	NE:SE	1,6	
JUL	160,7	11	12,9	18,2	9,1	78	5,2	NE:SE	1,8	
AGO	164,7	11	13,6	19,2	9,3	76	5,5	NE:SE	1,8	
SET	184,7	12	14,9	20,4	10,6	76	5,7	NE:SE	1,9	
OUT	155,9	11	17,0	22,8	12,3	74	5,1	NE:SE	1,8	
NOV	139,5	10	18,9	24,8	14,2	73	4,9	NE:SE	1,7	
DEZ	143,8	10	20,7	26,7	16,0	72	4,8	NE:SE	1,6	
AÑO	1733,2	128	17,2	22,9	12,9	76	5,1	NE:SE	1,6	

* MEDIA DE 1961 A 1990 - PADRÃO INTERNACIONAL

* FONTE: EMBRAPA-CNPUV

* BENTO GONÇALVES, RS

Segundo REIS et al. (1972), é uma região bastante elevada, fria e úmida e sujeita a grande número de nevoeiros e geadas, além da ocorrência de neves. Grande parte de sua área pertence ao domínio da mata latifoliada, e de araucárias (*Araucaria angustifolia*) embora atualmente estejam bastante devastadas. A ocorrência de pinheirais é devida unicamente a fatores climáticos, pois sendo representantes mesófitos e ocupando algumas regiões acidentadas e de altitude semi-úmidas, estão a indicar temperaturas baixas, terras ácidas e com declives acentuados.

De acordo com o Relatório Técnico Anual da Unidade de Execução e Pesquisa de Ambito Estadual de Bento Gonçalves (1976), a região onde está localizada a EMBRAPA/CNPUV, segundo a classificação do prof. Ladislau Araújo, apresenta clima frio e úmido, com temperatura máxima entre 33 e 39°C e temperatura mínima alcançando 10°C negativos, sendo a temperatura média anual de 19°C.

Como o relevo da região é bastante acidentado, sua insolação é bastante prejudicada, principalmente porque a leste do planalto há uma acentuada inclinação para o Sul, com exceção da sua parte setentrional, que se inclina para o Norte, na direção do Rio Pelotas, que dispõe de uma melhor exposição. Nesta, encontram-se também os chamados campos de cima da serra, nos arredores de São Francisco de Paula, Bom Jesus e Vacaria, que pertencem à mesma formação edáfica, mas destoam da fisionomia climática em vários aspectos (REIS et al., 1972).

Quanto ao solo, segundo o Relatório Técnico Anual da Unidade de Execução de Pesquisa de Ambito Estadual de Bento Gonçalves (1976), na região predominam os solos pertencentes às unidades de mapeamento Ciriaco-Charrua e Caxias-Farroupilha-Carlos Barbosa. Os solos Ciriaco-Charrua apresentam-se levemente ácidos com saturação de bases alta, com teor de alumínio trocável praticamente nulo. Seus teores de matéria orgânica são de médios a altos, os de fósforo baixos e os de potássio altos. Os solos Caxias-Farroupinha-Carlos Barbosa são ácidos com saturação e somas de bases de média a baixa e com alto teor de alumínio trocável; possuem teores de matéria orgânica médio e de fósforo e de potássio baixos. O relevo acidentado torna os solos da região susceptíveis à erosão e dificultam a mecanização.

2.1.2. A TRADIÇÃO DA VITIVINICULTURA DA REGIÃO DE BENTO GONÇALVES (RS)

O aparecimento dos primeiros conquistadores da região onde se situa o município de Bento Gonçalves, está ligado a causas económicas, as quais por sua vez, estão ligadas às lutas hispano-lusitanas na região Platina do RS.

Segundo registros na Biblioteca Pública da cidade de Bento Gonçalves, até 1870 o local era conhecido por "Cruzinha", hoje, Bento Gonçalves. Situado na Serra do Planalto Rio-Grandense, foi habilitada inicialmente por colonizadores franceses e italianos. Estes últimos procuraram a região por ser bastante semelhante àquela em que viviam na Itália. Os imigrantes saíram de lá devido a pressão demográfica, às crises políticas e aos problemas da agricultura, que estava em péssimas condições.

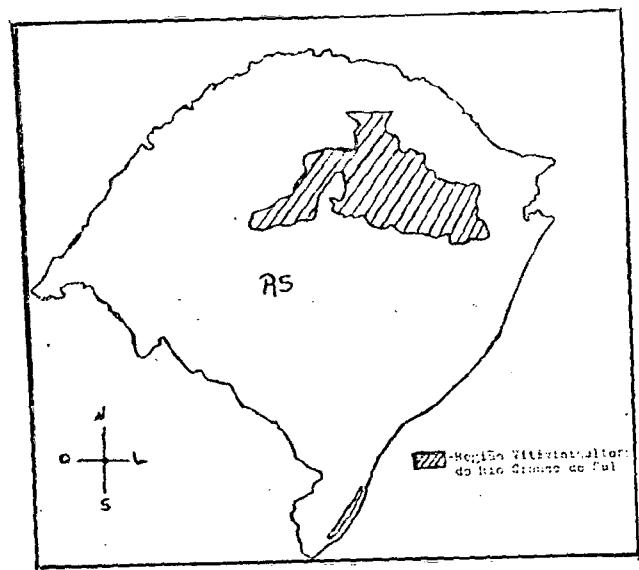


Fig.01 - Mapa do RS

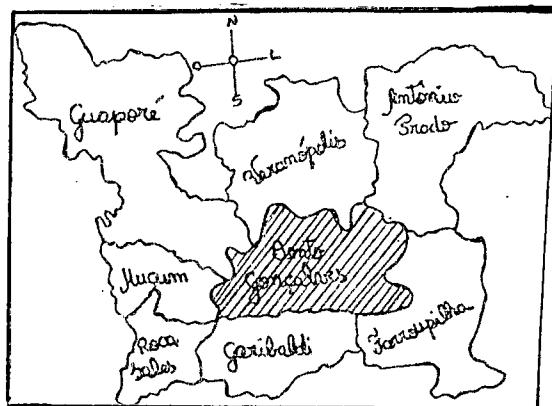


Fig.02 - Mapa do Município de Bento Gonçalves e seus limites

Assim, a partir de 1910 a vitivinicultura começou a ser praticada, constituindo-se a partir de então, na principal riqueza do município, sendo que até a referida data, a principal fonte econômica do município estava fundamentada basicamente sobre as culturas de milho, trigo, soja e da suinocultura. Atualmente, a indústria moveleira também contribui substancialmente com a economia da cidade e da região. Porém, é sobre a vitivinicultura que a economia e as tradições da região estão mais fortemente calcadas.

Em 1925 começam a despontar as indústrias vinícolas de Bento Gonçalves, a seguir descritas, para que se tenha uma noção do panorama industrial vinícola da região, sendo que o cultivo da uva foi, então, mais ainda estimulado:

Dreher Heublein - Fundada em 1910, foi uma das primeiras vinícolas a se instalar na sede do município; é uma das maiores indústrias de bebidas do Brasil. Os principais vinhos que produz são o Marjolet, o Rosé Dreher, o Tinto Dreher, o Branco Dreher, entre outros;

Vinícola Aurora - Fundada em 1931 no distrito de Monte Belo, é uma das principais vinícolas do país, produzindo alguns dos melhores vinhos nacionais. Os principais vinhos que produz são o Sangue de Boi, o Costebel, o Mosteiro, o Conde de Foucauld, entre outros;

Companhia Mônaco - É a mais antiga vinícola de Bento Gonçalves, sendo fundada em 1908. Foi a 1^o empresa a exportar suco de uva para os Estados Unidos, em 1972. Os principais vinhos que produz são o Santa Ursula, o Rosé, o Algarves e o Chateau Charmeton;

Vinícola Monte Lemos - Foi fundada em 1974, em Faria Lemos. O principal vinho que produz é o Do lugar;

Vinhos Salton - Fundada em 1910, situa-se bem no centro da cidade. Os principais vinhos que produz são Presidente, Vinho Castel, além do conhaque Presidente, suco de uvas Salton, Drink Salton, entre outros;

Vinícola Fontanive - A sede vinícola situa-se na Linha Leopoldina, distrito de Bento Gonçalves e os principais vinhos que produz são o Tinto Reservado, o Branco Fontanive, o Cave du pont, entre outros.

O RS é nacionalmente responsável pela maior produção de uvas, com uma produção, em 1990, de 538.705 toneladas de uva, o que corresponde a 68,5% da produção do país, além dos 263 milhões de litros de vinho e de mosto de uva, o que representa 93% da

produção nacional (Censo Agropecuário, 1985 e Anuário Estatístico, 1991).

Porém, dentro do estado do RS, a viticultura é concentrada na Serra Gaúcha, na Microrregião de Caxias do Sul (MR-016), em que, de acordo com FREIRE et al., (1992), esta é responsável por 88,08% da produção de vinhos nacionais e por 68,71% da produção nacional de uvas (médias de 1989/1991); tendo ainda, que, dentro desta microrregião, os principais produtores de uva são os municípios de Bento Gonçalves e de Flores da Cunha, com 30,33% e 23,32% das uvas processadas no estado, respectivamente.

Tab.02 - Participação dos Municípios da MR-016 viticultura de Caxias do Sul, em área plantada(ha) e em produção de uvas (t e %)

Município	Área (ha)	Produção (t)	Produção dest. a agroindústria (t)					
			(%)	1988	1989	1990	1991	1992
Antônio Prado	1811	30209	6,0	23691	12948	16629	7863	8928
Bento Gonçal.	7526	134694	26,9	153418	103936	121913	89109	102675
Carlos Barbosa	418	4911	1,0	3367	860	976	686	764
Caxias do Sul	4524	77147	15,4	60184	47965	54062	36524	42806
Cotiporã	776	8802	1,8	9138	7047	8386	5600	5680
Fagundes Varela*	-	-	-	-	744	1286	1080	719
Farroupilha	3072	55014	11,0	51182	43539	47959	33482	39303
Floripa Cunha	5504	103833	20,8	88856	78466	93441	65003	78955
Garibaldi	3379	55893	11,2	55383	38045	46471	33210	34914
Nova Roma do Sul*	-	-	-	-	4969	6300	4318	4747
São Marcos	1077	18342	3,7	15734	13777	15470	7504	14502
Veranópolis	905	10968	2,2	8710	4924	5501	4409	4157
Vila Flores*	-	-	-	-	375	547	428	410

FONTE: CENSO AGROPECUÁRIO , (1985) citado por FREIRE et al., (1992).

* Municípios emancipados após 1985

3. A EMBRAPA/CNPBV - RECONHECIMENTO DA EMPRESA

Através da pesquisa agropecuária, pode-se aumentar substancialmente a produtividade agrícola de um país, a partir de tecnologias adequadas, melhorando a eficiência produtiva, reduzindo custos de produção e reduzindo a dependência externa de tecnologias, insumos e materiais genéticos.

A EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, foi instalada em 26 de abril de 1973 e já gerou mais de oito mil tecnologias, tendo como objetivo gerar e transferir tecnologias que garantem a qualidade dos produtos agrícolas e agroindustriais que são oferecidos no mercado.

Atuando através de suas unidades de pesquisas, esta se faz presente em todos os estados brasileiros, com 9.700 empregados, dentre estes, 2.082 pesquisadores, administrando um orçamento aproximado de US\$ 30 milhões/ano.

Está sob sua responsabilidade a coordenação do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária - SNP, constituído por instituições cooperadas que executam pesquisas em áreas geográficas e/ou em campos definidos de conhecimentos científico. A partir de janeiro de 1991 passou a coordenar o Sistema Brasileiro da Assistência técnica e Extensão Rural - SIBRATER, dando ênfase ao desenvolvimento sustentável dos sistemas agrossilvopastorais.

Também a empresa mantém amplo contato com entidades internacionais, aprimorando e partilhando de seus conhecimentos técnicos-científicos, principalmente com países latino-americanos e africanos.

O Centro Nacional de Pesquisa da Uva e do Vinho - CNPBUV, está localizado no município de Bento Gonçalves, RS, onde nesta região está concentrado o maior polo vitivinícola do país, sendo este, órgão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.

O CNPBUV conta com duas bases físicas, localizadas nos municípios de Bento Gonçalves e Garibaldi, RS, perfazendo um total de 124 ha. A base principal, localizada na cidade de Bento Gonçalves, conta com uma área construída da 11 mil m², compreendendo: centro administrativo, centro técnico, laboratório de análises sensorial, biblioteca, cantina, vinagreira, casas de vegetação, telados, estufins, estação agroclimatológica, oficina e garagem. Da estrutura do centro técnico, constam: laboratório de cultura de tecidos, de fitopatologia e virologia, de enoquímica, de microbiologia, de entomologia, de fisiologia vegetal, setor de instrumentação e setor de métodos quantitativos.

O quadro funcional do CNPBUV é de aproximadamente de 130 funcionários, distribuídos entre as áreas de apoio administrativo, apoio técnico e equipe técnico-científica, sendo esta formada por aproximadamente 20 pesquisadores.

Além das pesquisas desenvolvidas, outros serviços são prestados pelo CNPBUV, dentre eles, o serviço de diagnósticos fitossanitário, identificação varietal de videiras, quarentena do material vegetativo importado, serviço de análises químicas e microbiológica de vinhos e derivados, sistema de alerta e monitoramento para o controle de doenças e a produção e distribuição de material vegetativo livre de vírus, além de leveduras selecionadas pela EMBRAPA destinadas a vitivinificação.

Também, o CNPUV coordena o Programa Nacional de Pesquisa de Vitivinicultura, interatuando com aproximadamente 15 empresas estaduais, institutos de pesquisa e universidades de diversos estados. Mantém também uma programação conjunta com a Estação Experimental de Caxias do Sul, da Secretaria da Agricultura.

Com a EMATER, executa um Protocolo Operacional que permite a imediata transferência de tecnologias desenvolvidas e que beneficiam diretamente o produtor rural.

Através de ajustes, coopera com a Defesa Sanitária Vegetal e com a Companhia de Financiamento da Produção do Ministério da Agricultura.

No âmbito internacional, além de participar de programas de treinamento e capacitação contínua com diversos países, mantém convênios com países do Cone Sul, na América Latina, e com o Institut National de la Recherche Agronomique, da França. Participa, ainda do programa de Desenvolvimento da Pesquisa Agropecuária da Região Centro - Sul, que conta com recursos do Banco Interamericano de Desenvolvimento.

TECNOLOGIAS GERADAS

Dentre os principais resultados já obtidos pelo CNPUV, podemos citar:

- Obtenção e distribuição de material básico de videira (com identidade varietal e sanidade comprovada) das principais variedades de interesse comercial.
- Seleção e lançamento da primeira levedura nacional para elaboração de vinhos e champanha.
- Identificação e controle do agente contaminante do suco de uva concentrado.
- Definição de sistemas de produção para o cultivo da videira, tecnicamente adequados e economicamente rentáveis.
- avaliação, seleção e recomendação de diversas variedades de videira que já estão em cultivo.
- Geração de recomendações diversas sobre adubação e manejo do solo, poda e enxertia da videira.
- Desenvolvimento de métodos e alternativas tecnológicas para o controle das principais pragas e doenças fúngicas da videira.

4. A CULTURA DA VIDEIRA

4.1. ESPECIES E CULTIVARES

A videira é uma planta sarmentosa, pertencente à família das vitáceas (KUHN et al., 1986/b). Tal família possui 11 (onze) gêneros e cerca de 450 espécies, (SOUZA, 1969). Dentro os diversos gêneros existentes desta família, o gênero Vitis é o de maior importância e inúmeras são as espécies pertencentes a este gênero, sendo as de maior interesse econômica as videiras europeias (Vitis vinifera), as videiras americanas (Vitis labrusca, Vitis bourquina) e as híbridas (Vitis spp.), as quais têm suas principais características abaixo descritas, segundo KUHN et al., (1986/b):

a) Videiras Europeias (*Vitis vivifera*): As cultivares que representam melhor qualidade pertencem a esta espécie, a qual ocupa a maior parte da área cultivada com videiras no mundo. São plantas exigentes quanto as condições de clima, preferindo os secos, com baixa umidade relativa do ar e bastante insolação. No Brasil, muitas variedades são cultivadas e destinadas à vinificação. As principais são as seguintes: Trebiano, Cabernet Franc, Barbera, Moscatel Italiano, Riesling Itálico, Calitor, Peverella, Malvasia, Merlot, Bonarda, Sémillon, Canaiolo, Sangiovese, Gamay, Palomino, Pinot Noir, Lambrusco, Grand Noir de la Calmette e Aligoté. Para o consumo "in natura", as cultivares mais plantadas são: Pirôvano 65 ou Itália, Pirôvano 54 ou Perlona, Moscatel ou Hamburgo, Alphonse Lavalle e Golden Queen, Cardinal, Corniola de Milazzo, Moscatel Rosado e Regina.

b) Videiras Americanas (*Vitis labrusca*, *Vitis bourguina*): Predominam em área cultivadas no Brasil. São mais fáceis de se cultivar por sua maior resistência às doenças e pragas, além de tolerarem melhor as condições climáticas com alta umidade relativa. Predominam em área cultivada no Brasil. As cultivares americanas da espécie *labrusca* produzem uvas de qualidade inferior para vinificação, porém são aptas a elaboração de sucos e apreciadas para o consumo "in natura". Dentro deste grupo, podemos citar as cultivares Isabel, Concord, Niágara Branca, Niágara Rosada e a Bordô, como as mais plantadas no Brasil. As cultivares *Vitis bourguinamais* importantes no Brasil são a Jacquéz e a Herbemont, pois suas uvas podem ser utilizadas na elaboração de vinhos comuns ou destilados.

c) Videiras Hibridas (*Vitis spp.*): São cultivares provenientes de cruzamentos e que, de uma maneira geral, apresentam maior resistência às molestias e pragas do que as viníferas, tendo qualidade um pouco superior às americanas para vinificação. Por muito tempo receberam a denominação de híbridos produtores diretos, já que eram plantadas de pé franco por apresentarem resistência à filoxera. Entre as principais cultivares hibridas encontradas no Brasil, pode-se citar a Seibel 2, a Seibel 10096 e a Couderc 13. Também estão neste grupo os porta-enxertos mais utilizados, como 101-14, o 304, o Kober 5-BB, o 420A, o 161-49 e o R99, todos de origem americana, apresentando como principal característica a alta resistência à filoxera (forma radicular).

4.2. BREVES NOÇÕES DA MORFOLOGIA E FISIOLOGIA DOS PRINCIPAIS ÓRGÃOS DA VIDEIRA

A videira é uma planta sarmentosa, quando cresce espontaneamente. Porém, ainda que apresente diferenças de aspecto vegetativo, todas as videiras situam-se num mesmo gênero botânico.

A videira tem diversas partes e cada qual, que possui uma função definida é chamada órgão, sendo que os principais serão brevemente descritos a seguir, assim como suas principais funções:

4.2.1. RAIZES

As raizes têm por finalidade básica fixar a planta e retirar água e nutrientes do solo.

Segundo SOUZA(1969) na prática, o que interessa, é o sistema radicular dos diversos porta-enxertos adotados, porque a raiz própria da videira, verdadeiramente não tem função, uma vez que nossas culturas de pés fracos são muito raras. Contudo, algumas híbridas podem e devem ser cultivadas sobre suas próprias raízes, por se comportarem melhor do que se fossem enxertadas.

Quando proveniente de uma semente, a videira produz uma raiz principal que se aprofunda no solo e, ramificando-se, dá origem às raizes secundárias, terciárias e assim sucessivamente, formando o sistema radicular. No entanto, quando a videira é originada de uma porção do lenho, uma estaca, por exemplo, que é sua forma usual de multiplicação, possui diversas raízes mestras que partem de um ou mais pontos de inserção(nó), originando o sistema radicular.

A raiz possui quatro zonas distintas, a saber: zona da extremidade, zona de crescimento, zona de absorção (com a presença de finíssimas raízes de coloração amarela), zona de ligação (liga a zona de absorção ao coletor ou nó vital).

O sistema radicular, é, portanto, ramificado e quando as condições de solo e clima são favoráveis, as raízes atingem uma ampla área (KUHN et al.,1986/b).

4.2.2. CAULE, CEPA OU TRONCO

E a parte permanente da videira que emerge do solo e sustenta o conjunto vegetativo da planta, formado de ramos, folhas e frutos, sendo composto principalmente de feixes e vasos liberianos (transporte de seiva bruta e elaborada).

A altura de uma cepa varia de acordo com o sistema de condução adotado no vinhedo (KUHN et al.,1986/b).

4.2.3. RAMOS

Os ramos da videira recebem diferentes denominações, conforme a idade.

Na primavera, quando se inicia a brotação, estes recebem a denominação de brotos, os quais podem ser produtivos ou ladrões. Ao adquirirem um tamanho maior, os brotos serão denominados sarmentos ou varas, os quais apresentam-se lenhosos no fim do ciclo vegetativo.

A partir de dois ou mais anos de idade, o ramo recebe a denominação de braço ou cordão. Os sarmentos ou varas apresentam, de distância em distância, uma proeminência denominada nó, onde localizam as gemas ou olhos. As gemas ficam na base do pecíolo das folhas, em cujo lado oposto encontram-se uma gavinha ou cacho (KUHN et al.,1986/b).

4.2.4. FOLHAS

A videira é uma planta de extensa área foliar, sendo que as folhas são compostas de pecíolo e limbo, sendo que o limbo tem duas faces diferentes, ou seja, a superior e a inferior.

As folhas podem diferenciar espécies e cultivares entre si, a partir de sua forma, cor, aspecto, seio peciolar, etc.

4.2.5. FLORES

As flores na videira apresentam-se em forma de uma cacho de botões, ou, botanicamente falando é uma inflorescência chamada tirso. É uma flor hermafrodita, ou seja, possui estruturas masculinas e femininas, sendo que algumas cultivares possuem flores com órgãos sexuais atrofiados. Quando os órgãos atrofiados são os femininos diz-se que é uma flor funcional masculina, e vice-versa.

O órgão masculino compõem-se de estames, sendo estes formados por uma parte delgada denominada filete, que sustenta em sua extremidade superior a antera, de onde se origina o pólen. O órgão feminino é formado pelo ovário, que contém os óvulos e é formado pelo estilete, que é um tubo de continuação do ovário e pelo estigma, que se localiza na extremidade do estilete e é destinado a receber o grão de pólen para a germinação.

O florescimento perdura por uma a três semanas, sendo que dias ensolarados permitem um bom florescimento assim como uma boa fecundação. Da fecundação do óvulo se terá a origem das bagas; porém, quando, ou por motivos climatológicos ou por defeitos florais, não há fecundação, diz-se que houve desavinho, isto é, não formação do fruto.

4.2.6. FRUTOS

O fruto da videira é denominado baga. O cacho de pedúnculo e ramificações que correspondem ao engace ou engaço, cujas extremidades são denominadas pedicelos, são as estruturas nos quais estão presas as bagas. A parte do pedicelo que penetra na baga é denominada pincel. Os cachos apresentam, normalmente várias formas, sendo mais frequentes as formas cónicas, cilíndricas e ramosas.

Quanto às bagas, estas também apresentam várias formas, dentre as quais, ovóides, redondas, alongadas, recurvadas e achataidas. As bagas são constituídas pela película que contém a parte corante e é revestida por uma substância cerosa denominada pruina. A película envolve a polpa que contém o suco ou mosto. Algumas cultivares possuem polpa colorida, outras não. No interior da polpa estão as sementes ou grainhas e, quando não existem sementes, diz-se que a uva é apirena (KUHN et al., 1986/b).

4.3. CONDIÇÕES EDAFOCLIMATICAS PARA O CULTIVO DA VIDEIRA

4.3.1. CLIMA

Segundo (32), a videira requer, do inicio ao fim do periodo de atividade vegetativa, temperaturas médias crescentes que vão de 10 a 23°C. Também requer um verão seco, de alta insolação e com temperaturas amenas, para uma boa qualidade de uvas para vinificação. Necessita de, no mínimo, 100 horas de frio abaixo de 7,2°C para o repouso (WEINBERGER, 1976). O número de horas de frio foi utilizado para limitar as zonas aptas e inaptas. Para as castas americanas, as zonas de mais de 100 horas de frio abaixo de 7,2°C foram consideradas aptas. Já para as castas européias, que são mais exigentes em frios, as áreas com mais de 500 horas de frio abaixo de 7,2°C foram ditas preferenciais, as que apresentam entre 400 e 500 horas de frio, marginais e as com menos de 400 horas de frio, inaptas(vide anexo 01).

4.3.2. CONDIÇÕES HIDRÍCAS

A videira, particularmente as castas de vinho, mostram-se muito resistentes a longos periodos de seca.

De acordo com WINKLER(1965), o desenvolvimento não se adapta a verões úmidos devido à susceptibilidade da videira a certas enfermidades, sendo que a chuva é conveniente durante o inverno, e sua falta pode ser compensada por irrigações.

O consumo de água, a medida que a videira se desenvolve, varia segundo o acréscimo de vegetação e com as variações de temperatura e dos ventos. Até a floração, o consumo de água é mínimo. Da floração à fecundação, são consumidos cerca de 10% do total da água necessária. Da fecundação ao inicio da maturação, aproximadamente 43%, e daí até a maturação completa, 45%.

A umidade relativa não deve ultrapassar os 80%, pois valores mais elevados, embora originem ramos mais vigorosos, favorecem igualmente ao ataque de fungos. Os ventos fortes de acordo com (32), também são muito prejudiciais.

4.3.3. SOLO

A videira é uma planta que se adapta a diversos tipos de solo, com exceção daqueles muito úmidos e turfosos. O solo apresenta grande influência sobre a qualidade e a quantidade da produção e deve ser levado em conta quanto à densidade do plantio, sistema de poda a adotar e a cultivar escolhida(KUHN et al., 1986/b).

Segundo WINKLER(1975), devem ser evitados para o plantio da videira, argilas pesadas, solos muito delgados, solos mal drenados e aqueles solos que contenham altas concentrações de sais de metais alcalinos, boro, ou outras substâncias tóxicas.

A videira, por ser uma planta de grande longevidade e por possuir raízes que se desenvolvem em diversas profundidades, necessita de um terreno onde seu sistema radicular possa se desenvolver normalmente e ai encontrar elementos nutritivos indispensáveis ao seu desenvolvimento(KUHN et al., 1986/b).

Sendo assim, para a videira são essenciais terrenos com bom teor de matéria orgânica, de textura mediana e que não possuam lençol freático à pouca profundidade. Por outro lado, solos excessivamente férteis elevam por demais o vigor vegetativo da planta, o que acarretará numa qualidade baixa da uva e do mosto, face à quantidade elevada de produção, o que não se deseja.

5. LABORATORIOS DA EMBRAPA/CNPUV E SUAS ATIVIDADES BASICAS

5.1. LABORATORIO DE CULTURA DE TECIDOS

O laboratório de cultura de tecidos do CNPUV desenvolve uma série de atividades em grande parte caracterizada como rotina de micropropagação, destinadas a trabalhos de conservação e multiplicação de germoplasma e ainda termoterapia. A conservação de germoplasma visa manter "in vitro" cultivares com identidade varietal e com sanidade comprovada. A atividade de multiplicação consiste em atender diversas finalidades, como: formação de viveiros de matrizes de porta-enxertos e produtoras livres de vírus, reposição de plantas nas coleções de germoplasma, fornecimento de mudas para estes e difusão de cultivares para a área de melhoramento e produção de plantas para uso da área de fitopatologia, em ensaios de controle biológico.

Aqui são realizados os processos de termoterapia, onde as plantas são cultivadas "in vitro", a partir de ápices vegetativos em temperaturas entre 35 e 38°C, durante, aproximadamente, 50 dias, até a repicagem. Esse processo é repetido por 2 ou 3 vezes, sendo as plantas a seguir submetidas ao procedimento de testes serológicos (neste caso, o que é realizado neste Centro é o ELISA) e a testes de indexagem para verificação da eficiência do tratamento. Recentemente, após o estabelecimento de um convênio com o Instituto Agronômico de Campinas,SP, iniciou-se um projeto para a obtenção de híbridos entre cultivares de uva de mesa apirênicas, através da cultura de óvulo e resgate de embriões.

Pretende-se, para o futuro, iniciar atividades direcionadas a interação com a área de microbiologia e com outras áreas de pesquisas do centro, além de promover uma maior integração com outras instituições.

Com relação ao período de estágio, no curto espaço de tempo em que se permaneceu acompanhando as atividades do referido laboratório, aqui foram observadas as técnicas para obtenção de uvas apirênicas, as quais economicamente são de grande importância, por produzirem frutos sem sementes, de grande aceitação para consumo "in natura", principalmente para o mercado externo. Devido a época em que foi realizado o estágio, somente pôde-se acompanhar a fase de repicagem das plântulas.

Porém, devido a importância de tal técnica, no ponto 5.2.1. descreveu-se resumidamente do que trata a apirenia e como é desenvolvida tal técnica no laboratório de Cultura de Tecidos.

5.1.1. APIRENIA

Aos frutos desprovidos de sementes se dá o nome de apirenos.

Como já citado, iniciou-se no laboratório de cultura de tecidos do CNPUV, um projeto para a obtenção de híbridos entre cultivares de uva de mesa apirénicas, através de cultura de óvulos e resgate de embriões.

A obtenção de cultivares apirenas de videira é busca incessante dos melhorista, mas o fato de a videira ser uma planta perene, torna este processo bastante demorado, devido a necessidade de utilizar progenitores femininos com sementes, em fases iniciais. Nos últimos anos, com o desenvolvimentos da técnica de resgate de embriões, tornou-se possível acelerar a obtenção dessas cultivares, em programas de melhoramento(PASSOS et al., 1992).

Os frutos apirenos de videira possuem tríplice finalidade - mesa, passa e vinho -, sendo que a ausência de sementes torna mais fácil e mais agradável o seu consumo "in natura", como uva de mesa; além de serem bastante procuradas e alcançarem preços elevados no comércio e ainda produzirem passas de melhor qualidade.

Devido a essa grande importância dos frutos apirenos, notou-se a necessidade de discorrer, mesmo que brevemente, sobre tal assunto, mesmo que a linha anteriormente traçada seja um pouco desviada; pois, vale no mínimo como curiosidade, saber um pouco mais do assunto em questão.

Basicamente, são conhecidos dois grupos de videiras desprovidos de sementes, oriundos de mutação, de importância universal: Corinto e Sultanina(SANTOS NETO, 1984).

Corinto possui frutos de pequeno tamanho, inteiramente apirenos, produzidos por partenocarpia. Suas flores são hermafroditas perfeitas, cujos estames produzem pólen viável, mas os óvulos são abortivos, de modo que a polinização não influi nas características dos frutos. O tamanho pequeno dos frutos limita o seu valor como uva de mesa. Mas na Grécia, são muito utilizados para a produção industrial de passa.

Sultanina é originária da Ásia menor, e constitui, justamente com Black Monuka, um segundo grupo de uvas apirenas, cujos frutos são de tamanho bem maior que os de Corinto. Suas flores são hermafroditas perfeitas, com pólen altamente viável, parecendo ser indispensável a polinização, afim de se contar com uma produção satisfatória de frutos. A fecundação não se efetua completamente, pois, os óvulos são afetados por anormalidades e abortamentos que se dão nos estágios iniciais do desenvolvimento das sementes. Assim sendo, muitos frutos possuem sementes rudimentares ou abortivas, de tamanhos diferentes, moles, polposas, e de aparência anormal. A essa modalidade de fecundação, seguida de abortamento do embrião, dá-se o nome de estenoespermia, e à formação dos frutos estenoespermocárpia.

As uvas apirenas estenoespermocárpicas, como frutos de tamanho maior, entre as quais inclue a Sultanina, são cultivadas para mesa e "passa". Além disso, ela vem sendo desde há muito, empregada em trabalhos de melhoramento, por pesquisadores de diversos países, com a finalidade de conseguirem novos tipos com características que melhor preencham as múltiplas exigências dos consumidores, da indústria e do comércio. Procura-se também obter um tipo adaptado à produção de vinhos. (SANTOS NETO, 1984).

O plantio e a expansão de uvas sem sementes para a indústria de passa, em condições econômicas,- tudo indica - tem grande possibilidades, se forem estabelecidos e florescerem no polígono brasileiro da seca, especialmente no Nordeste, que, desta maneira, proporcionaria ao nosso País uma grande economia de divisas, além de implantar e estabelecer uma nova e inestimável fonte de renda àquela privilegiada região do território nacional.

No Brasil, trabalhos iniciais com videira, utilizando o resgate de embriões cultivados "in vitro" têm mostrado bons resultados(PASSOS et al., 1992; OLIVEIRA & CAMARGO, 1993). A EMBRAPA/CNPNUV começou a aplicar esta técnica na safra 1992/1993. Contudo, resultados preliminares obtidos demonstram a necessidade da realização de estudos mais detalhados(OLIVEIRA & CAMARGO, 1993).

No laboratório de Cultura de Tecidos o programa que visa a obtenção de uvas apirenas, consta, basicamente, de uma determinada rotina, com a qual se tem o objetivo da obtenção de híbridos apirênicos x apirênicos pela cultura de óvulos e resgate de embriões antes do abortamento, alcançando-se com isto uma maior frequência de apirenia na progénie, resultando em aumento de eficiência do programa de melhoramento para uva de mesa,

Basicamente, a metodologia utilizada consta do seguinte:

O trabalho será executado nas safras 1993/94 e 1994/95 e consistirá nas comparações entre: (i) a dissecação completa do embrião x abertura de orifício no tegumento que os envolve e (ii) manutenção após germinação em meio MS semi-sólido + BAP (PASSOS et al., 1992) x meio de crescimento de Galzy semi-sólido (GALZY, 1964 citado por PASSOS et al., 1992).

Para tanto, serão feitos quatro cruzamentos, relacionados na tabela 1, dos quais serão empregados, de cada um, 400 óvulos ou sementes-trâço. Inicialmente, serão feitos a campo os cruzamentos controlados, empregando 3 a 4 cachos em cada um deles, de forma a obter-se o número suficiente de óvulos para a execução da pesquisa.

Cruzamentos a serem realizados.

A 1105 x Maria

A 1105 x CG 87746

A 1105 x Feal

A 1105 x CG 102295

Seis semanas após a polinização, os cachos serão coletados e as bagas abertas para a extração dos óvulos, com imediata transferência para frascos contendo meio de cultura ER líquido (EMERSHAD & RAMMING, 1984), citado por Oliveira e Camargo (1993), permanecendo sob fotoperíodo de 16/8 h e temperatura de 24 ± ou - 2°C. Após dois meses, os óvulos serão transferidos para o cultivo em MS + BAP líquido, durante um mês, e, na sequência, dissecados para a coleta dos embriões. Neste momento, metade, ou seja, 200 embriões oriundos de cada cruzamento, serão completamente dissecados, enquanto na outra metade será feita

apenas uma incisão no tegumento que envolve os embriões. Os embriões, nos dois casos, serão transferidos para tubos de ensaio individuais, contendo MS + BAP semi-sólido. Após a germinação, de cada 200 embriões, em cada cruzamento tratados similarmente quanto ao manejo da cobertura do embrião como descrito acima, 100 serão continuamente mantidos em MS + BAP semi-sólido, enquanto os 100 restantes passarão para o meio de crescimento de Galzy (vide anexo 2).

Os tubos contendo os embriões serão acompanhados semanalmente e a avaliação final será realizada oito meses após a polinização, considerando a porcentagem de plantas diferenciadas e normais, obtidas para cada tratamento, e executando-se os testes estatísticos adequados.

5.2. LABORATORIO DE ENOQUIMICA

O objetivo da enoquímica é o estudo analítico da composição química dos vinhos, onde se terá uma idéia da qualidade destes.

O laboratório de Enoquímica no CNPQUV desenvolve várias atividades, mas basicamente é aqui onde são realizadas as análises de vinho e de mosto (vinhos estes provenientes dos produtores da região, sob encomenda e dos projetos de pesquisa).

As análises de mosto são feitas durante toda a safra, quando diariamente são realizadas colheitas, como as que foram acompanhadas na ocasião, sendo que a uva, já a nível de campo, começa a ser analisada e, para cada variedade é preenchida uma ficha (vide anexo 3).

No laboratório, essa uva sofre os seguintes processos, nesta ordem:

- esmagamento e extração do mosto,
- centrifugação (por 15 minutos a 3500 R.P.M.),
- a partir do mosto centrifugado, são feitas análises de:
 - .acidez, por titulometria (5 ml de mosto + 45 ml de água + 4 gotas de fenolftaleína (indicador) + NaOH 0,1 N),
 - .pH (pHmetro),
 - .°Brix (refratômetro elétrico),
 - .densidade.

Todos os dados, então, de mosto e/ou do vinho de cada cultivar, assim como os dados obtidos a campo são fichados ao longo de 10 anos nas coleções de cultivares (vide anexo 4) e por 2 - 3 anos nas coleções de híbridos, verificando-se, assim, quais as variedades que poderão ser lançadas para o cultivo nas propriedades agrícolas.

5.3. LABORATORIO DE FITOPATOLOGIA E VIROLOGIA

O laboratório de Fitopatologia e Virologia do CNPUV desenvolve várias atividades, de fundamental importância, na área de doença de plantas.

Basicamente rotina do laboratório consta das seguintes atividades:

- testes serológicos(ELISA) para detecção de vírus do enrolamento das folhas e dos entre-nós curtos em videira;
- preparação de meios de cultura para isolamento e crescimento de microorganismos;
- isolamentos e identificação de microorganismo;
- preparações microscópicas para exame e diagnose das doenças da videira e outras culturas;
- preparação de líquidos de montagem para coloração de micélicos e esporos de fungos;
- preparo de amostras com sintomas de doenças da videira para conservação em meio líquido;
- preparo de inóculo para testes de patogenicidade;
- preparo de organismo para biocontrole de fungos;
- conservação de isolados de Fusarium oxysporumf. sp. Herbemontis para testes de resistência de espécies de videiras; entre outras atividades, que também sejam pertinentes a este laboratório.

Porém, durante o estágio em questão, buscou-se acompanhar somente ao que se havia proposto inicialmente, ou seja, ao que se refere aos testes serológicos (ELISA) para detecção de duas das principais viroses de maior importância nos vinhedos da região, o que será descrito adiante, com mais detalhes.

6. PRINCIPAIS PROBLEMAS FITOSSANITARIOS QUE OCORREM NOS VINHEDOS DA REGIÃO

Entre as causas de baixa produtividade da videira, uma das mais importantes é no que se refere aos problemas fitossanitários que podem ocorrer nos vinhedos.

A seguir, serão descritos os principais problemas fitossanitários, que ocorrem com maior frequência nos vinhedos da região de Bento Gonçalves, sejam os relacionados à pragas, doenças fúngicas e às viroses.

6.1. PRAGAS

6.1.1. PEROLA DA TERRA

A videira sofre o ataque de inúmeras pragas, tanto no sistema radicular como na parte aérea.

Porém, atualmente a mais importante praga diz respeito à pérola da terra (Eurhizococcus brasiliensis), por ser de controle extremamente difícil e por se fazer presente praticamente em todos os vinhedos da região, onde, segundo SORIA & GALDOTTI(1986), as cochonilhas margarodes(como também é conhecida a pérola da terra), ocasionam danos importantes nos vinhedos do Sul do Brasil.

A pérola da terra é uma cochonilha subterrânea que suga a seiva da videira através das raízes. Esta praga tem uma forma de resistência denominada quistóide conhecida por "pérola da terra", pois toma forma arredondada, de coloração amarelada e tamanho aproximado de uma ervilha(KUHN et al., 1986/b).

Segundo FAGUNDES(1964), HEMPEL(1935), SILVA(1968) e WILLE(1922) citados por SORIA & GALLOTTI(1986), os danos se apresentam na forma de um declínio gradual de vigor da videira e da diminuição progressiva da produção, chegando a causar sua morte. As cochonilhas se desenvolvem nas raízes, que só são prejudicadas no primeiro, segundo e terceiro instares, já que os adultos são desprovidos de aparelho bucal.

Os cistos podem sobreviver, no caso de Margarodes vitis, por muitos anos, em condições desfavoráveis, e, reiniciar seu desenvolvimento em condições ambientais favoráveis (GONZALES et al., (1969) e MARIN-LEON,(1968) citados por SORIA & GALLOTTI, (1986)).

O controle desta praga é ainda bastante difícil, não havendo um método realmente eficaz de controle, principalmente por se localizarem sob o solo, no sistema radicular da planta, também devido sua sobrevivência em forma de cistos.

Nas raízes, encontram-se normalmente grandes colônias de cochonilhas que se alimentam até o inverno. Nesta fase, os insetos passam a secretar a parede do cisto, formando um pequeno balão. Nas raízes, notam-se lesões pretas superficiais facilmente removíveis em decorrência de serem provocadas pelas exsudações da praga. Sua ação é tão prejudicial que a planta perde as folhas e morre gradativamente(SORIA & GALLIOTTI, 1986).

As cochonilhas são pragas com métodos próprios de hospedagem. Elas injetam o suco gástrico na planta e sugam o alimento já digerido, o que é altamente prejudicial a videira. O suco gástrico é fitotóxico e, por ter sido injetado no tecido vascular da planta, tem ação sistêmica. Isto quer dizer que o princípio ativo injetado em um local específico do hospedeiro transloca-se, através do sistema circulatório, a outros pontos do sistema, determinando uma sintomatologia generalizada. O quadro sintomático é irreversível, na última etapa, exceto se a planta dispuser ainda de reservas suficientes que lhe permitam emitir novos brotos. Neste caso, a planta, se defendida da ação da praga, poderá ser recuperada(SORIA & GALLOTTI, 1986).

Os principais sintomas de ataque são a murcha das folhas, secamento, queda e a consequente morte da planta(KUHN et al., 1986/b).

Controle: o controle é bastante difícil, principalmente o químico com inseticidas de contato, que tem fracassado no controle da praga. Segundo SORIA & GALLOTTI(1986) interpreta-se esse fenômeno como associado ao hábito de vida subterrânea do inseto, bem com às suas múltiplas defesas, entre elas, a cobertura coriácea, quase hermética, durante seu período de repouso hibernal e na sua fase larval. Também, quanto ao controle biológico são escassas as informações quanto à possível utilização de predadores, parasitas e entomopatógenos.

Porém, a procura de variedades resistentes ou tolerantes de videira ao margarodes é um caminho que tem amplo futuro. Também algumas práticas culturais podem exercer certo grau de influência no controle desta praga. Entre algumas práticas pode-se citar o revolvimento do solo e a eliminação de ervas daninhas, de acordo com GALLOTTI(1976); GOBBATO(1931); GOMES COSTA(1958) e PANIZZI & NOAL(1971) citados por SORIA & GALLOTTI(1986).

Algumas ervas espontâneas, como a língua-de-vaca (*Chaptalia nutans*), constituem-se reservatório natural de margarodes e devem ser eliminadas do parreiral. Também pode-se utilizar a técnica de plantas repelentes no parreiral, como o cravo-de-defunto (*Tagetes minutus L.* e *Tagetes erectus L.*), de plantas de gênero crotalaria (Leguminosae) e do alho macho (*Allium ampeloprasum var. porrum*) (SORIA & GALLOTTI, 1986).

Há, por fim, o controle regulamentar. Este é feito através da observância da legislação fitossanitária existente, que estabelece quais os organismos devem ser fiscalizados, visando impedir a introdução dos mesmos ou a sua dispersão após introduzidos na Federação.

Sabe-se que o *Eurhizococcus brasiliensis* é um inseto endêmico, no Brasil, cuja distribuição está ainda restrita ao sul do país, nos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Neste último Estado, sua distribuição está restrita a alguns municípios, pelo que a aplicação dos princípios de proteção regulamentar ainda é útil. Assim, é importante seguir as medidas de proteção fitossanitária regulamentar para impedir sua entrada em áreas ainda isentas do problema. O método de estabelecimento de cintura fitossanitário tem mostrado eficácia na prevenção de danos em alguns cultivos do país. Sabe-se também de registros de ocorrências esporádicas da praga, no Estado de São Paulo (GALLOTTI, 1976 citado por KUHN et al., 1986/b).

Uma outra atividade importante, complementar à da vigilância fitossanitária, é aquela da divulgação de massa, visando atingir o público de agricultores para, conscientizá-lo ao perigo de se transferirem mudas de uma propriedade para outra, de município para município e de um Estado para o outro. O trabalho de conscientização admite-se como o mais efetivo de todos para evitar a disseminação da praga. (KUHN et al., 1986/b).

Resumindo, então, os principais meios de controle para a pérola da terra são, segundo KUHN et al., (1986/b), os seguintes:

- Em parreirais novos, evitar o plantio de estacas enraizadas ou mudas procedentes de locais onde foi constatada a presença do inseto.
- Prevenir a disseminação da praga, não transferindo mudas de plantas de uso doméstico, tais como a salsa, a roseira e a dália.
- Eliminar ervas daninhas, como a língua-de-vaca, que são reservatórios naturais de pérola-da-terra.
- Evitar plantar hospedeiros alternativos intercalados no vinhedo, como o pêssegoiro e a ameixeira *Prunus sp.*
- Fazer o revolvimento do solo, expondo os insetos aos raios solares.
- Usar adubação com matéria orgânica e química em parreirais atacados, visando manter a planta com bom estado nutricional.
- Realizar calagem profunda durante o período de repouso da planta.
- Evitar a utilização de maquinários e insumos de propriedade onde se tem conhecimento da existência da praga.

6.1.2. FILOXERA

A filoxera (*Phylloxera vitifoliae*) é um pequeno pulgão que suga o sistema radicular (forma radicular) e as folhas (forma galicola) da videira. O ataque do sistema radicular é o mais importante e causa a morte da planta. A incidência nas folhas é comum em porta-enxertos, podendo causar sérios prejuizos quando há um ataque intenso. Já o ataque no sistema radicular, quando se dá em cultivares produtoras sensíveis, como as viníferas (uvas européias) plantadas de pé-franco, ocasiona o enfraquecimento gradativo e morte da planta.

Os principais sintomas são a presença de galhas (verrugas), que se desenvolvem na página inferior das folhas. Quando o ataque é muito intenso, a folha fica totalmente deformada, devido ao acúmulo dessas verrugas.

Nas raízes, observa-se a presença de nodosidades (galhas) em forma de gancho. Em raízes velhas, verifica-se a presença de pequenas inchações semi-esféricas que dão à superfície da raiz uma aparência de enrugamento.

Controle: o principal meio de controle é a utilização de porta-enxertos resistentes. No caso de viveiro de matrizes de porta-enxertos, onde o ataque ocorre nas folhas, deve ser empregado um inseticida sistêmico.

6.1.3. COCHONILHAS

As principais cochonilhas que atacam a videira são a *Icerya schrottkyi*, a *Lecanium persicae* e a *Hemiberlesia latine*. São insetos sugadores observados, principalmente, sobre os ramos, em colônias de coloração branca ou marron.

Controle: No caso de pequena infestação, o controle deve ser feito manualmente por raspagem ou eliminação e queima dos ramos da poda. Quando o ataque é muito intenso, deve-se aplicar um inseticida fosforado logo após a colheita. Entretanto, é bom lembrar que, quanto mais próximo do período de repouso da planta, menos eficientes serão os tratamentos, pois os insetos terão formado sua carapaça protetora.

6.1.4. BROCAS DOS RAMOS

Existem alguns besouros cujas larvas atacam os ramos e o tronco da videira, causando consideráveis prejuizos.

O sintoma mais característico da invasão da praga é a presença de orifícios e galerias nos ramos e tronco das plantas. No local de abertura de entrada das larvas, no tronco ou nos ramos lenhosos, observa-se a formação de uma massa gelatinosa correspondente à secreção do tecido afetado.

Controle: é recomendada, como medida de controle, a poda e queima do máximo possível de ramos afetados, como também a retiradas e queima dos restos de poda para prevenir novos focos de infestação.

6.1.5. MOSCA DAS FRUTAS

A mosca das frutas (*Anastrepha fraterculus*) é uma praga que tem importância em cultivares de uvas européias para mesa. Causa uma descoloração esbranquiçada nas bagas, ficando a parte afetada endurecida. Como isso, as bagas perdem seu valor comercial. O orifício feito por picada do inseto pode servir de porta de entrada para fungos causadores de podridões.

Controle: deve ser integrado, usando-se iscas atrativas e tratamento com inseticidas específicos.

6.1.6. FORMIGAS

São de ocorrência comum nos parreirais, sendo mais destrutivas nos primeiros anos de formação das plantas. Deve-se manter uma vigilância constante e um combate rigoroso para se evitar perdas consideráveis.

6.2. DOENÇAS FÜNGICAS

Segundo BRIGOLETT, JR. & SONEGO (1993), na região Sul do Brasil, as principais doenças fúngicas da parte aérea da videira são o mildio (*Plasmopara viticola*), a antracnose (*Elsinace ampelina*), a podridão cinzenta (*Sclerotinia fuckeliana*) e o oidio (*Uncinula necator*); do sistema radicular, a fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis*), restrita à região Sul. Além destas há as podridões dos cachos caudadas por *Melaconium fuligineum* e *Glomerella cingulata*, a exoriose (*Rhomopsis viticola*) e a mancha das folhas (*Isariopsis clavigpora*), que tem se apresentado com alguma frequência, necessitando de tratamento específico para o controle.

A severidade do ataque de cada doença varia de acordo com a região do país. Na região, as moléstias fúngicas de maior importância, pela sua alta incidência, são as mencionadas e descritas a seguir:

6.2.1. ANTRACNOSE (*Elsinoe ampelina*)

E também conhecida com variola, varola ou olho-de-passarinho, sendo que a umidade relativa elevada e ventos frios predispõe o aparecimento desta doença. O fungo ataca todas as partes verdes da videira e são as medidas de controle preventivo as mais importantes. Dentro elas, evitar o plantio em locais de baixadas, úmidos, expostos a ventos frios, além de utilizar cultivares resistentes, usar quebra-ventos e fazer tratamento de inverno com calda sulfo-cálcica. Quanto ao tratamento químico, durante o ciclo vegetativo da planta, principalmente na primavera, utilizar produtos orgânicos (vide anexo 6).

6.2.2. MILDIO (*Plasmopara viticola*)

E a doença fúngica mais importante da viticultura no Brasil, e é também conhecida como mufa, mofo ou peronóspora. Temperatura alta associada a alta umidade relativa, proporcionam o aparecimento da doença. Esta, causa a destruição total ou parcial das inflorescências e/ou frutos e a queda prematura das folhas, que acaba por afetar a produção do ano e dos anos seguintes.

O fungo afeta as folhas, brotos, flores e bagas porém os principais sintomas ocorrem nas folhas, flores e frutos (GRIGOLETI, Jr. & SONEGO, 1993).

O controle deve ser preventivo, sendo necessária sua aplicação antes da disseminação do fungo no vinhedo. Os tratamentos serão iniciados quando aparecerem as primeiras manchas nas folhas, devendo ser repetidos, caso as condições climáticas permaneçam favoráveis à moléstia. A frequência das aplicações varia, não só com as condições climáticas, mas também com a sensibilidade de cultivar. As cultivares de uva viníferas, por darem mais sensíveis, recebem um menor número de tratamentos em relação às comuns (americanas) e híbridas. Os fungicidas a serem aplicados podem ser orgânicos, sistêmicos e cúpricos. Até a floração, inclusive, deve-se utilizar produtos orgânicos e sistêmicos (vide anexo 5, estágio 19) e, após esta, (vide anexo 5, estágio 20), dar preferência aos cupro-orgânicos e cúpricos, sendo os três últimos tratamento realizados antes do fim do ciclo da planta com calda bordalesa (KUHN et al., 1986/b).

6.2.3. OIDIO (*Uncinula necator*)

E também conhecido como cinza ou mufeta. Ainda que seja de maior importância na região Nordeste do Brasil e por não apresentar caráter epidêmico ao Sul, devido condições ambientais desfavoráveis ao seu desenvolvimento, ocorre, ainda assim, com maior ou menor frequência e intensidade em cultivares sensíveis em anos propícios, com períodos secos e quentes.

Para uma maior eficiência dos tratamentos químicos à base de enxofre, estes devem estar relacionados com a ocorrência da doença no ano anterior e à susceptibilidade de cultivar. Sabese que as cultivares americanas e híbridas (Isabel, Niágara, Seibel e Seyve Villard) são mais resistentes que as européias (Merlot, Cardinal, Riesling e Chardonnay). Para as cultivares híbridas e americanas o tratamento pode ser dispensado. Nas cultivares mais sensíveis recomenda-se realizar três tratamentos específicos (vide anexo 6), estágios de acordo com anexo 5.

6.2.4. PODRIDÃO CINZENTA (*Botrytis cinerea*)

Também é conhecida como mofo cinzento ou podridão de brotritis e acarreta danos tanto no que se refere à qualidade da uva (que vai refletir na qualidade do vinho) quanto na produtividade. A umidade relativa alta aumenta a incidência desta doença, a qual é maior nos cachos. Cultivares de cachos compactos e de bagas com película fina são mais severamente atacadas.

Em cultivares suscetíveis, o controle da podridão cinzenta deve ser feita pela combinação de práticas culturais (evitar vegetação excessiva através do uso de porta-enxerto menos vigoroso, correto uso do nitrogênio, remoção de folhas e poda verde aumentam a aeração, a insolação e reduzem o ataque da doença). Com relação ao controle químico, que deve ser preventivo, deve iniciar no final da floração para facilitar a penetração do produto no interior do cacho evitando a contaminação pelo produto e a sobrevivência do fungo nos resíduos florais (vide anexo 6) (GRIGOLETI, Jr. & SONEGO, 1993).

6.2.5. PODRIDÃO ACIDA (vários agentes causais)

Não é raro ser confundida com a podridão cinzenta, pois apresenta sintomas bem semelhantes e, ainda que não seja uma doença exclusivamente fúngica, merece ser citada pelas perdas significativas que vem acarretando em anos de intensa precipitação, no período de maturação, como veio a ocorrer na safra deste ano.

Segundo GRIGOLETI, Jr & SONEGO, (1993), atualmente no Brasil, sua incidência tem sido observada em algumas cultivares como Sauvignon Blanc, Pinot Noir e Itália. A doença é de etiologia complexa, onde estão envolvidas como agentes primários, leveduras e bactérias acéticas. A levedura transforma o açúcar da uva em álcool e a bactéria oxida o álcool em ácido acético.

Os sintomas básicos são bagas de coloração marrom variada, em seguida tornando-se frágil e rompendo-se. Nesta fase as bagas tornam-se brilhantes e exalam um forte odor acético, podendo-se notar a presença de moscas do vinagre, agentes importantes na disseminação da doença. Não há controle químico eficaz para a podridão ácida, porém, medidas como poda verde, adubação nitrogenada equilibrada, controle do oidio e de insetos reduzem sua ocorrência.

6.2.6. FUSARIOSE (Fusarium oxysporum f.sp. herbemontis)

E uma doença vascular que ataca as plantas via solo e segundo GRIGOLETI, Jr. & SONEGO (1993) é a principal responsável pela morte das videiras na serra gaúcha. Em vários testes realizados para verificar a resistência ou não de determinadas cultivares, as que apresentaram maior susceptibilidade foram os porta-enxertos SO4, 5A e Kober 5 BB e as mais resistentes foram a cultivar Isabel e os porta-enxertos P 1103, 1202, R99 e Rupestris du Lot (GRIGOLETI, Jr., 1993).

Os principais sintomas são a murcha das folhas de um ou mais ramos e a posterior morte destes ramos. A planta, ou ramo doente, se desfolha antecipadamente. Com a morte dos ramos principais, podem ocorrer rebrotos no tronco (cepa). Ao se retirar a casca do tronco ou ramo atacado, observa-se uma faixa escura que sobe do sistema radicular em direção a parte aérea (KUHN, et al., 1986/b).

Solos ácidos e ricos em matéria orgânica favorecem a ocorrência da fusariose.

O controle de fungos de solo é bastante difícil e os tratamentos são bastante caros e pouco eficazes, sendo o ideal, utilizar porta-enxerto tolerantes, evitar plantios em baixadas úmidas, fazer correção do solo, obter material de propagação saudável, isolar áreas contaminadas e eliminar plantas atacadas, eliminando o máximo de raízes do solo.

6.3. VIROSES

Para que se possa entender melhor como ocorrem e os problemas que podem vir a acarretar, a princípio se fará uma breve descrição do que são micoplasma, víróides e vírus.

6.3.1. MICOPLASMA, VIROIDES E VIRUS

Entre os organismos vivos que possuem menor massa estão as pequenas bactérias chamadas micoplasmas, que produzem doenças em plantas, animais e no homem e podem ser cultivadas "in vitro" com qualquer outra bactéria. Estes agentes têm diâmetro variado entre 0,1 e 0,25 μm , portanto, seu tamanho corresponde ao de alguns vírus grandes. A importância desses micróbios reside no fato de que sua massa viva é mil vezes menor que o tamanho médio de uma bactéria e um milhão de vezes menor que uma célula eucariótica (DE ROBERTIS & DE ROBERTIS, Jr., 1993).

Os viroídes são organismos ainda mais simples que os vírus. São agentes infecciosos que atacam células vegetais e são formados por uma só molécula de RNA e não possuem a cobertura proteica ou cápside. Na Fig. 3 está ilustrado um viroíde que produz a doença da batata. Sua molécula de RNA é formada por 359 nucleotídeos e pode multiplicar-se e infectar outros vegetais.

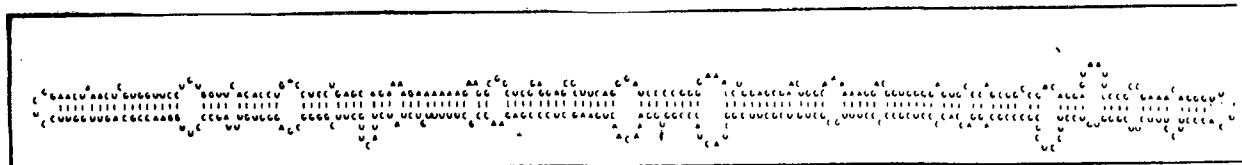


Fig. 3 - Sequência de nucleotídeos e estrutura secundária do viroíde da doença da batata. O RNA é circular, tem apenas 359 nucleotídeos e não apresenta sequência de inciação AUG (sinal de começo da síntese proteica).

Ainda, segundo DE ROBERTIS & DE ROBERTIS, Jr. (1993), os vírus foram reconhecidos a princípio pela sua propriedade de atravessar os poros de um filtro de porcelana e pelas alterações patológicas que produziam na células. Atualmente, através do microscópio eletrônico, é possível ver e identificar morfológicamente todos os vírus e estudar sua organização macro molecular. Não se consideram os vírus células verdadeiras. Embora participem de algumas propriedades celulares, como a auto-reprodução, hereditariedade e a mutação, os vírus dependem das células do hospedeiro e por isso são considerados parasitas obrigatórios.

Fora da célula hospedeira, os vírus são inativos e podem até cristalizar-se. Com sua introdução na célula, eles se ativam e se reproduzem. Do ponto de vista da constituição genética, existem dois tipos de vírus: aqueles cujo cromossoma é uma molécula de RNA, como o vírus do mosaico do tabaco, e outros cujo cromossoma é uma molécula de DNA, como os vírus bacterianos ou bacteriófagos. (ver Fig. 4)

Os vírus utilizam seu próprio programa genético para reprodução; no entanto, dependem da maquinaria biossintética do hospedeiro (isto é, ribossomos, RNA transportador, enzimas) para produzir as proteínas da cobertura, também denominada cápside.

O tamanho do vírus varia entre 30 e 300 nm, e sua estrutura mostra diferentes graus de complexidade. São produzidos em uma célula por um processo de agregação macromolecular, o que significa que seus componentes podem ser sintetizados em diferentes partes da célula hospedeira e são reunidos de maneira coordenada em outra parte da célula.

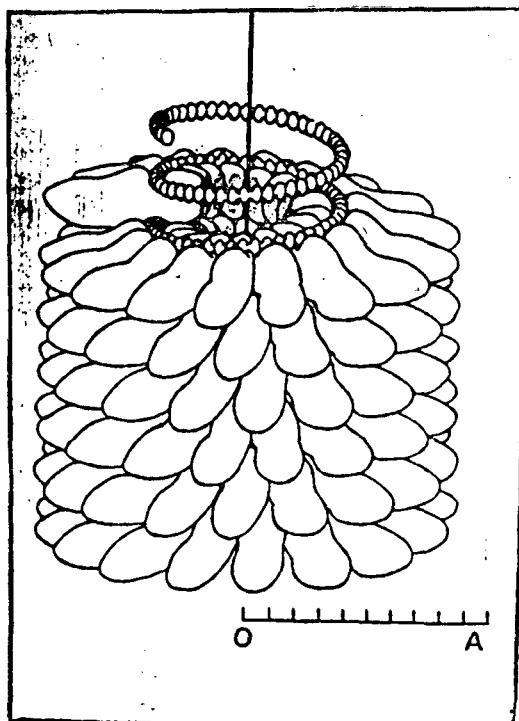


Fig. 4 - Organização molecular do vírus do mosaico do tabaco. No centro existe uma espiral de RNA associada a subunidades proteicas. Um monômero de proteína é encontrado a cada três bases da cadeia de RNA (CASPAR & KLUG, 1962 citados por DE ROBERTIS & DE ROBERTIS, Jr., 1993).

6.3.1.1. COMO SE DA A INFECÇÃO POR VIRUS NAS PLANTAS

Para que se possa entender um pouco melhor a questão da atuação dos vírus em si, sobre as plantas, deve-se, a princípio, compará-los com as células verdadeiras. Definimos uma célula viva pelas seguintes características: (1) um programa genético específico que permite a reprodução de novas células do mesmo tipo; (2) uma membrana celular que estabelece um limite que regula todas as trocas de matéria e energia; (3) uma maquinaria biológica que pode utilizar a energia armazenada pela célula ou obtida dos alimentos; (4) uma maquinaria biossintética para a síntese de proteínas. Os vírus só possuem a primeira destas características e não possuem as outras. Por este motivo não são considerados em geral organismos vivos, apesar do fato de apresentarem uma série de padrões genéticos sobre os quais podem formar-se novos vírus. (DE ROBERTIS & DE ROBERTIS, Jr., 1993).

Quanto a infecção deste patógeno numa planta hospedeira, o problema da penetração está na dependência da maneira de como ele é inoculado.

Segundo COSTA et al., (1971) na exsertia, se o vírus é do parênquima, resume-se num simples problema de translocação através do plasmodesma e no caso de vírus de floema ou xilema, do estabelecimento da continuidade vascular, na transmissão mediana por insetos, ácaros, nematóides; se esta é do tipo não persistente, é literalmente uma transmissão mecânica (do vírus) que "suja" o aparelho bucal do inseto. No caso de transmissão persistente (circulativo, propagativo, etc.), o vírus seria "

"injetado" nos tecidos, principalmente no floema, quando do regurgitamento feito pelo inseto antes de iniciar a sucção. Finalmente transmissão mecânica do vírus (como no ato de um enxertia), se requer uma abertura de uma ferida na célula, expondo o citoplasma do vírus.

Com uma reação natural à injúria, a célula vizinha à célula ferida, fecha rapidamente os plasmodesmas que com ela se comunica (CURRIE, 1975, citado por COSTA et al., 1971). Assim, para que a inoculação se efetive, o vírus deve passar da célula ferida à vizinha, antes que haja deposição de calose. Provavelmente a maior ou menor facilidade com que o vírus faz isto, deve representar o diferencial entre um vírus facilmente transmissível mecanicamente de outros que o são com dificuldade ou mesmo nunca o são.

Por fim, uma vez no interior da planta hospedeira, o vírus poderia atingir outras células vizinhas através dos plasmodesmata - as tênues conexões entre células adjacentes que cruzam a parede celular -. A translocação do vírus à longas distâncias dar-se-ia através dos vasos criados e menos frequentemente, pelos traqueídeos (COSTA et al., 1971).

6.3.2. VIROSES: PROBLEMA SERIO DOS VINHEDOS DO RIO GRANDE DO SUL

Dentre todos os problemas fitopatológicos que ocorrem nos vinhedos do Rio Grande do Sul, sem dúvida as viroses são os mais graves, principalmente porque a videira pode ser afetada por mais de vinte vírus diferentes; além do que, após infectada, não há processos curativos comuns, como há para outras doenças, capazes de livrar a planta do patógeno.

Segundo KUHN (1992/f), na cultura da videira, já foram encontradas mais de 30 (trinta) doenças que passam pelo material de propagação. Muitas delas são caudadas por vírus, outras, embora consideradas viroses, não permitem ainda uma definição exata da natureza do patógeno, ou seja, se se trata de vírus, micoplasma, víróide, etc. Entretanto, algumas dessas doenças não tem grande importância para a cultura em si, pois não refletem economicamente na produção. Entretanto, algumas outras fazem parte de um grupo de grande importância pelos danos severos que causam e pelas perdas que ocasionam.

A multiplicação agâmica da videira, além de facilitar a disseminação das doenças, propicia seu acúmulo no material vegetativo ao longo do tempo. Esses fatos contribuem decisivamente para o enfraquecimento e a improdutividade dos vinhedos comerciais, trazendo descrença e marginalização da atividade agrícola, ainda mais que as principais regiões vitícolas estão em áreas de relevo montanhoso, sendo impróprias para a mecanização e, por consequência, exploradas de forma artesanal, com mão-de-obra familiar. É evidente, então, a necessidade de tornar a atividade o mais atrativa possível, de modo a incentivar jovens do campo a continuar explorando o cultivo da videira, que desempenha tão importante função social na fixação do homem ao meio rural, em especial, nas pequenas propriedades.

Assim sendo, deve-se buscar a sanidade do material vegetativo que será utilizado na multiplicação (seja para produção de mudas, barbados, estacas, bacelos ou garfos) da videira, pois uma muda só é o mínimo que se deve buscar a princípio, para que existam boas possibilidades do pomar prosperar.

Ao se referir à sanidade do material propagativo da videira, deve-se levar em conta as patogenicidades que podem ser transmitidas através da multiplicação agâmica e, dentro deste contexto, as viroses tomam o lugar de maior destaque.

6.4. VIROSES JA IDENTIFICADAS NO MUNDO E NO RIO GRANDE DO SUL.

a) No mundo

Atualmente são 30 (trinta) as viroses conhecidas da videira, sendo que 20 (vinte) dessas, já foram isolados seus respectivos vírus de materiais (plantas) infectados. As outras 10 (dez), por serem transmitidas através da união de tecidos, por sua sensibilidade ao calor e por não se ter associado aos sintomas das videiras constatadas doentes, apesar de não serem comprovadamente de etiologia viral, são também classificadas como virose.

Segundo KUHN (1990/d), na relação a seguir, estão 33 (trinta e três) patógenos com as respectivas doenças de videira, disseminadas pelo material de propagação:

Tab. 3 - Patógenos e doenças da videira disseminadas pelo material de propagação.

VIRUS	DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA	IMPORTANCIA ECONÔMICA
Vírus dos entrenós curtos (Grapevine fanleaf virus)	Mundo inteiro	MA
- Raça mosaico amarelo (Yellow mosaic)		
- Raça faixa das nervuras (Vein banding)		
Vírus do mosaico do arábis (Arabis mosaic virus)	Alemanha Federal, França, Suíça, Iugoslávia, Bulgária, Hungria, Japão e Itália	M
Vírus dos anéis pretos do tomateiro (Tomato black ring virus)	Alemanha Federal	B
Vírus das manchas em anéis de framboesa(Raspberry ringspot virus)	Alemanha Federal	B
Vírus latente das manchas em anéis do morangoiro (Strawberry latent ringspot virus)	Alemanha Federal	?
Vírus das manchas em anéis do tomateiro (Tomato ringspot virus) - Amarelamento das nervuras	USA (Califórnia, Nova Iorque) e Canadá (Ontário)	M

Virus das machas em anéis do fumo (Tobacco ringspot virus)	Nosdeste da América do Norte	M
Virus do mosaico em roseta do pessegueiro (Peach rosette mosaic virus)	USA (Michigan) e Canadá (Ontário)	A
Virus do mosaico cromo da videira (Chrome mosaic virus)	Hungría	B
Virus latente italiano da alcachofra (Artickake Italian latent virus)	Bulgária	?
Virus latente búlgaro da videira (Bulgarian latent virus)	Bulgária, USA e Portugal	B
Virus da necrose do fumo (Tobacco necrosis virus)	Africa do Sul	?
Virus do nanismo do tomateiro (Tomato bushy stunt virus)	Alemanha Federal, Itália, Bulgária e Tchecoslováquia	?
Virus do mosaico da alfafa (Alfafa mosaic virus)	Alemanha Federal, Suíça, Hungria, Bulgária e Tchecoslováquia	?
Virus da murcha da fava (Broad bean wilt virus)	Bulgária	?
Virus da Joannes-Seyve (Joannes-Seyve virus)	Canadá (Ontário)	A
Virus do mosaico da Bratislava (Bratislava mosaic virus)	Tchecoslováquia	M
Virus do mosaico do chenopódio (Sowbane mosaic virus)	Alemanha Federal e Tchecoslováquia	?
Virus do mosaico do fumo (Tobacco mosaic virus)	USA, Alemanha Federal, Itália, Bulgária, Iugoslávia e URSS	?
Clorose infeciosa e avermelhamento das folhas da Pinot Noir (Infection chlorosis and leaf reddening of Pinot Noir)	França	B

Estrias no tronco da videira (Grapevine stem pitting)	Mundo inteiro, provavelmente	A
Plastomania da videira (Grapevine flat trunk)	USA, Itália, Is- rael e Hungria	B
Mosqueado amarelo da videira (Grapevine yellow speckle)	Austrália e USA (Califórnia)	M
Mancha das nervuras da videira (Grapevine fleck)	Mundo inteiro	B
Mosaico das nervuras da videira (Grapevine vein mosaic)	Mundo inteiro, provavelmente	B
Necrose das nervuras da videira (Grapevine vein necrosis)	Mundo inteiro, provavelmente	B
Mosaico em estrela da videira (Grapevine aster- oid mosaic)	USA	B
Necrose infecciosa da videira (Grapevine infectious necrosis)	Tchecoslováquia e URSS	B
Necrose dos sarmentos da videira (Grapevine shoot necrosis)	Itália	M
Escrepamento clorótico da folha da videira (Grapevine chlorotic leaf curl)	Chile e Argentina	M
Enaçao da videira (Grape- vine enation)	Itália, Alemanha Federal, França, Espanha, Hungria, Tchecoslováquia , Bulgária, Grécia, URSS, USA(Califór- nia), Venezuela, África do Sul, No- va Zelândia, Tur- quia e Austrália.	M
Flavescence dorée (micoplasma)	França	M
Mal de Pierce (bactéria tipo Rickettsia)	USA e México	MA

B = baixa, M = médio, A = alta, MA = muito alta
Fonte: KUHN, (1990/d)

Entretanto, não são todas as doenças acima mencionadas que refletem grande importância nos vinhedos, pois muitas delas apesar de terem sido ocasionalmente encontradas na videira, não possuem qualquer expressão econômica na cultura; e, outras, ainda que causem prejuízos, estão restritas à determinadas regiões com condições climáticas e proliferação de vetores próprios.

b) No Rio Grande do Sul

No RS, são 6 (seis) as principais viroses, ou seja, as que realmente tem importância na região, tanto pelos prejuízos que causam, quanto pela sua patogenicidade sobre a videira. Estas, já foram identificadas na região vitícola do estado, e estão relacionadas a seguir, em ordem de importância:

- 1- vírose do enrolamento da folha ("grapevine leafroll")
- 2- vírose do intumescimento dos ramos ("grapevine corky bark disease")
- 3- vírose de canelura do tronco ("grapevine stem pitting disease")
- 4- vírose dos entre-nós curtos ("grapevine fanleaf virus")
- 5- vírose da necrose das nervuras ("vein necrosis")
- 6- vírose da mancha das nervuras ("grapevine fleck leafroll")

6.4.1. VIROSE DO ENROLAMENTO DA FOLHA ("grapevine leafroll")

O enrolamento da folha da videira foi evidenciado pela primeira vez como uma doença de origem viral na Alemanha, por SHEU (1936) citado por KUHN (1989/c), quando fez a transmissão do vírus através da enxertia. Na Califórnia o primeiro sintoma observado da doença foi a mudança de cor das bagas da cultivar Emperor do rosa normal para o branco, motivo pelo qual inicialmente a doença foi chamada de "white Emperor". Posteriormente, também foi observada alterações na cor das bagas das cultivares Melon, Riesling, Sylvaner e Thompson Seedless (GOHEEN, 1970 citado por KUHN, 1989/c).

Atualmente, é considerado o mais importante e disseminado vírus da videira, sendo conhecido em praticamente todas as áreas vitícolas do mundo com o nome de "vírus do enrolamento da folha da videira" ("grapevine leafroll virus") (GOHEEN, et al., 1959; TAYLOR, 1962; BOUBALS & PIESTRE, 1966; TELIZ & GOHEEN, 1968; BELLINI & CESATI, 1967; NADAL, 1968; LEHOCZKY et al., 1969; TANNE et al., 1974; GARCIA, 1975; SINGH et al., 1975; TANAKA, 1976; SPINOLA, 1982 citados por KUHN, 1989/c).

No Brasil, o vírus foi primeiramente identificado no estado de São Paulo (KUNIYUKI, 1972, 1978 citado por KUHN, 1989/c) e, posteriormente, no Rio Grande do Sul (KUHN & SIGUEIRA, 1974 citados por KUHN, 1989/c).

Ainda que seja esta a vírose mais disseminada nos vinhedos brasileiros os sintomas característicos podem ser observados com maior nitidez nas cultivares viníferas (uvas finas).

Segundo ZANUZ et al., (1993), entre as viroses que ocorrem na cultura da videira no RS, a do enrolamento da folha é a mais difundida, atingindo cerca de nove entre dez vinhedos da Encosta Superior do Nordeste, a maior região produtora de uvas e vinhos do Brasil.

Os sintomas na videira variam de intensidade com as condições climáticas, época do ano, fertilidade do solo, raças do vírus e, principalmente com a cultivar. São facilmente constatados em cultivares sensíveis, em especial no fim do ciclo vegetativo, antes da queda das folhas, sendo que, como o período do referido estágio coincidiu justamente com essa fase do ciclo da cultura, isso pode ser claramente observado nos vinhedos locais.

Em plantas muito afetadas, podem começar a se pronunciar a partir da floração; porém, o mais comum é a partir da fase de maturação da uva, evidenciando-se melhor com a aproximação do ciclo vegetativo, mais ou menos no mês de maio, no Rio Grande do Sul (KUHN, 1992/d).

O sintoma mais característico da doença é o enrolamento dos bordos da folha para baixo, observando-se tal sintoma facilmente sobre as cultivares *Vitis vinifera*, principalmente as tintas. Nestas, as folhas tomam uma coloração vermelho-violácea, que pode ocorrer inicialmente em forma de manchas. Normalmente o tecido ao longo das nervuras principais permanece com a cor verde normal e, às vezes, em parte das nervuras secundárias. O enrolamento também ocorre nas uvas brancas, porém as folhas destas tornam-se amareladas. O enrolamento, de um modo geral, ocorre devido ao entupimento dos vasos condutores a um consequente acúmulo de amido, o que faz com que as folhas voltem seus bordos para baixo. De acordo com SCHUCK et al. (1988), com relação aos distúrbios internos em plantas infectadas, ocorre uma degeneração no floema dos ramos, peciolos, folhas, pedicelos dos cachos e dos frutos. Os tubos crivados são obstruídos e o parênquima do floema morre. A degeneração do floema inicia cedo e pode ser vista através de microscopia antes da exteriorização dos sintomas foliares. Nos vasos dos peciolos da videira severamente infectados aparecem trabéculas e tiloses.

Independentemente das cultivares serem brancas ou tintas, as folhas das plantas doentes apresentam a superfície do tecido rugosa, de consistência grossa e quebradiça. As cultivares americanas e seus híbridos mostram apenas um leve enrolamento das folhas e redução e crescimento. Os porta-enxertos não mostram sintomas externos (KUHN, 1990/d).

Esse vírus é transmitido às plantas através do processo de enxertia, pelo material contaminado. Não há ainda comprovação de existência de vetor (es), embora, segundo KUHN (1992/f), estudos recentes tenham indicado a ocorrência de espécies de cochonilhas como prováveis vetores do vírus. A transmissão não ocorre pela tesoura de poda ou contato com as raízes.

Quanto aos prejuízos que esse patógeno acarreta, estes são de grande extensão.

De acordo com KUHN (1992/f) no Rio Grande do Sul, através de levantamentos realizados, constatou-se que nas cinco cultivares mais plantadas, aproximadamente 100% das plantas apresentavam problemas de viroses (vide Tab. 4). E é fato que hoje, as principais regiões vitícolas do nosso país estão com alta incidência desta patogenicidade.

Além da perda de qualidade da uva e do vinho, há uma redução significativa na vida útil do pomar, pois este vai gradativamente definhando e os prejuízos ao produtor são inevitáveis. Segundo LIDER et al. (1975); LEGIN (1972); KLIWER & LIDER (1976); OVER de LINDER & CHAMBERLAIN (1970) e EHGBELBRECHT (1971) citados por KUHN (1989/e), entre todas as viroses, esta é reconhecida como a mais importante pelos

prejuízos que causa à viticultura. Nos Estados Unidos é responsável pela perda anual de 5% da produção da uva. E, além de causar diminuição da vida útil dos vinhedos, essa vírose prejudica a maturação das uvas. Isso determina uma redução nos teores de açúcar e interfere na absorção de minerais e a síntese de diversos compostos, como polifenóis e ácidos orgânicos, alterando desta forma, a composição dos vinhos. De acordo com trabalho realizado por ZANUZ et al.(1993), para verificar o efeito da vírose do enrolamento da folha na composição química do vinho Cabernet Franc(principal variedade para elaboração de vinhos tintos finos), verificou-se que diversas variáveis estreitamente associadas à qualidade dos vinhos, tais como teor alcoólico e intensidade de cor foram negativamente alteradas. Em trabalho semelhante, com a mesma variedade, KUHN(1989/c) também constatou perdas de plantas doentes em relação a plantas saudáveis, quanto ao número de cachos, peso de ramos resultantes da poda hibernal, e do gBrix, não havendo porém, alteração significativa na acidez total do mosto originado de plantas doentes.

Tab.4 - Incidência da vírose do enrolamento da folha em cultivares Vitis vinifera tintas na região vitícola do Rio Grande do Sul

Município	No de vinhedos Avaliados	Cultivares	Plantas		
			Exam.	Enrol.	Infect.
			(nº)	(nº)	(%)
B.Bonçalves	9.....	Cabernet Franc...	7881...	7574...	96,1
	5.....	Bonarda.....	3850...	3850...	100,0
	5.....	Merlot.....	4350...	4130...	94,9
	9.....	Barberas.....	7000...	6987...	99,8
	1.....	Songiovese.....	1000...	943...	94,3
Garibaldi.....	6.....	Cabernet Franc...	3830...	3813...	99,5
Farrroupilha.....	4.....	Cabernet Franc...	3500...	3480...	99,4
	1.....	Merlot.....	500...	500...	100,0
TOTAL.....	40.....		31.911...	31.277...	

Observações realizadas de 1979-1983, com base nos sintomas de campo, em virtude de cinco a vinte anos.

FONTE: EMBRAPA - CNPUV, 1992(Circular Técnica, 16)

Quanto a detecção do vírus, nos programas de seleção sanitária a obtenção de plantas saudáveis é feita tradicionalmente através de testes de indexagem com cultivares indicadoras como a Cabernet Franc, Pinot Noir e Merlot. No CNPUV basicamente estes testes são feitos com a Cabernet Franc, por esta se apresentar com ótima indicadora devido sua alta susceptibilidade a esse vírus (no RS já foram verificadas perdas superiores a 60% da produção de Cabernet Franc, devido sua alta susceptibilidade ao vírus do enrolamento da folha).

Mais recentemente, a detecção deste vírus está sendo feita através de teste serológico, neste caso, o ELISA (Enzime Liked Immunoabsorbent Assay). Mais adiante, serão melhor abordados e discutidos tais testes.

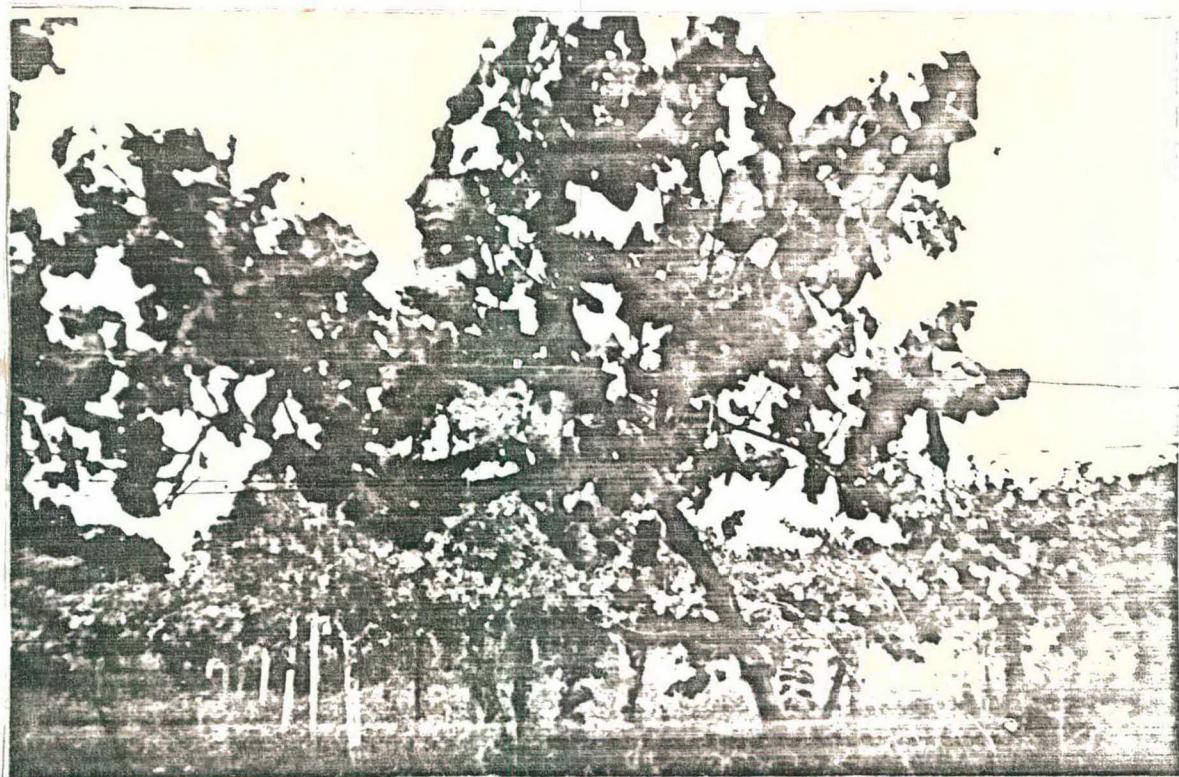


Fig. 5 - Planta infectada com o vírus do enroamento da folha(cultivar Cabernet Franc).

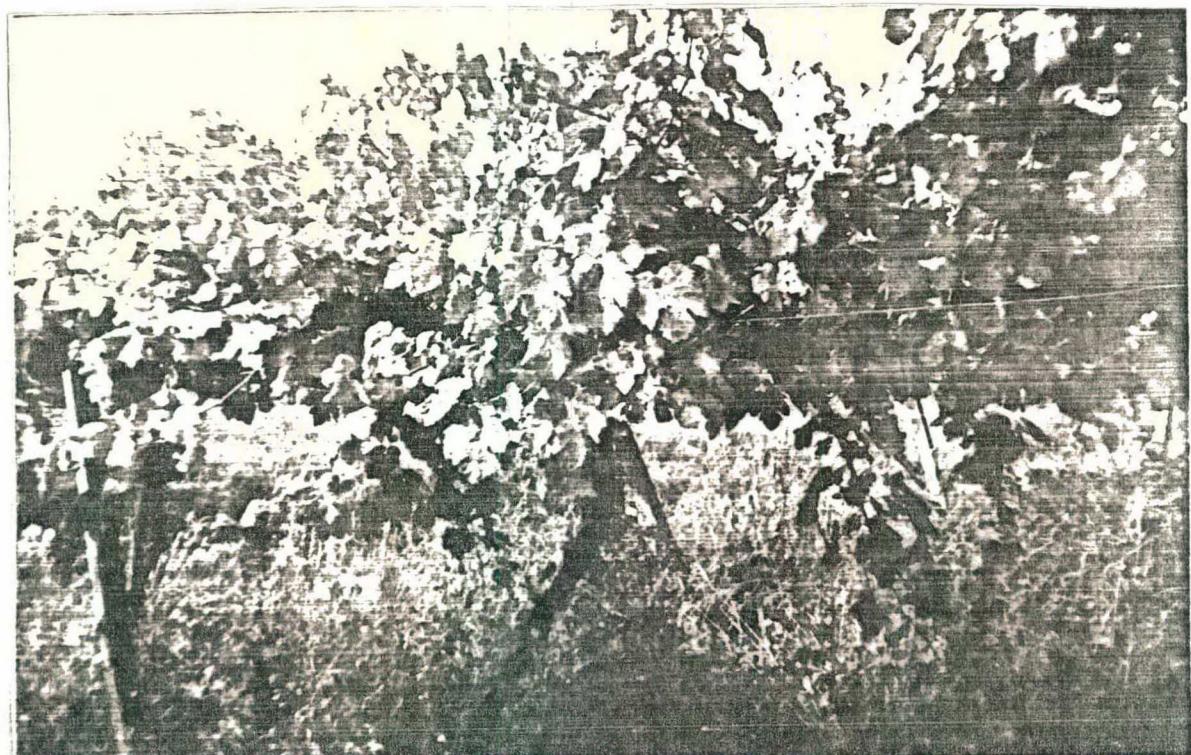


Fig.6 - Planta saudável da cultivar Cabernet Franc



Fig.7 - Folhas da cv. Cabernet Franc infectada com o vírus do enrolamento(avermelhadas) e ao lado folhas de planta saudável da mesma cv.

6.4.2. VIRUS DO INTUMESCIMENTO DOS RAMOS ("grapevine corky bark disease")

A doença do intumescimento dos ramos da videira foi descrita pela primeira vez na Califórnia, em 1954, com o nome de "grapevine rough bark", e foi considerada de origem viral na época, embora o vírus não tenha sido evidenciado (HEWITT et al., 1991 citado por KUHN, 1992/h). Posteriormente, foi chamada "grapevine corky bark".

No Brasil, foi pela primeira vez verificada em São Paulo (KUNIYUKI, 1975 citado por, KUHN, 1992/h), posteriormente, no Rio Grande do Sul (KUHN, 1981 citado por KUHN, 1992/h).

No RS foi constatada em 1978 na região vitícola, nas plantas da cultivar Isabel (Vitis labrusca).

Mais recentemente foram isoladas partículas, de plantas doentes, de 1400 a 2000nm, associadas aos sintomas da doença e está sendo proposta a inclusão da doença no grupo dos Closterovírus (NAMBA et al., 1991 citado por KUHN, 1992/h).

Os sintomas do intumescimento dos ramos são observados no campo com relativa facilidade nas cultivares de Vitis labrusca, como a Isabel, Niágara Rosada e Niágara Branca. Nelas, o sintoma mais característico da doença é o intumescimento dos entre-nós de ramo do ano, com fendilhamento longitudinal do tecido afetado. Também pode ocorrer o intumescimento com fendilhamento no pecíolo das folhas próximas as regiões intumescidas dos ramos (KUHN, 1992/f). Fazendo-se um corte transversal no ramo, na região intumescida, observa-se o tecido de aspecto corticento escuro que se infiltra em direção à medula.

Nas plantas muito afetadas a vegetação é fraca e os ramos amadurecem irregularmente, e aqueles com intumescimento tendem a morrer no período de repouso. Também tem sido verificado, inclusive em algumas cultivares viníferas, que nas plantas afetadas a brotação primaveril é retardada e alguns ramos podem apresentar leve fendilhamento da casca nos meritalos inferiores, tendendo a curvar para baixo. As folhas tendem a se enrolar para baixo e a avermelhar, nas cultivares tintas. Esse avermelhamento, além de ser de intensidade mais fraca, toma todo limbo foliar, inclusive as nervuras, o que diferencia do vírus do enrolamento da folha (KUHN, 1990/c).

As cultivares de Vitis vinifera não mostram o sintoma de engrossamento nos ramos, característicos da doença. Entretanto, tem-se observado com frequência a presença do patógeno associado ao engrossamento na região da enxertia em mudas novas e ao avermelhamento anormal em folhas de plantas adultas. O sintoma se caracteriza pelo volume excessivo de tecido de consistência esponjosa que se forma na região e acima da enxertia, podendo atingir até 20 cm do tronco da produtora, sendo que esse engrossamento ocorre principalmente em mudas com idade entre um e três anos. Na regiao afetada o tecido intumescido(hipertrofiado) morre e fica com aspecto corticento, apresentando fendilhamentos longitudinais. O tecido é facilmente retirado, verificando-se na superficie do lenho a presença de caneluras na superficie do tecido soldado, avançando, normalmente, em direção ao tronco da produtora e raramente ao tronco do porta-enxerto. As mudas que apresentam engrossamento forte, raramente sobrevivem além do terceiro ano após a enxertia.

No RS o sintoma tem sido observado com maior frequência nas cultivares Trebbiano, Riesling Itálico, Malvasia Branca, Pinot Blanc, Gamay Beajoulais e Cabernet Sauvignon, enxertadas em Golia, Riparia Gloire e mais comumente no porta-enxerto conhecido regionalmente por "branco rasteiro" (KUHN, 1992/f).

Esse patógeno é transmitido através do material vegetativo utilizado na formação das mudas, seja pela simples multiplicação de estacas ou gema, como através de enxertia. Embora não se tenha definido nenhum vetor, há fortes indícios da ocorrência de cigarrinhas como disseminadoras do patógeno de uma planta para outra no vinhedo. Não há nenhuma constatação de contaminação através de ferramentas e tesouras de poda.

De acordo com KUHN(1992/f), nos trabalhos de seleção de plantas sadias a detecção do patógeno é feita somente através de testes de indexagem, utilizando-se como indicadora a cultivar LN 33 (Couderc 13 x Thompson Seedless).

Quanto aos prejuizos causados, é observado uma diminuição acentuada na produção e à maturação incompleta da uva, além do definhamento progressivo com posterior morte total ou parcial da planta; além do que, tal patógeno, causador do intumescimento dos ramos, está sempre associado ao engrossamento na região de enxertia em plantas novas, sendo portanto um dos causadores da morte de mudas de cultivares de Vitis vinifera.

De acordo com KUHN(1992/f), em relação à ocorrência da doença na região vitícola do Rio Grande do Sul, tem sido verificada com uma variação de 2 a 11% em vinhedos de cultivares americanas. A tabela 5 apresenta os resultados de observações de campo em 4.168 plantas e de testes de indexagem em 31 amostras de plantas com sintomas. Os testes de indexagem visam comprovar a presença do patógeno causador do intumescimento dos ramos, nas plantas doentes.

Tab.5 - incidência da doença do intumescimento dos ramos em cultivares de Vitis labrusca que mostraram sintomas típicos da infecção.

Município	No Vinhedos Avaliados	Cultivar	Plantas		Plantas	
			Exam.	c/sint.	Index.	Infec.
		*	(nº)	(nº)	**(nº)	(nº)
B. Gonçaves.....6.....	Isabel.....	3418.....	123.....	22.....	22.....	22.....
2.....	Niágara Rosada	520.....	19.....	6.....	6.....	6.....
Farroupilha.....1.....	Niágara.....	230.....	17.....	3.....	3.....	3.....

FONTE: EMBRAPA - CNPUV (Circular Técnica, 16)

* Observações realizadas de 1980 a 1987, com base nos sintomas de campo, em vinhedos com mais de cinco anos.



Fig. 8 - Planta infectada com vírus do intumescimento dos ramos; cultivar porta-enxerto LN 33.

6.4.3. VIRUS DA CANELURA DO TRONCO DA VIDEIRA("grapevine stem pitting disease")

De acordo com MARTELLI & PROTÀ (1985), em 1969, numa determinada área, na província de Taranto (Itália), foi observada a presença de uma alteração do lenho, que pela característica foi chamada de "legno riccio" e, sintoma semelhante foi observado após, em todas as regiões italianas e em outros países também, chegando-se a conclusão que esta já estava disseminada em escala mundial.

Embora seja constatada na maioria dos países vitícolas, seu agente patogênico ainda não foi devidamente isolado e caracterizado.

Segundo KUHN(1992/f), o sintoma típico da doença é observado quando se retira a casca do tronco da videira, verificando-se, sobre a superfície do lenho, a formação de reentrâncias longitudinais (caneluras), que corresponde ao local onde a casca penetra no tronco, prejudicando a formação dos vasos condutores da seiva. O número de caneluras, bem como seu comprimento e largura, variam muito, possivelmente devido a sensibilidade da cultivar afetada e as raças do patógeno. As plantas doentes, em geral, diminuem o vigor e há retardamento na brotação das gemas de uma a duas semanas. A casca do tronco é mais grossa e de aspecto corticento. Em algumas combinações enxerto/porta-enxerto, os sintomas podem se limitar a um dos componentes, quando o outro é tolerante. Os porta-enxertos normalmente mostram sintomas nítidos da doença. Cultivares européias como Itália, Perlona, Pinot Noir, Trebbiano e Riesling Itálico, têm-se mostrado altamente susceptíveis, com fortes sintomas.

Cultivares americanas produtoras, como a Isabel e a Niágara, também mostraram sintomas típicos de doença. As caneluras podem ser observadas até nas raízes especialmente em cultivares muito susceptíveis, como é o caso do porta-enxerto Rupestris du Lot. Também pode ocorrer na região de enxertia uma diferença de diâmetro entre o enxerto e o porta-enxerto. As folhas das cultivares tintas podem apresentar avermelhamento em plantas muito afetadas em função da formação deficiente dos vasos condutores na região afetada; já nas plantas sem canelura, as folhas permanecem normais. A morte das plantas normalmente ocorre entre seis e dez anos de idade ou até mais cedo, quando ambas as cultivares - porta-enxerto e enxerto - são muito sensíveis.

A transmissão do patógeno é, segundo KUHN (1992/f), comprovadamente realizada através de material vegetativo e da enxertia. Nos vinhedos não se tem notícias da ocorrência de vetores aéreos ou do solo. Algumas correlações tem sido feitas entre a ocorrência da doença em forma de manchas dentro do vinhedo e a presença de Xiphinema index, embora sem nenhuma comprovação de eficiência do nematóide como vetor.

Em programas de seleção, que visam a obtenção de matrizes sadias, o único meio viável de diagnose é através de cultivares indicadoras nos testes de indexagem. As indicadoras mais utilizadas, são as cultivares Rupestris du Lot e Kober 5BB. Também, MARTELLI & PROTA (1985), afirmam que a disseminação da doença advém do material de propagação contaminado e a diagnose da virose das caneluras do tronco devem ser efetuadas com plantas indicadoras sensíveis, como a Kober 5BB, 420 A, 157-11 e LN 33.

Essa doença foi observada em grande parte dos municípios do RS, normalmente em vinhedos com idade de mais de sete anos, com incidência variando de 3 a 10% aproximadamente; porém, constatou-se incidência de mais de 50% em vinhedos com idade superior a doze anos, formados a partir de cultivares susceptíveis e de material não selecionado.

As principais características que definem os prejuizos causados são a perda de vigor e consequente diminuição na produção e na qualidade da uva, também podendo ocorrer morte das plantas, normalmente com idade, com já citado, acima de sete anos, variando muito a susceptibilidade da cultivar, tanto do porta-enxerto quanto da produtora.

GRANITI & MARTELLI(1970) citados por SHUCK et al., (1988) citam que nos sintomas internos, a face cambial da casca mostra uma série de protuberâncias alongadas em formas de costelas ou arestas, e, no cilindro lenhoso, depressões, estrias e rasuras correspondem às aresta adjacentes. Essas depressões ocorrem paralelas ao eixo longitudinal.

Exame de tecidos de secções transversais de troncos de plantas doentes indicam que as menores saliências do cortex consistem em hipertrofia dos raios estendendo-se da casca até o xilema. A linha cambial apresenta contorção, e ao remover-se a casca o cilindro lenhoso aparece irregularmente recortado. Parenquimatoses ocorrem em ambos, xilema e floema. A casca mostra anormalidades anatômicas, tais como hipertrofia, desorganização da estrutura normal e necrose no floema. Segundo LEGIN et al., (1979) citado por SHUCK et al., (1988), o lenho rugoso pode ser eliminado por termoterapia.

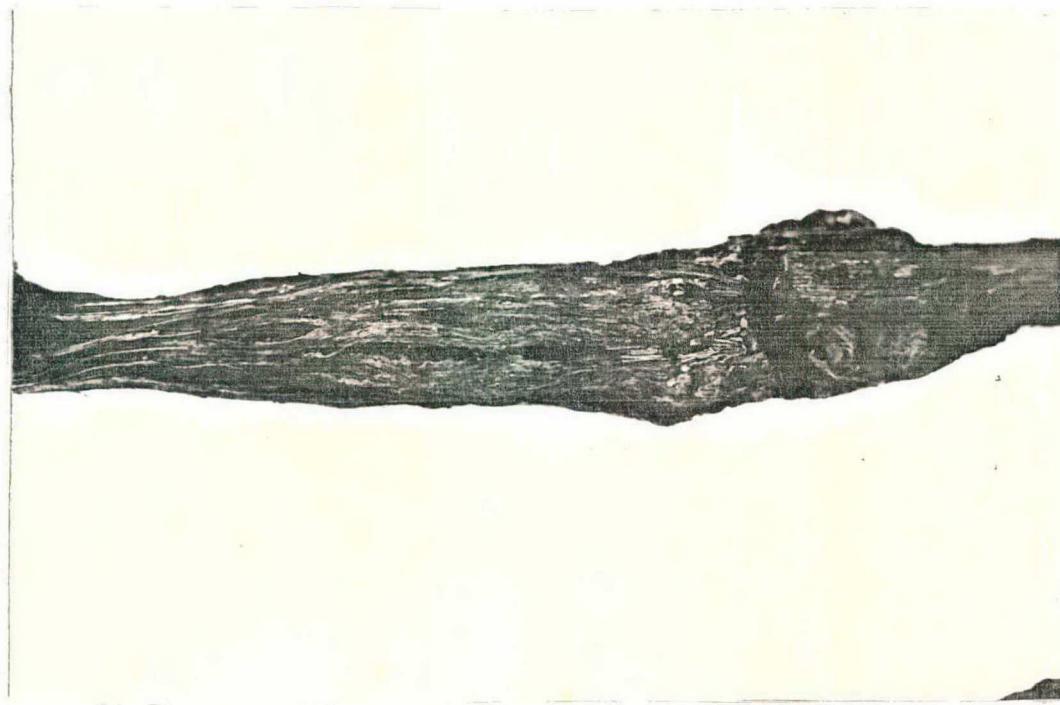


fig.9 - Planta infectada com vírus da canelura, cv. Indicadora 5BB

6.4.4. VIRUS DOS ENTRE-NOS CURTOS DA VIDEIRA ("grapevine fanleaf virus")

Esta doença é conhecida também como "nó-curto" ou "degeneração da videira" (KUHN et al., 1986/b).

O vírus dos entre-nós curtos da videira é conhecido em todos os países vitícolas do mundo e a sua transmissão mecânica para plantas herbáceas facilitou a caracterização deste, que pertence ao grupo dos Nepovírus. Constitui-se de partículas poliédricas de aproximadamente 30nm de diâmetro.

Os sintomas, que podem aparecer em todos os órgãos da planta, são normalmente observados na primavera, como manchas translúcidas, deformações com distribuição anormal das nervuras, ficando as folhas com aparência de leque, ângulo de pecíolo muito aberto ou fechado, assimetria foliar com "dentes" pontiagudos e redução no tamanho das folhas. Nos ramos é comum a presença de entre-nós curtos, crescimento paralelo, achatamento e nós duplos, sendo que o achatamento também pode aparecer no pecíolo e gavihas; proliferação de gemas, bifurcação ou trifurcação achatada e atrasada. Nos cachos, o número e tamanho de bagas são menores, ocorrendo a formação de bagozinhas (bagas que permanecem pequenas e verdes). Outro sintoma característico é a presença de uma coloração amarelo-ouro nas folhas, causada por uma raça específica de vírus. Esse amarelecimento ocorre, primeiramente, em manchas de forma e tamanho distintos, normalmente de distribuição irregular, dando aparência inicial de mosáico; posteriormente, toma toda ou parte da área foliar. A intensidade desses sintomas varia com a espécie, cultivar e virulência do vírus (KUHN et al., 1986/b e KUHN, 1992/f).

Outra raça do vírus dos entre-nós curtos, causa somente amarelecimento no tecido ao longo das nervuras principais, podendo se estender às nervuras secundárias. Em algumas cultivares, a maioria das folhas apresentam sintomas, enquanto que em outras eles são evidenciados apenas em algumas folhas. As folhas com amarelecimento nas nervuras podem ficar assimétricas. Num mesmo cacho, há formação de bagas pequenas e bagas normais. Nas folhas dos porta-enxertos não é comum a presença de sintomas.

A virose dos entre-nós curtos pode ser confundida com sintomas de deficiência de Boro (que induz a formação nos ramos de nós duplos, fasciação e entre-nós curtos), com ataque de insetos, com problemas de origem genética que causam bifurcação, nós duplos e deformação das folhas; com efeito de herbicidas, que causam deformação, manchas e amarelecimento nas folhas. Nos cachos, os sintomas podem ter origem genética ou fisiológica, seja por causas climáticas e vigor excessivo devido o uso de porta-enxertos não apropriados ou pelo uso excessivo de adubos nitrogenados (KUHN, 1992/f).

Além da multiplicação vegetativa e enxertia, o patógeno é transmitido para plantas herbáceas, como fumo (Nicotiana tabacum), Chenopodium, etc., pela inoculação mecânica de folhas doentes. Além do que, em vinhedos, o vírus é transmitido por nematóides (Xiphinema index e Xiphinema italiae), sendo que tais vetores não são ainda conhecidos no RS.

Não foi constatado a contaminação do material vegetativo através de ferramentas e tesoura de poda.

Quanto ao diagnóstico, este é feito através de indexagem coma indicadora Rupestris du Lot cv. St. George, sendo que também pode ser utilizadas indicadoras herbáceas com Chenopodium quinque Wild, C. amaranticolor Coste & Reyne, Gonphrena globosa L. Entretanto, o método mais empregado para a triagem de material nos programas de seleção é a serologia, por meio do teste de dupla difusão em ágar-gel e, mais recentemente, através do teste de ELISA.

Por fim, quanto aos prejuízos causados nos pomares da região vitícola do RS, este varia, em primeiro lugar, com a intensidade da infecção, raça do vírus e cultivar infectada. Porém, em cultivares suscetíveis, com o ataque severo do vírus, a produção pode cair em 70 a 80%. Em uvas de mesa, os prejuízos são mais graves, devido ao aborto das flores e à má-formação das

bagas depreciando acentuadamente o produto comercial.

Porém, a coerência da doença na região vitícola do RS é baixa, embora não se tenha nenhum levantamento representativo da presença do vírus nesta.

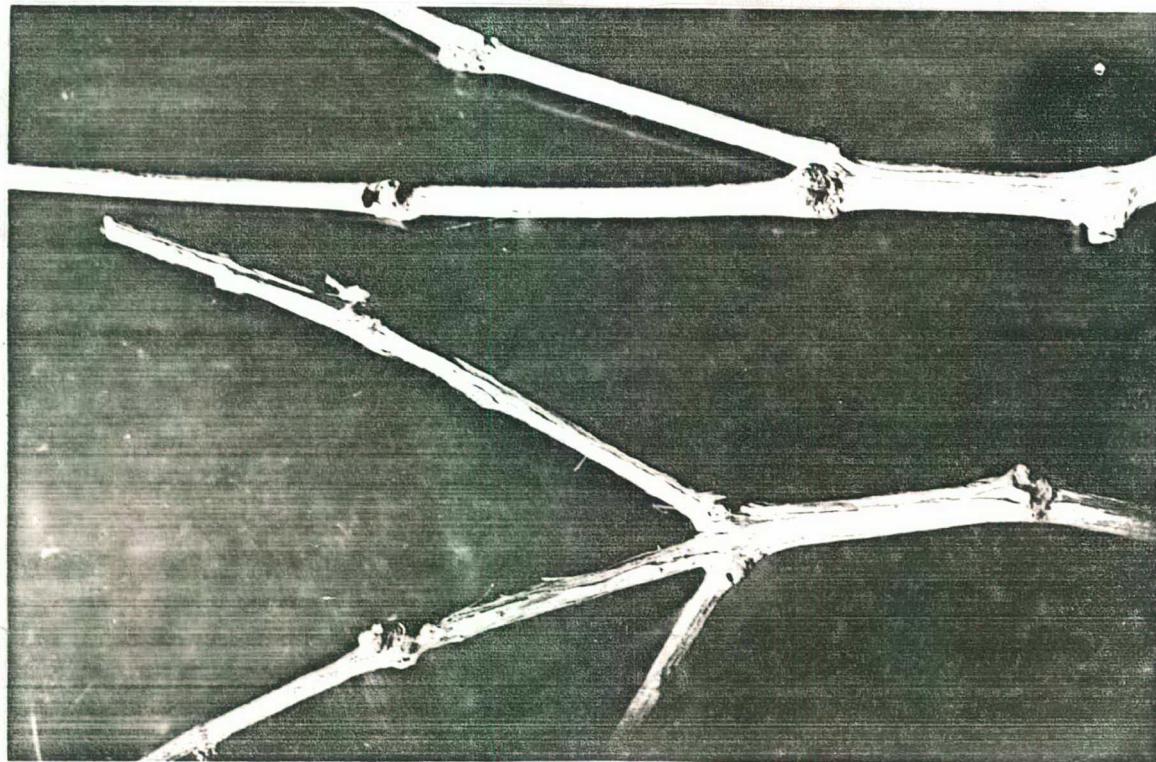


Fig.10. - Planta infectada com vírus dos entre-nós curtos da videira; cultivar indicadora Rupestris du Lot.

6.4.5. VIRUS DA NECROSE DAS NERVURAS ("vein necrosis")

Durante o ano de 1984 foi constatado no município de Bento Gonçalves- RS, a ocorrência de uma anomalia no portainxerto Richter 110 (*Vitis rupestris* x *Vitis berlandieri*), caracterizada pela necrose das nervuras (KUHN, 1992/i).

Sintomas semelhantes foram constatados em vinhedos da França e foi denominada de "nécrose des nervures de la vigne" (LEGIN & VUITTENEZ, 1975 citados por KUHN, 1992/i). Também na Itália, nas regiões e sul do país, tal doença ocorre com uma frequência de 50 a 80% nos clones selecionados (CREDI et al., 1984; SAVINO et al., 1984 e GRANATA & REFATTI, 1984 citados por KUHN, 1992/i).

De acordo com BOVEY et al.,(1980) citado por KUHN (1992/i), essa anomalia é amplamente distribuída de forma latente na maioria das cultivares da videira. O patógeno causador da doença, provavelmente um vírus, pode ser eliminado por termoterapia. Tal patógeno é transmitido através da união de tecidos, e, nem todas as cultivares doentes manifestam os sintomas ou seja, o vírus pode permanecer em estado latente por tempo indeterminado.

Os sintomas da necrose das nervuras se caracterizam pela necrose das nervuras bem visível na página inferior das folhas da base, evoluindo para outras folhas com o crescimento do ramo. A necrose das nervuras induzem à deformação das folhas, sendo comum a ocorrência de estrias e manchas escuras (necroses) na superfície dos ramos, peciolos e gavinhas. Normalmente as gavinhas afetadas tornam-se flácidas e murcham. A coloração verde das folhas é bem mais fraca. Nestas plantas, os sintomas de necrose das nervuras podem evoluir da área foliar em especial nas folhas da base.

No RG foram constatados tais sintomas no porta-enxerto "Solferino" além da cultivar R 110. Em ambos, as plantas afetadas apresentaram severa redução do vigor, evoluindo para a morte dos ramos e morte da planta.

A melhor indicadora a ser utilizada em testes de indexagem é a R 110. Os sintomas induzidos pelo patógeno nesta, em casa de vegetação, são muito mais severos que os observados em campo. A reação das plantas ocorre normalmente de 1 a 3 meses após a inoculação, quando a enxertia é realizada no início da primavera.

Dependendo da fonte de inóculo, a indicadora pode apresentar sintomas leves, apenas necrose das nervuras, principalmente das secundárias e terciárias permanecendo as folhas planas e às vezes, com leve assimetria. Entretanto, com outras fontes de inóculo, os sintomas na indicadora são muito fortes abrangendo as folhas, ramos verdes, peciolos e gavinhas, sendo comum também a ocorrência da queda da ponteira do ramo que se destaca da planta na região do nó. Estes sintomas ocorrem, com maior frequência durante o segundo ciclo vegetativo, após a inoculação, embora possa ocorrer já no primeiro, quando a raça do patógeno inoculado induz sintomas muito severos. Com a evolução dos sintomas, muitos ramos morrem e a brotação diminui sensivelmente a cada ano, levando as plantas indicadoras ao total definhamento (KUHN, 1992/i).

De acordo com KUHN (1992/i), em trabalho desenvolvido na EMBRAPA/CNPUV, há a presença da doença, de forma latente, em todas as cultivares produtoras testadas e na quase totalidade dos porta-enxertos, demonstrando a necessidade de testes de indexagem para seleção de matrizes sadias (vide tabelas 6 e 7, a seguir).

Tabela 6 - Incidência do patógeno causador da necrose das nervuras em cultivares de produtoras viníferas determinada através de indexagem com a indicadora 'R 110'.

Cultivares	Plantas		
	Indexadas (nº)	Infectadas (nº)	Com Infecção (%)
Agliâmico	2	2	100,0
Cabernet Sauvignon	9	8	85,7
Chasselas Blanc	2	1	50,0
Cornicola di Millazzo	1	1	100,0
Cot	1	1	100,0
Flora	3	3	100,0
Gamay Beaujolais	2	2	100,0
Honey Red	2	2	100,0
Malbec	3	2	66,6
Malvasias	10	7	70,0
Merlot	1	1	100,0
Moscato Rosado	3	2	66,6
Perlona	8	8	100,0
Petite Syrah	7	4	57,1
Peverella	1	1	100,0
Pinot Blanc	1	1	100,0
Pirôvano 65	6	5	83,3
Prosecco Tondo	4	4	100,0
Riesling Itálico	5	3	60,0
Riesling Renano	7	6	83,3
Sangiovese	1	1	100,0
Sémillon	20	7	35,0
Vernaccia	4	1	25,0
TOTAL	103	73	70,8

a) Amostra coletadas na coleção de cultivares do CNPUV e vinhedos comerciais.

b) Amostras originadas de vinhedos formados com mudas importadas.

FONTE: KUHN , (1992/i).

Tabela 7 - Incidência do patógeno causador da necrose das nervuras em cultivares de porta-enxertos e de produtoras americanas e hibridas determinada através de indexagem com a indicadora R 110.

Cultivares	Plantas		
	Indexadas (nº)	Infectadas (nº)	Com Infecção (%)
101-14	14	12	86,7
106-8 (Traviú)	3	2	66,6
1145	4	1	25,0
3309	9	3	33,3
420 A	15	9	60,0
Castel 196 - 17	2	1	50,0
Golia	8	8	100,0
IAC 571 - 6	4	3	75,0
IAC 572	4	4	100,0
IAC 766	3	1	33,0
Kober 5 BB	25	5	20,0
Riparia Gloire	3	0	0,0
Schwarzmann	10	4	40,0
S04	29	6	20,6
Solférino	24	2	8,3
Teleki 5C	5	1	20,0
Teleki 8B	3	1	33,3
Sub - total	165	63	38,7
Concord	16	5	31,2
Isabel	29	8	28,5
Ives (Bordô)	7	3	42,7
Niágara Branca	3	1	33,3
Niágara Rosada	3	2	66,6
Seibel 10096	1	0	0,0
Seyve Villard 18315	2	2	100,0
Sub - total	68	27	39,2

a) Amostras coletadas em vinhedos comerciais, coleção de cultivares e viveiro matriz do CNPUV.

FONTE: KUHN, (1992/i)

Por fim ainda não existem avaliações precisas do efeito da doença sobre as cultivares de interesse comercial, mas é importante que se leve em consideração, tal doença, nos programas de seleção sanitária da videira, visto que há grande disseminação do patógeno pelas regiões vitícolas do mundo.

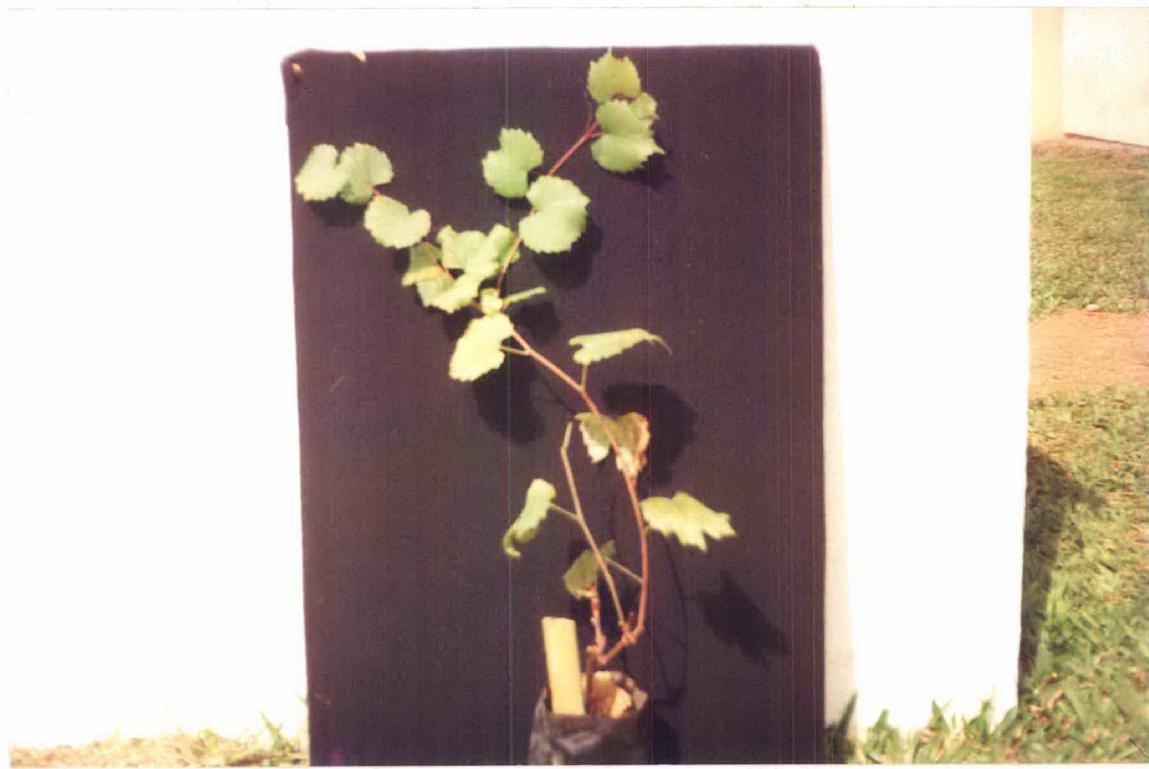


Fig. 11 - Planta infectada com vírus da necrose das nervuras; cultivar porta-enxerto R 110.

6.4.6. VIRUS DAS MANCHAS DAS NERVURAS ("grapevine fleck disease")

Em 1981 constatou-se no RS a ocorrência de uma infecção latente na videira (*Vitis*spp.). Originalmente, esta doença foi conhecida na Califórnia pelos sintomas induzidos em *Vitis rupestris* St. George (HEWIT et al., 1962 citados por KUHN, 1992/g). Posteriormente, foi conhecida na França como "Marbrure", sendo confundida inicialmente com a doença chamada "vein clearing disease", sendo que em estudos subsequentes constatou-se não ser a mesma doença.

Já foi constatada, tal patogenicidade, em vários países, como na Califórnia (HEWIT et al., 1962), França (VUITTENEZ, 1966), África do Sul (GALET, 1977), Austrália (WOODHAM & KRAKE, 1983) e na Itália (MARTELLI & PROTA, 1985), (KUHN, 1992/g). No Brasil foi detectada primeiramente em São Paulo e após no Rio Grande do Sul.

De acordo com MARTELLI & PROTA(1985), o agente desta doença ainda não foi identificado. Porém, há referências da presença de partículas arredondadas, semelhantes à vírus, associadas à tecidos doentes. Daí a ser considerada uma doença de etiologia viral.

Os sintomas das manchas das nervuras da folha da videira foram inicialmente observados, no RS, em plantas matrizes do porta-enxerto Rupestris du Lot. Os sintomas característicos aparecem com maior nitidez nas folhas novas, como manchas translúcidas alongadas, sem forma definida, acompanhando as nervuras, em especial as de 3^a e 4^a ordem. Essas manchas ocorrem

de forma distribuída em uma parte ou em toda lâmina foliar. Também foi comumente observado a ocorrência de abertura excessiva do seio peciolar, bem como a ocorrência de assimetria quando a disposição das folhas, em especial nas plantas desenvolvidas em casa de vegetação; as plantas muito afetadas desenvolveram-se menos, e, apresentavam folhas com bordas voltadas para cima. Esses sintomas se enquadram na sintomatologia descrita em outros países para a doença "grapevine fleck", cujo agente causal é considerado um vírus (HEWITT et al., 1972 e BOVEY et al., 1980 citados por KUHN, 1992/g).

De acordo com trabalho desenvolvido por KUHN(1992/g), nos testes de transmissão do patógeno, todas as plantas de Rupestris du Lot originadas de estacas coletadas de plantas doentes reproduziram os sintomas da doença. Da mesma forma em todos os testes de transmissão por união de tecidos, conduzidos através de enxertia de mesa, de gema e por garfagem verde no topo, as plantas indicadoras de Rupestris du Lot e Kober 5 BB apresentaram sintomas de manchas nas nervuras, embora nesta última não fossem tão característicos, além de ocorrerem com menor intensidade.

Uma infecção latente na cultivar Chasselas se assemelha muito à doença "grapevine fleck". Além dos porta-enxertos Rupestris du Lot e Koberb 5 BB, induz sintomas o porta também o porta-enxerto 5 C (BOVEY, 1972 citado por KUHN, 1992/g).

Também segundo KUHN(1992/g), na maioria dos testes de transmissão por enxertia, conduzidos no período de repouso da planta ou no inicio da primavera, os sintomas apareceram na indicadora no mesmo ciclo vegetativo ou no máximo no 2º ciclo, após a enxertia, com bastante nitidez no período da primavera, diminuindo de intensidade com o envelhecimento do tecido foliar. Verificou-se, porém, que os sintomas apresentados pelas plantas indicadoras variaram de intensidade e severidade de acordo com a fonte de inóculo, o que pode ser devido à ocorrência de raças diferentes de patógenos.

As cultívaras Cabernet Sauvignon, Pinot Noir, Merlot, Riesling Renano, Ugni Blanc, Flora, Niágara Rosada, Isabel, R 99,420 A, e P 1103 também foram utilizadas nos testes de transmissão como indicadoras, não apresentaram em casa de vegetação reações aparentes da doença. Porém, quando se fizeram testes de recuperação do patógeno a partir dessas plantas inoculadas, os resultados foram sempre positivos, o que caracteriza a presença do vírus latente nestas plantas.

Em testes conduzidos para verificar a passagem do patógeno pela semente não se observou qualquer sintoma aparente da doença em 32 plantas originadas de sementes da cultivar Cabernet Sauvignon, portadora do vírus, durante três anos de observação, sendo que os testes de indexagem destas plantas foram sempre negativos (KUHN, 1992/g). Resultados semelhantes já foram obtidos e mencionados na França e na Itália.

Nos testes de transmissão de patógenos para plantas herbáceas, não houve nenhuma reação das plantas testes inoculadas, sendo que, resultados negativos também foram encontrados na Itália por MARTELLI & PROTÀ(1985) e em São Paulo (KUNIYUKI, 1976 citados por KUHN, 1992/g).

Quanto à ocorrência de tal patogenicidade nos vinhedos do RS, pode-se ter uma noção a partir da tabela 8 e 9, à seguir:

Tabela 8 - Incidência de Manchas das nervuras da folha da videira em vinhedos da região vitícola do Rio Grande do Sul.

Cultivar	Nº de Plantas		
	Indexadas	Infectadas	Infecção (%)
Corniola de Millazzo	4	2	50,0
Flora	27	0	0,0
Itália Rubi	6	2	33,3
Isabel	81	0	0,0
Malvasia de Lipari	3	1	33,3
Moscatel Rosado	13	2	15,3
Prosecco Tondo	3	0	0,0
Sémillon	5	2	40,0
Tannat	2	0	0,0
Vernaccia	1	0	0,0
TOTAL	145	9	6,2

Indexagem através da Indicadora Rupestris du Lot.

FONTE: KUHN (1992/g)

Tabela 9 - Incidência da Manchas das nervuras da folha de videira em cultivares de porta-enxerto.

Porta-enxerto	Nº Plantas		
	Indexados	Infectadas	Infecção (%)
101-14	38	0	0
5 BB	36	0	0
R 110	12	0	0
420 A	24	7	29,2
3309	16	1	6,2
161-49	4	1	25,0
R 99	22	6	27,3
1103	15	1	6,6
1045	5	0	0
SD4	57	3	5,3
Subtotal	229	19	8,3
Schwarzmann	14	1	7,1
Riparia Glorie	14	0	0,0
Golia	28	0	0,0
196-17	2	0	0,0
106-8(Traviú)	16	1	6,2
IAC 766	3	0	0,0
IAC 571,6	8	1	12,5
IAC 572	5	0	0,0
Subtotal	90	3	3,3

a) Amostras coletadas no CNPUV, sendo as primeiras 10 do viveiro matriz e as demais da coleção de cultivares

b) Indexagem com a indicadora Rupestris du Lot

FONTE: KUHN, 1992/g

6.5. IMPORTANCIA DA UTILIZAÇÃO DE MATERIAL VEGETATIVO LIVRE DE VIRUS

Material vegetativo de boa qualidade, livre das principais viroses, é a base fundamental para se obter sucesso num empreendimento relacionado à fruticultura.

Sabe-se que atualmente as doenças causadas por vírus constituem mundialmente, em uma das principais causas da baixa produtividade/ha e da má qualidade da produção dos vinhedos também, além do que, a vida útil do vinhedo é drasticamente afetada e reduzida, pois este tende a definhhar como um todo, culminando com a morte das plantas.

Durante o período em que se acompanhou a problemática das viroses no CNPUV pode-se observar plantas doentes, principalmente com a virose do enrolamento das folhas, e notar-se então, nitidamente, o quanto essas plantas perdem seu potencial e passam a vegetar precariamente, e, quando produzem, observa-se, principalmente quando se compara a outra planta sadia da mesma cultivar, anormalidades na quantidade e qualidade de seus frutos.

Em função da raça do vírus, da susceptibilidade da cultivar, do estádio fenológico da planta, etc., é que se terá um maior ou menor prejuízo no vinhedo, levando-se em conta que algumas viroses podem vir a manifestar-se nos primeiros anos de implantação e outras, durante plena produção, o que é bem pior. Tais prejuízos tem sido verificados, de acordo com KUHN (1990/d), em diversos países vitícolas, constando hoje da literatura mundial o registro de perdas consideráveis causadas principalmente pela virose do enrolamento da folha e dos entrenós, em vinhedos de Vitis vinifera. Tais perdas podem chegar a 70% na produção e a atingir apenas 40Brix no teor de açúcar (quando o ideal gira em torno dos 180Brix). Além disso, são mencionados efeitos negativos sobre o enraizamento, pega na enxertia e na intensidade de cor dos vinhos.

Também WINKLER(1965) comenta que no sul da Califórnia se tem exemplos bem evidentes da destruição de vinhedos por vírus nos anos de 1883 e 1886, e no Vale de São Joaquim, de 1937 e 1944.

Mundialmente, a qualidade do material de propagação melhorou de sobremaneira nas últimas décadas, devido a tradição secular do cultivo da videira em outros países e por haver, então, uma maior tradição da viticultura. Como consequência, há uma maior conscientização dos viveiristas e dos viticultores sobre a importância e o retorno da utilização de material de boa qualidade. Já no Brasil, a viticultura bem mais recente, foi implantada ao longo dos anos com mudas formadas no local definitivo pelo próprio viticultor, onde o material de propagação se originou sempre dos vinhedos mais velhos da propriedade ou de vizinhos próximos. Em vista do desconhecimento das doenças transmitidas pela multiplicação vegetativa, em particular as viroses, a coleta do material de propagação sempre foi feita sem seleção prévia. Isso propiciou ampla disseminação do vírus, onde o homem teve papel fundamental, decisivo como agente disseminador. No RS, em levantamento realizado entre 1979 e 1983, constatou-se que nas cinco cultivares tintas mais plantadas, próximo de 100% das plantas apresentavam sintomas de virose do enrolamento da folha. E o que pode ser observado na tabela 10. Sabe-se hoje que as principais áreas vitícolas brasileiras estão com alta incidência de viroses, não sendo, em hipótese alguma aconselhadas como fonte de material de propagação (KUHN, 1990/g).

Tabela 10 - Incidência da virose do enrolamento da folha em cultivares de Vitis vinifera tintas, RS:

Município	No de vinhedos Avaliados	Cultivares	Plantas		
			Exam.	!Enrol.	Infect (%)
B.Gonçalves	9.....	Cabernet Franc...	7881...	7574...	96,1
	5.....	Bonarda.....	3850...	3850...	100,0
	5.....	Merlot.....	4350...	4130...	94,9
	9.....	Barberas.....	7000...	6987...	99,8
	1.....	Songiovese.....	1000...	943...	94,3
Garibaldi.....	6.....	Cabernet Franc...	3830...	3813...	99,5
Farroupilha.....	4.....	Cabernet Franc...	3500...	3480...	99,4
	1.....	Merlot.....	500...	500...	100,0
TOTAL.....			31.911...	31.277...	

FONTE: EMBRAPA - CNPUV, 1992(Circular Técnica, 16)

Observações realizadas de 1979-1983, em vinhedos de 5 a 20 anos, com base nos sintomas de campo.

Desta forma, pode-se então concluir que o controle do material vegetativo é fundamental, caso contrário, os riscos a quem deseja implantar ou incrementar uma área destinada à viticultura, são bastante grandes.

6.5.1. CONTROLE DAS VIROSES

No Brasil o controle das viroses é feito pela obtenção de matrizes saudáveis através de seleção massal e clonal e da indexagem. Entretanto, não sendo possível o isolamento de material sadio por estes métodos, faz-se a importação de clones saudáveis de outros centros vitícolas, ou então, a limpeza por termoterapia (DAL CONTE & HAAS, 1986).

Entre as viroses consideradas prioritárias nos programas de formação de matrizes certificadas dos diversos países vitícolas do mundo, estão aquelas que já foram constatadas e/ou identificadas nos vinhedos do RS sendo elas, a virose do enrolamento da folha ("grapevine leafroll"), virose do intumescimento dos ramos ("corky bark"), virose do mosáico das nervuras ("grapevine fleck"), além da virose dos entre-nós curtos ("court noué" ou "fanleaf"), virose da canelura ("stem pitting") e da virose de necrose das nervuras ("vein necrosis").

Nos últimos anos, com o desenvolvimento da viticultura e com a instalação de novas indústrias vitícolas na região, houve também um grande incentivo para implantação de novos vinhedos e para introdução de cultivares viníferas (KUHN, 1984/a). A falta de material de propagação sadio, estava levando algumas empresas a importarem grande parte do material necessário à formação de vinhedos de plantas matrizes. Porém, tal prática não traz benefício, pois além de propiciar a evasão de divisas do país, possibilita a introdução de novas pragas e doenças.

Desta forma, a EMBRAPA/CNPUV de Bento Gonçalves, RS, aliando o problema de alta incidência de viroses nos vinhedos da região ao da alta demanda/baixa oferta de material de propagação sadio, iniciou um programa de pesquisa de viroses e formação de matrizes livres de vírus em 1978, inicialmente com somente práticas de seleção sanitária (seleção morfológica e seleção biológica) e, mais recentemente, com testes serológicos.

6.6. METODOS DE CONTROLE E OBTENÇÃO DE MATERIAL VEGETATIVO LIVRE DE VIRUS

Para que a viticultura possa alcançar um maior desenvolvimento tanto social como econômico e despertar no viticultor mais interesse pelo cultivo da videira, são necessárias a adoção de novas técnicas e o aprimoramento dessas técnicas de cultivo (KUHN, 1981/j). A seleção sanitária é uma dessas técnicas.

6.6.1. SELEÇÃO SANITARIA

De acordo com KUHN(1981/j), o controle de determinadas doenças de videira em condições de campo, principalmente aquelas causadas por vírus, somente é viável através da seleção sanitária, pois a planta após infectada torna-se impossibilitada de ser curada por métodos tradicionais(como aplicação de agrotóxicos, por exemplo), comumente utilizados no controle de outras doenças.

A seleção sanitária é uma prática que envolve uma série de atividades e cuidados até a escolha das plantas que servirão como fonte de propagação, sendo que os trabalhos são conduzidos em etapas sucessivas através de seleção morfológica e biológica.

6.6.1.1. SELEÇÃO MORFOLOGICA

A seleção morfológica pode ser massal ou clonal.

A seleção massal é uma atividade desenvolvida diretamente nos vinhedos e baseada no aspecto geral (visual) de cada planta, ou seja, plantas são selecionadas a partir da sintomatologia apresentada no vinhedo.

O exame é feito cuidadosamente, através das plantas sem sintomas de virose e que apresentam boa produção e maturação uniforme da uva. Estas plantas são marcadas e examinadas por dois ou mais anos, a fim de se obter um material bastante homogêneo.

A seleção clonal é desenvolvida a partir das plantas marcadas durante a seleção massal, onde são formados clones a partir de tais plantas. Estas, são multiplicadas individualmente, formando clones em campos experimentais, estufins ou casas de vegetação; sendo as observações minuciosamente feitas a partir da descendência da planta selecionada, por um período de dois ou mais anos.

Tanto no decorrer do processo de seleção massal, quanto no da seleção clonal, as observações são feitas nas diversas épocas do ano, visto que os sintomas de cada vírose, em particular, são melhor caracterizados somente em determinado estágio vegetativo da planta.

De acordo com KUHN (1990/d), as épocas de observação podem variar de país para país ou de região para região, em função das condições climáticas. No Rio Grande do Sul, as observações são feitas nas seguintes épocas:

A) Na primavera, quando os ramos alcançam em torno de 50 cm: Nesta fase, a observação é particularmente importante para verificar a presença da virose dos entre-nós curtos, que pode manifestar-se tanto nas folhas quanto nos ramos. Nas folhas, os sintomas mais comuns são o amarelamento, faixa amarela ao longo das nervuras, manchas cloróticas de contorno variado e deformações. Nos ramos já se pode verificar, nessa fase, a presença de bifurcações, entre-nós curtos e achatamento dos ramos, além de nós duplos.

B) Na fase de maturação da uva, antes da colheita: No decorrer deste período, deve-se verificar especialmente as características da produção. As plantas não devem apresentar cachos falhados e mal formados, maturação irregular (presença no mesmo cacho de uvas maduras e verdes) e também aquelas plantas que, embora tenham boa produção, apresentam maturação atrasada ou incompleta.

C) Próximo ao fim do ciclo vegetativo, antes da queda das folhas: Esta fase é muito importante, porque é o período em que se caracteriza bem a presença do vírus do enrolamento das folhas. A seleção deve ser rigorosa, especialmente nas cultivares viníferas, que são sensíveis e sofrem prejuízos consideráveis quando infectadas.

D) No período de dormência das plantas, antes da poda: Nesta fase é que são observados os sintomas nos ramos, o que é facilitado pela ausência de folhas. Não devem ser aproveitadas na seleção as plantas que apresentarem sintomas nos ramos, como achatamento, nós duplos(gemas opostas), bifurcações, entre-nós curtos, engrossamento nos entre-nós e amadurecimento irregular do lenho.

6.6.1.2. SELEÇÃO BIOLÓGICA

E é a etapa que segue a seleção morfológica e é desenvolvida principalmente a partir da seleção clonal.

Todas as plantas ou clones que tiverem boa performance na seleção morfológica, são submetidas aos testes biológicos para comprovar sua real sanidade. Essa etapa é quase que exclusivamente para detectar a ocorrência do vírus, e, consiste em submeter as plantas ou clones à testes.

6.7. TESTES NORMALMENTE EMPREGADOS NAS SELEÇÕES

Os testes normalmente empregados são dois, descritos a seguir:

6.7.1. INDEXAGEM SOBRE CULTIVARES INDICADORAS

Esse teste consiste em utilizar cultivares que apresentam sintomas característicos, quando infectadas por determinado vírus (cultivares indicadoras). Plantas destas cultivares são enxertadas com borbulha ou garfos da planta que se deseja conhecer o estado sanitário. A enxertia pode ser realizada durante o ciclo vegetativo ou no período de repouso das plantas.

Na EMPRAPA/CNPUV de Bento Gonçalves, RS, normalmente os testes são efetuados através da enxertia de mesa, dupla fenda e/ou Ômega. Posteriormente, os enxertos são plantados em casa de vegetação e observados por um período de 2 a 3 anos, dependendo da virose.



Fig.12 - Detalhe do teste de indexação, sobre cultivares indicadoras, em casa de vegetação na EMBRAPA/CNPV.

Algumas cultivares, como porta-enxertos e produtoras americanas, dependendo da virose, podem ser indexadas diretamente no campo, onde o método de enxertia utilizada é o de garfagem (KUHN, 1984/a).

Tab. 11 - Cultivares indicadoras mais conhecidas para algumas viroses:

Virose / Virus	Indicadora
Enrolamento da folha("leafroll")*	Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon Pinot Noir, Baco 22A, Mision
Instumescimento dos Ramos("corky bark")	LN 33
Caneluras do Tronco("stem pitting")	S BB,Rupestris du Lot,157
Entre-nós curtos("fanleaf")*	Rupestris du Lot
-Mosáico amarelo("yellow mosaic")	Rupestris du Lot
-Faixa das Nervuras("vein banding")	Rupestris du Lot
Mancha das nervuras("fleck")	Rupestris du Lot
Necrose das nervuras(" vein necrosis")	R 110
Enaçao(" enation")	Itália, S BB,LN 33
Anéis Pretos do Tomateiro(TBRV)*	Aramon x 143 AMG
Manchas em anéis do Tomateiro(Tom RSV)*	Seibel 9548
Mancha em anéis do fumo(TRSV)*	Seibel 13053
Mosáico em roseta do pessegueiro(PRMV)*	<u>Vitis labrusca</u>

FONTE: KUHN(1990/b)

* Virus que além da indexagem, também podem ser detectados através de testes serológicos

** Todos os testes de indexagem são feitos em casa de vegetação, embora para a virose das caneluras do tronco sejam conduzidos no campo.

6.7.2. INOCULAÇÃO MECANICA EM PLANTAS HERBACEAS

Este teste consiste na fricção do suco extraído do tecido da videira que se quer testar sobre as folhas de plantas herbáceas indicadoras. Como plantas-testes são usadas mais comumente o Chenopodium quinca, o Chenopodium amaranthicolor e a Gonphrena globosa. No preparo do inóculo é usado um tampão para estabilização do pH, que pode ser nicotina a 2,5% ou tampão fosfato pH de 7 a 8. Como abrasivo pode ser usado celite ou carburundum 400 mesh, os quais têm a finalidade de ferir a superfície da folha da planta-teste para penetração do patógeno.

Este teste tem a vantagem de apresentar resultados rápidos, em torno de 15 a 20 dias. Entretanto, somente pode ser empregado para alguns vírus, normalmente os transmitidos através de solo, como por exemplo, o vírus causador dos entre-nós curtos. Aliás, atualmente na EMBRAPA/CNPNUV, esse tipo de teste tem demonstrado resultados satisfatórios apenas para esse vírus.

Como uma das últimas atividades o estágio, foi realizada uma inoculação mecânia de uma indicadora sobre a mesma indicadora (o que também é comumente realizado para re-testar a presença do vírus na indicadora).

Para tal operação, utilizou-se celite como abrasivo e tampão fosfato de pH 7 a 8, sendo que se procedeu da seguinte forma:

- maceração em um cadiinho de 1 g de folhas da planta a qual deseja verificar a presença do vírus,

- adiciona-se ao macerado aproximadamente 0,5g de celite e 1 ml de tampão Fosfato pH 7 a 8,

- esta mistura é então friccionada com os dedos sobre as folhas mais jovens da planta indicadora. Deve-se obter um resultado em até 15 dias, caso contrário, o teste pode ser realizado novamente. Um resultado positivo consta que as folhas inoculadas devem apresentar sintomas, da virose em questão, ou até a planta toda. Como já comentado, tal teste demonstrou até agora bons resultados apenas para a virose dos entre-nós curtos.

6.7.3. SEROLOGIA

A serologia (ou, sorologia) é uma técnica bastante moderna e eficiente, pois além de apresentar resultados dentro de 24-48 horas, permite testar um grande número de amostras num curto espaço de tempo (KUHN, 1990/d).

A técnica de serologia é somente aplicável para as viroses as quais já tenham isoladas as partículas virais do tecido da planta, e, consequentemente, feita a sua purificação, o que possibilita o preparo do anti-soro, necessário à realização dos testes.

É um teste, portanto, sofisticado, devido a necessidade de equipamentos caros e mão-de-obra especializada para o preparo do anti-soro (soro + anticorpos) assim como para a própria realização dos testes. Neste teste, segundo KUHN(1981/j), deve-se ter muito cuidado, pois se um anti-soro é mal preparado ou se os testes são mal conduzidos, os resultados serão inconsistentes e levarão à conclusões errôneas.

6.7.3.1. COMO E OBTIDO O ANTI-SORO

Preparações purificadas de extratos de plantas contaminadas, são injetadas em cobaias, induzindo no organismo desses animais a formação de anticorpos contra o vírus introduzido. Posteriormente, retira-se sangue da cobaia e separa-se o soro, onde estão os anti-corpos, obtendo-se assim o anti-soro específico para o vírus injetado na cobaia.

Na prática, a reação serológica positiva do teste nas placas, resulta da fixação do anti-corpo à proteína do vírus, formando um precipitado visível a olho nu.

6.7.3.2. VIROSES PARA AS QUAIS É PERMITIDO A REALIZAÇÃO DO TESTES

Das 6(seis) viroses mais importantes da videira no RS, o teste serológico é empregado com assiduidade para o vírus do enrolamento da folha ("leafroll") e para o vírus dos entre-nós curtos ("fanleaf") da videira.

Hoje, um dos testes serológicos mais modernos e mais eficazes que existem para a detecção de vírus é o ELISA(Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Tal técnica baseia-se na utilização de moléculas de anti-corpos (Imunoglobinas - IgG) conjugadas a uma enzima. As partículas do vírus são atraídas e presas por estes anticorpos, que estão aderidas à placa (superfície sólida). A reação visível é obtida pela adição de um substrato que é hidrolizado pela enzima que está associada ao anticorpo, produzindo uma coloração amarelada, que caracteriza a presença do vírus na amostra testada. O resultado pode ser observado a olho nu ou com maior precisão através de um espectrofotômetro (de absorbância ou de transmitância), aferido a 405 nm. Além da rapidez na obtenção dos resultados, é um teste de alta sensibilidade, permitindo detectar o vírus, mesmo que em baixas concentrações, nos tecidos das plantas.

6.7.4. TESTES PARA DETECÇÃO DE VIRUS EM VIDEIRA (*Vitis spp.*), EXECUTADOS NO LABORATORIO DE FITOPATOLOGIA E VIROLOGIA DA EMBRAPA/CNPUV

Aqui, com relação à detecção de viroses, se faz o teste ELISA para a virose do enroamento das folhas e para a virose dos entre-nós curtos. Para tal, são usados "kits" importados (França), denominados de "Planteest Elisa" (SANOFI/Phytodiagnostic), o qual é denominado simplesmente de "kit Sanofi".

Cada kit sanofi é composto de uma maleta, contendo o material e os reagentes necessários a cada teste específico. Basicamente, compõem um kit:

- dois reagentes (2 x 500 testes),
- controle positivo/negativo,
- soluções tampão para conjugado, substrato, lavagem extração,
- placas sólidas.

O procedimento para o teste ELISA, para o vírus dos entre-nós curtos a partir de um kit sanofi, segue basicamente as seguintes etapas:

1o) preparo do anticorpo(freeze-dried antibodies) - diluir o pó em 1 ml de Água destilada,

obs: para conservar por longo período, fazer a diluição na mistura de 0,5 ml de água destilada + 0,5 ml de glicerina e conservar a - 20°C.

2o) Colocar 125 ul da 1o solução em 16,25 ml de tampão de fixação (coating buffers) e distribuir em cada ponto da placa 200 ul com micro-pipeta Gilson, de precisão. Após, cobrir a placa e incubar por 2 a 4 horas a 37°C ou por uma noite a 4°C.

3o) Lavar 3 vezes a placa com solução de lavagem (washing buffer), diluída em 1-20 (1ml) de solução concentrada para 19 ml de Água destilada,

4o) Diluir as amostras positivas (freezer-dried positiv control) e negativa (freezer-dried negativ control) em 1 ml de água,

Obs - Para utilizar na placa, diluir 1/5 de cada amostra no tampão de extração (extraction buffer/Tris-HCl 0,2 M, pH 8,2) -150 ul/0,6 ml de tampão, colocar em cada placa, 250 ul.

5o) Amostras a testar: podem ser advindas de folhas, gemas, ramos e raízes - utilizar 1g de tecido/ 5 ml de tampão de extração (extraction buffer/ Tris-HCl 0,2 M, pH 8,2).

Obs. Ramos: Tirar a casca e raspar o ramo, colocando a raspa macerada por 4 horas a 4°C

6o) Clarificar o suco extraído por centrifugação (por 15 minutos a 1500 rpm) e filtrar

Obs- Centrifuga tipo Sorval RC - 5B/Du pont.

7o) Colocar 200 ul do extrato em cada ponto da placa, com uma repetição, no mínimo.

Obs. Incubar por 2 a 4 horas a 37°C ou por uma noite a 4°C.

Obs. Lavar a placa por três vezes, com solução de lavagem (washing buffer)

8o) Conjugado: é o anticorpo + enzima (freeze-dried-Ap-conjugate) - diluir o pó em 1 ml de água destilada e conservar a 4°C = A

Obs. Para conservar por um longo período, fazer a diluição na mistura de 0,5 ml de água + 0,5 ml de glicerina e conservar a - 20°C

9o) Diluir 125 ul de A em 15,25 ml de tampão conjugado (conjugate buffer)

- adicionar 200 ul/ponto da placa,
- cobrir a placa,
- incubar por 2 horas a 37°C,
- lavar a placa por 3 vezes.

10o) Substrato (substrate pnpp) - Diluir duas pastilhas em 21 ml de tampão substrato (substrate buffer),

- adicionar 200 ul em cada ponto da placa,
- cobrir a placa,
- incubar a 37°C por 30 a 120 minutos.

Obs. a reação pode ser parada com adição de 50 ul/dentro da placa de uma solução de NaOH 1 M (2 g de NaOH/50 ml de água destilada),

110) A leitura é feita observando-se, a princípio, a mudança de cor (tonalidades que variam do amarelo forte/positivo ao amarelo bem claro ou ausência de amarelo/negativo, nos pontos da placa. E, com mais precisão pode-se fazer uma leitura no espectofotômetro regulado em 405 nm, utilizando a cubeta de 1,5 ml. Colocar na cubeta 200 ul da amostra e 800 ul de tampão de extração; homogeneizar a amostra diluída na cubeta, antes da leitura.

Obs. Espectofotômetro modelo: UV/VIS - Lambda 37 Perkin - ELMER.

OBS: Preparo dos tampões (Buffers) Para Usar Nos testes, em Uma Placa:

1) Solução de lavagem concentrado - (washing solution 20 fold conc.)

- Para usar, diluir 1 volume (ml) do buffer em 19 volume (ml) de água destilada.
(11 ml de tampão em 209 ml de água destilada).

2) Tampão de fixação concentrado -(coating buffer 5 fold conc.)

- Para usar diluir 1 volume(ml do buffer em 4 volume (ml) de água destilada.
(6 ml de tampão em 24 ml de água destilada).

3) Tampão conjugado concentrado - conjugate buffer 5 fold conc.)

- Para usar diluir 1 volume (ml) do buffer em 4 volume (ml)de água destilada.
(6 ml de tampão em 24 ml de água destilada)

4) Tampão substrato concentrado - (substrate buffer 5 fold conc.)

- Para usar diluir 1 volume (ml) do buffer em 4 volumes (ml) de água destilada.
(4 ml de tampão em 16 ml de agua destilada).

5) Tampão de extração = concentrado - (extraction buffer 5 fold conc.)

- Para usar diluir 1 volume (ml) do buffer em 9 volume (ml) de água destilada.
(17 ml de tampão em 153 ml de agua destilada).

NaOH (1M): (2 g de NaOH em 50 ml de água destilada).

O procedimento do teste ELISA para o vírus do enrolamento das folhas da videira é o seguinte:

1) Anticorpo (antibody)

- diluir 200 ul do anticorpo em 21 ml do buffer's coating e colocar 200 ul desta solucao em cada ponto da placa;
- incubar por 2 a 4 horas a 37°C ou por uma noite a 4°C;
- lavar tres vezes com solucao de lavagem (washing buffer).

2) Amostras (folhas, neste caso)

- macerar com tampao de extracao, coar em gaze e centrifugar por 15 minutos a 1500 rpm;
- colocar 200 ul da amostra por ponto da placa (com i repeticao, no minimo);
- incubar por 2 a 3 horas a 37°C ou por uma noite a 4°C;
- lavar por tres vezes com tampao de lavagem (washing buffer)

3) Anticorpo (biotinyle's)

- diluir 200 ul do anticorpo em 21 ml de PBS Tween Albumine (pH 7,4);
- colocar 200 ul dessa solucao em cada ponto da placa;
- incubar por 1 a 2 horas a 37°C;
- lavar por tres vezes em solucao de lavagem (washing buffer);

4) Conjugado (Alkaline Phosphatase Conjugado com Streptavidine)

- adicionar 200 ul de conjugado a 21 ml de PBS Tween Albumenine (pH 7,4);
- colocar 200 ul/ponto da placa;
- incubar por 30 minutos a 1 hora, a 37°C;
- Lavar tres vezes em solucao de lavagem (washing buffer);

5) Substrato

- dissolver 2 pastilhas em 21 ml de buffer's substrato;
- colocar 250 ul em cada ponto de placa (com i repeticao, no minimo);
- incubar por 15 minutos a 1 hora em temperatura ambiente;

6) Para parar a reacao: 50 ul de NaOH 1M.

7) Leitura: idem que para o teste da virose dos entre-nos curtos

OBS: Preparo dos Tampoes (Buffers) Para Usar Nos Testes, em uma placa:

- 1) Coating buffer's - 4,2 ml/tampao em 16,8 ml de agua destilada
- 2) Biotinylated antibody/conjugado - tampao PBS-Tween Albumine - 4,2 ml de tampao em 16,8 ml de agua destilada
- 3) Substrato - 8 ml de tampao em 16,8 ml de agua destilada
- 4) Lavagem - 8 ml de tampao de lavagem em 152 ml de agua destilada.
- 5) Extracao - 1 ml de tampao de extracao em 9 ml de agua.

Observação Especial: Formulações Químicas dos Tampões que Compõem o "Kit sanofi"

- PBS (pH 7,4/para 1000 ml) em água:
NaCl 8,0 g
KH PO 0,2 g
Zn 4
Na HPO 1,15g
Zn 4
KCl 0,2 g
NaN 0,2 g
Zn 3
- Cacting Buffer (tampão de fixação)
(pH 9,6/para 1000 ml) em Água :
Na CO 1,57g
Zn 3
NaHCO 2,93 g
Zn 3
NaN 0,2 g
Zn 3
- Washing Buffer (tampão de lava-
gem(pH 7,4/para 1000 ml) em PBS : Polyvinylpyrrolidone
MW 24000 (PUP)...20 g
Tween 20.....0,5ml
- Extraction Buffer (tampão de ex-
tracão para testes com videira-
"tris buffer")
(pH 8,2 ajustável com HCL) : Tris-(hydroxymethyl)- aminomethan
(TRIS).....60,5g
NaCl.....8,0g
Polyvinylpyrrolidone, MW24000(PUP)
.....20g
Polyethyleneglycol, MW 6000(PEG)
.....10g
NaN 0,2g
Zn 3
Tween.....0,5ml
- Conjugate Buffer (tampão
conjugado)
(pH 7,4/para 1000 ml)-PBS: Polyvinylpyrrolidone, MW 24000(PUP)
.....20g
Tween 20.....0,5g
BSA (Loving Serum Albumin)...0,2g
- Substrate Buffer (tampão
susbtato)
(pH 9,8/para 1000 ml)
Em água, com ph ajustável
com HCl:
Diethanolamina.....97ml
NaN 0,2g
Zn 3

A técnica da serologia é utilizada, atualmente no laboratório de Fitopatologia e virologia da EMBRAPA-CNPQV de Bento Gonçalves, RS, somente para análise de contaminação de plantas de videira (*Vitis spp.*) com vírus do enrolamento das folhas e com vírus dos entre-nós curtos, como já citado anteriormente. Para que se realizassem testes serológicos (ELISA, no caso) para as outras viroses que estão presentes nos vinhedos locais, seria necessário que existissem os "Kits" para cada uma delas. Estes não existem para grande parte das viroses por ainda não se terem isolado as partículas virais causadoras de tais patogenicidade, associadas ao tecido das plantas. Esse é o ponto de partida de todo o processo serológico(vide anexo 7).

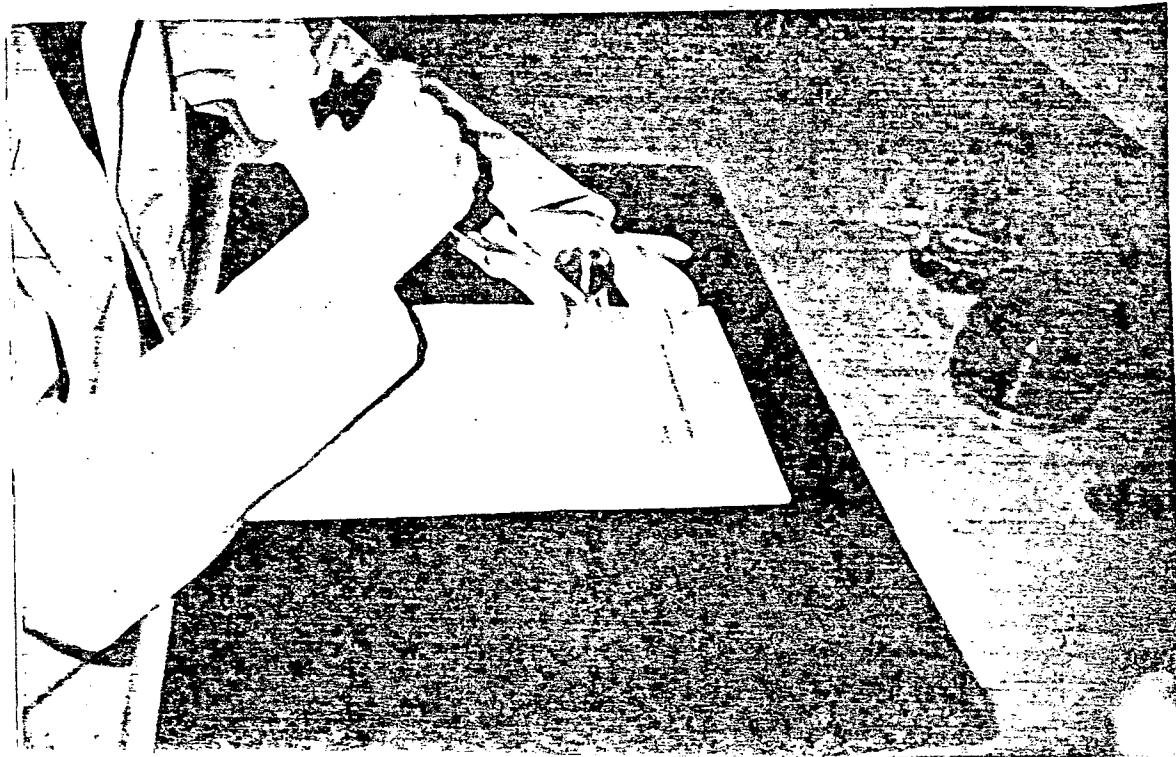


Fig. 13- Detalhe do teste serológico ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

6.7.5. TERMOTERAPIA

O controle das viroses, em geral, é feito através da obtenção de matrizes saudáveis, por seleção massal e clonal e da indexagem.

Entretanto, em um programa de seleção sanitária, pode-se deparar com a dificuldade de não se ter nenhum exemplar de planta saudável de determinada cultivar, não sendo, então, possível o isolamento de material saudável pelos que se tem disponível. Dessa forma, deve-se então ou fazer a importação de clones saudáveis de outros centros vitícola ou então fazer a limpeza do material pela termoterapia.

Segundo DAL CONTE & HASS(1986), as técnicas de cultura "in vitro" estão sendo utilizadas em videira para a multiplicação vegetativa de material selecionado em sua fase inicial, juntamente com a termoterapia para obtenção de material isento de vírus e outros patógenos.

De acordo com KUHN(1990/d), a termoterapia (tratamento pelo calor) é o único meio eficiente de se obterem plantas livres de vírus a partir de outra infectada. É uma técnica bastante simples, embora não se tenha conhecimento exato do fenômeno fisiológico que ocorre na planta durante o tratamento; sendo que a termoterapia pode ser conduzida "in vitro" ou em plantas em vasos.

A termoterapia em si, consiste em submeter plantas infectadas por vírus (em vasos ou "in vitro", com já citado) à temperaturas que variam de 36 a 39°C por várias semanas (em torno de 90 dias), dependendo da resistência da planta ao calor, o que irá provocar a inativação e a diminuição de concentração de vírus nas plantas.

A câmara de tratamento possui, além de temperatura controlada, iluminação artificial para controle de fotoperíodo. As plantas, ao serem colocadas na câmara, sofrem um período de adaptação, com aumento gradual de temperatura, até permanecerem definitivamente na temperatura máxima. A duração do tratamento é variável, mas em função do vírus que se quer eliminar.

GALZY(1964), desenvolveu a técnica da termoterapia "in vitro", que possibilitou a obtenção de plantas livres do vírus dos entre-nós curtos e do enrolamento foliar. Para esta técnica, inicialmente são cultivados brotos herbáceos em condições assépticas e em meio de cultivo apropriado. Após o enraizamento a plântula é submetida a temperaturas que variam entre 35 a 37 °C, durante dois a três meses, podendo o mesmo ser repetido por mais vezes, quando estão são isolados os ápices vegetativos que, após desenvolvidos, são repicados.

Na EMBRAPA-CNPUV, após o tratamento, se procede de seguinte forma: as extremidades dos brotos desenvolvidos, de 1 a 5 cm, são cortadas e cultivadas "in vitro" em câmara de nebulização (que se encontra dentro de uma das casas de vegetação), sobre substrato especial, no caso, a vermiculita, aquecido a temperatura de 25°C. Efetuados os tratamentos necessários, as plantas são posteriormente estabelecidas em vasos, primeiramente em casa de vegetação, após em telado e por fim, a campo.

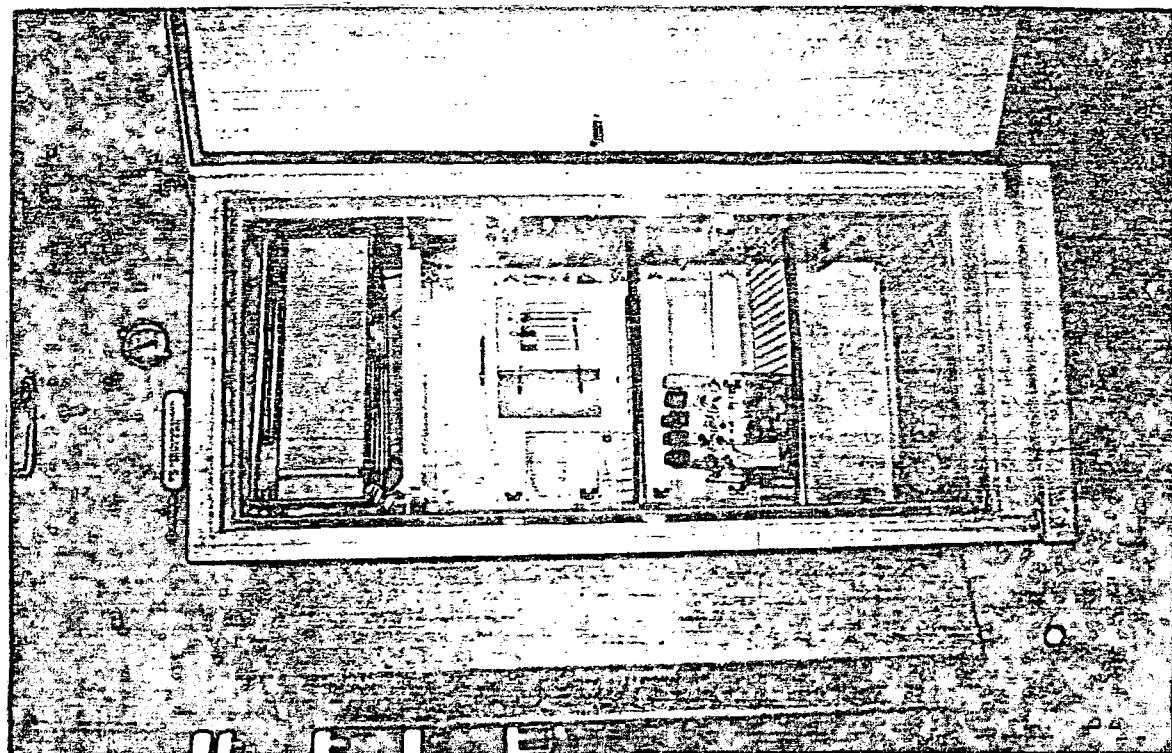


Fig. 14 - Câmara de termoterapia (modelo: Estufa Incubadora Para B.O.B./FANEM)

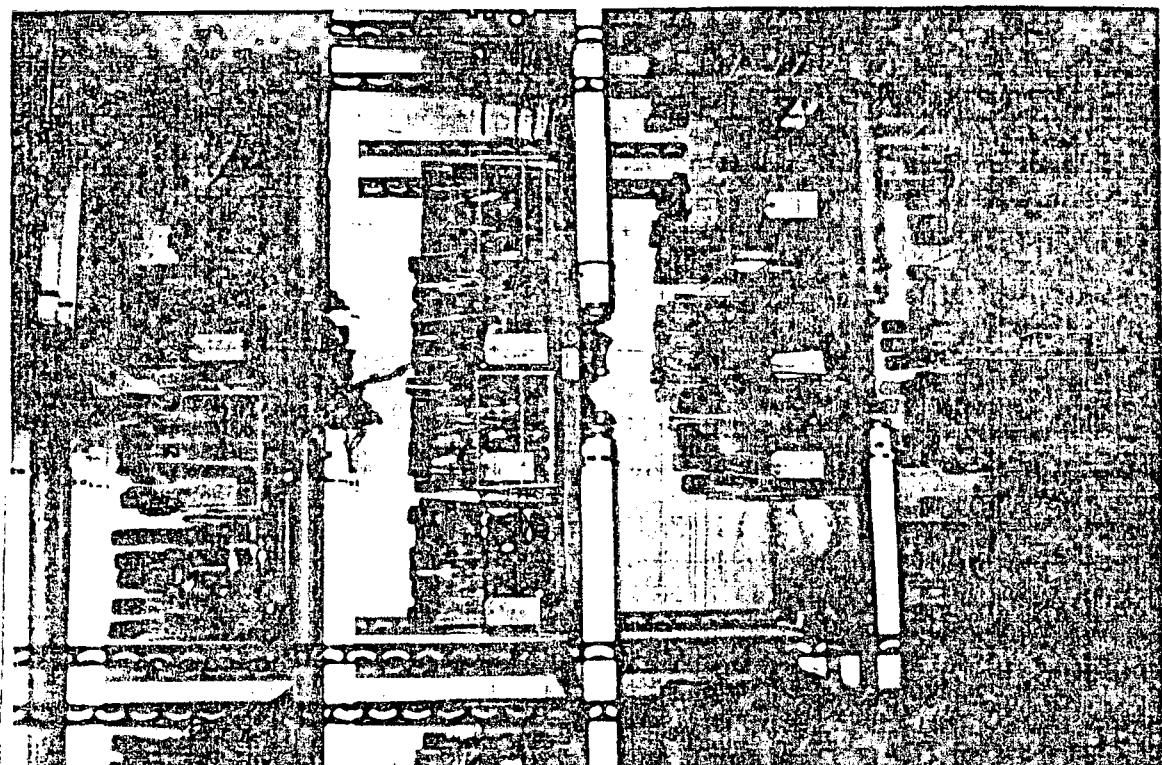


Fig. 15 - Câmara para cultura "in vitro" de plântulas de videira (*Vitis spp.*) onde estas são mantidas à 14 h luz/10 h escuro, 2500 lux e à temperatura de 18 a 25°C.

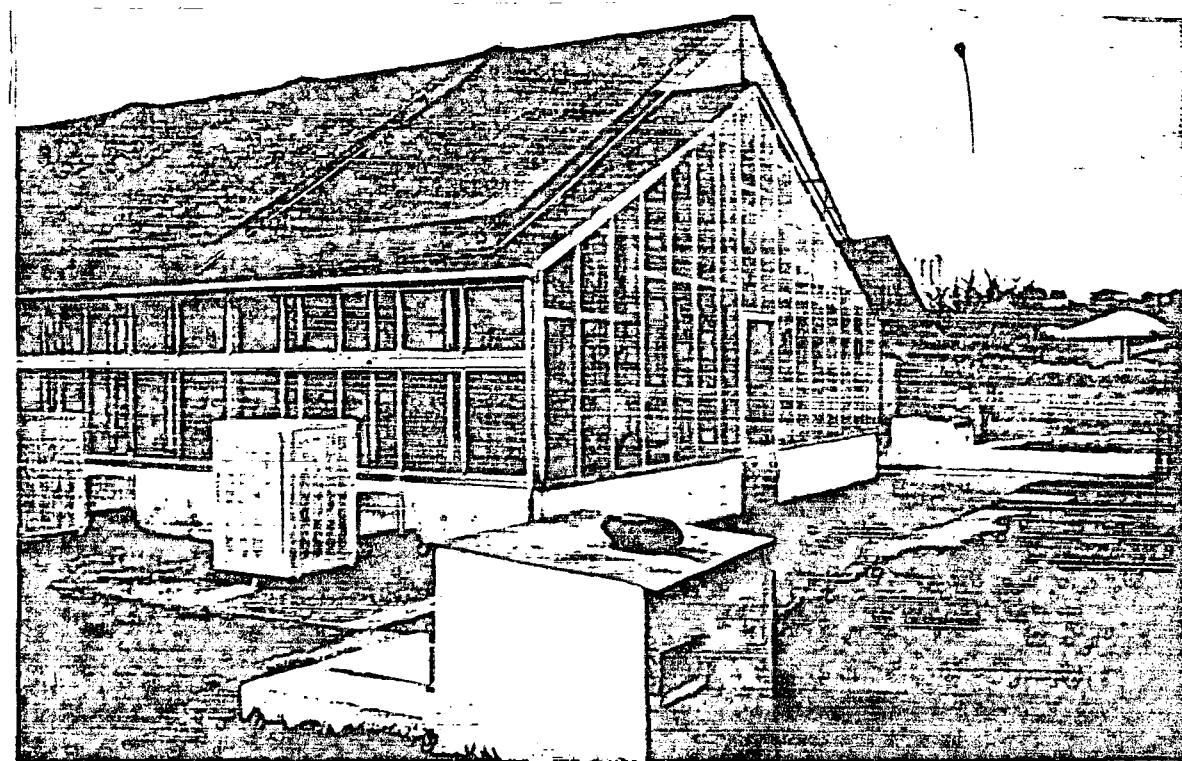


Fig. 16 - Casa de Vegetação/ EMBRAPA- CNPLUV

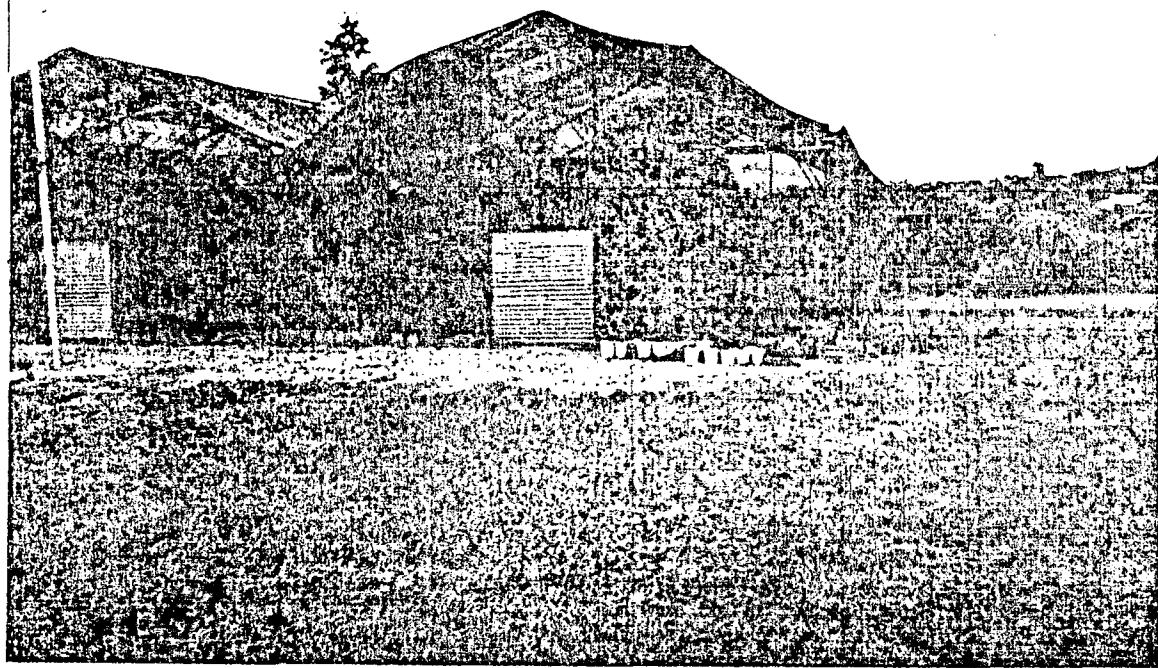


Fig. 17 - Telado/ EMBRAPA - CNPUV

Os clones testados por termoterapia necessitam de testes de indexagem e/ou serológicos, para a confirmação da eficiência do tratamento. A indexagem é realizada através da enxertia de cultivares indicadoras, específicas para cada vírus (a enxertia pode ser enxertia verde, por garfagem, a campo, etc.). São realizadas tantos testes quantos forem os vírus que se pretende testar, sendo necessários, no mínimo, três anos de observações para obter-se a confirmação de que o clone ficou livre de vírus. Quanto aos testes serológicos, vide ponto 6.7.3.

6.8. CONTROLE DE VTORES

De acordo com KUHN(1990/d), muitos dos patógenos da videira, que se propagam pela multiplicação vegetativa, são disseminados também por nematóides e insetos vetores. Entre os nematóides, os de maior importância neste caso, estão dentro do gênero Xiphinema, que transmite os vírus responsável pela degeneração da videira. Entre os vetores aéreos mais relevantes, são conhecidas as cigarrinhas, vetores do micoplasma causador da doença "flavescense dorée" e da bactéria tipo "rickettsia", que causa a doença denominada "mal de Pierce".

Também há indícios de cigarrinhas e pulgões como vetores de viroses, por já terem sido associadas contaminações de plantas de videira com a infestação desses insetos nos respectivos vinhedos.

No que diz respeito ao controle de nematóides, este é possível somente quando se tratar de pequenas áreas, como viveiros, por exemplo; caso contrário é inviável economicamente, devido ao alto custo dos próprios nematicidas, da mão-de-obra, de equipamentos adequados, etc.

Quanto ao controle dos vetores aéreos, este pode ser normalmente feito com inseticidas específicos, quando se constatar a presença de viroses e dos insetos, concomitantemente.

Tab. 12 - Patógenos causadores de doenças na videira, disseminados por nematóides e insetos vetores:

Patógeno	Vetor
Vírus dos entre nós curtos	<u>Xiphinema index</u> (*)
Vírus do mosáico do arabis	<u>Xiphinema italicum</u> (*)
Vírus das manchas em anéis do tomateiro	<u>Xiphinema diversicaudatum</u>
Vírus das manchas em anéis do pessegoiro	<u>Xiphinema coxi</u>
Vírus das manchas em anéis do fumo	<u>Xiphinema americanum</u> (*)
Vírus das manchas em anéis da framboesa	<u>Xiphinema americanum</u>
Flavescence dorée(mycoplasma)	<u>Scaphoideus titanus</u> (*)
Mal de Pierce (bactérias do tipo rickettsia)	<u>Euscelidus variegatus</u> (+) cigarrinhas diversas

FONTE: KUHN (1990/d).

(*) Transmite de videira/videira

(+) Em condições controladas

7. METODO UTILIZADO PARA MULTIPLICAÇÃO DE CLONES COM SANIDADE COMPROVADA NA EMBRAPA - CNPUV

Para que os quadros de matrizes sejam formados, os clones selecionados e indexados na EMBRAPA - CNPUV ou que são importados de outras instituições de pesquisas com sanidade comprovada ou os que já sofreram tratamentos ali mesmo e estão "limpos", são multiplicados, a priori, "in vitro".

De acordo com DAL CONTE & HASS(1986), inicialmente os brotos herbáceos são desinfetados por uma passagem rápida em álcool 75%, seguida de imersão em solução do produto comercial Q-boa (que contém 5,6% hipoclorito de sódio) a 20%, por 8 a 10 minutos. Após, são lavados de 4 a 6 vezes com água esterilizada e, posteriormente, os brotos são então colocados em meio de cultura utilizado por GALZY(1964).

As culturas são mantidas em sala de incubação, com temperatura de 23°C, umidade relativa de 75% e intensidade luminosa de 2500 Lux. Num período de 30 a 40 dias, as estacas enraizam e as gemas brotam e se desenvolvem, permitindo novos subcultivos. Assim, são feitos tantos subcultivos quantos forem necessários para atender o número de plantas que se deseja obter para o campo.

Ao apresentarem de 4 a 6 folhinhas, as plântulas são transplantadas para copos contendo vermiculita como substrato e mantidas por 14 a 21 dias em câmara de nebulização, a temperatura de 24°C. Após, são mantidas em casa de vegetação até que possam ser transferidas para o telado e após para o campo.

No RS, o transplante para o campo é feito somente após a primeira quinzena de novembro, devido as geadas tardias.

Na EMBRAPA-CNPUV, estão em fase de multiplicação, de acordo com DAL CONTE & HASS (1986), os clones das seguintes cultivares de videira;

- Porta-enxertos: R99, R110, 161-49, 420A, P1103, Rupestris du Lot, SA, S04 e Salt Creek;

- Produtoras: Sémillon, Pinot Blanc, Pinot Noir, Bonarda, Cabernet Franc, Cabernet Sauvignon, Gewurztraminer, Seibel 5279, Saint Emillion Gamay, Merlot, Palomino, Barbera, Crenache, Moscatel de Hamburgo, Italia, Cardinal, Niágaras e Concord.

Ainda convém comentar que, atualmente já se dispõe, à nível de campo, de matrizes de clones dos porta-enxertos 5BB e 101-14.

8. DISTRIBUIÇÃO DE MATERIAL SADIO PELA EMBRAPA-CNPUV

Dentro do programa de obtenção de matrizes isentas das principais viroses (material básico, a EMBRAPA-CNPUV dispõe de 18 cultivares de porta-enxertos, 40 cultivares de produtoras viníferas(vinho), 4 produtoras viníferas(mesa), 4 produtoras americanas(vinho/suco/mesa) e 4 produtoras hibridas (vinho) que estão conservadas "in vitro" ou em casa de vegetação (Kuhn, 1992/k).

As cultivares produtoras e de porta-enxerto de maior interesse por parte dos produtores, viveiristas e empresas vinícolas já estão implantadas em campo destinadas ao fornecimento de material vegetativo para formação de matrizes e mudas.

Em 1988, a EMBRAPA-CNPUV iniciou a distribuição de matrizes sadias de porta-enxertos enraizados, destinados à viveiristas, em parte através da Secretaria de Agricultura do Rio Grande do Sul, dentro de um programa de mudas fiscalizadas. Também se iniciou a distribuição do material à Cooperativas, empresas vinícolas e as Prefeituras, destinando à formação de campos de matrizes. Através deste programa, a partir de 1988, se forneceu 12.675 matrizes de porta-enxertos 1103 (Rupestris x Berlandieri), 101-14 (Riparia x Ruprestris) e 420A (Riparia x Berlandieri) e 2.196 matrizes de produtoras americanas (Isabel, Niágaras e Concord) (KUHN, 1992/k).

Embora de elevada importância, a difusão de matrizes certificadas é um processo lento, face a grande demanda de material vegetativo no mercado nacional. Em função destes fatos, e pela prioridade que é dada a difusão de material de boa qualidade, a EMBRAPA lançou um "projeto de produção de material vegetativo de videira livre de vírus".

Dentro do projeto, se encontram implantadas no campo, aproximadamente, 6.100 matrizes de 8 porta-enxertos, todas multiplicadas "in vitro" e controladas por clones. Destes, priorizaram-se três como de interesse mais imediato para multiplicação, sendo o Paulsen 1103, 101-14 e 420A selecionados. Inicialmente, então, a disponibilidade de material vegetativo é bem maior destes três porta-enxertos. Porém, futuramente, a medida que houver o interesse por outros, poderão estes outros serem multiplicados por processos biotecnológicos.

Ainda dentro deste projeto, a partir de 1989, vem sendo implantados quadros de matrizes produtoras, dispondo-se hoje no campo de 13 cultivares viníferas para vinho, num total de 2.270 matrizes e de 4 cultivares de uvas americanas para mesa e vinho comum e suco, num total de 2.600 matrizes.

A proposta básica deste projeto, de acordo com KUHN (1992/k) é justamente, aliado ao programa de distribuição de matrizes, colocar à disposição dos produtores e viveiristas, grande quantidade de material de propagação, seleção e limpeza clonal, destinado à formação de matrizes registradas junto a entidades certificadoras. Essa entidade teria a incumbência de fazer o controle das matrizes registradas junto aos viveiristas, de modo a garantir a origem das mudas destinadas à comercialização.

9. DIFERENÇAS ENTRE VIROSES E SINTOMAS DE DEFICIÊNCIAS MINERAIS EM VIDEIRAS (*Vitis* ssp.)

Para que se possa manejar corretamente um pomar, deve-se saber identificar os mais variados distúrbios que possam ocorrer.

Os sintomas da virose do enrolamento da folha da videira, por exemplo, podem ser confundidos com aqueles de deficiência de Potássio e Magnésio (GARTEL, 1963 citado por FRAGUAS & KUHN, 1989), enquanto distúrbios causados pela deficiência de Boro na videira são de difícil distinção daqueles causados pelo vírus do intumescimento dos ramos (GARTEL, 1974; CONTE, 1962 e BOVEY et al., 1980 citados por FRAGUAS & KUHN, 1989).

Outras viroses também são possíveis de serem confundidas com certas deficiências minerais. REFATTI (1975) citado por FRAGUAS & KUHN (1989), menciona que os sintomas causados pelos vírus dos entre-nós curtos e do mosaico amarelo da videira podem ser confundidos com reações da planta induzidas por deficiência em Mg, N, Mn, Fe, Zn e B.

Desta forma, podem ser feitas confusões em relação às plantas que apresentarem determinado aspecto, aos olhos do produtor e/ou do viveirista, o que pode acarretar em adubações desnecessárias a plantas virosadas, assim como eliminação de plantas que não estão doentes e sim apenas deficientes em algum (ns) nutriente(s).

Em trabalho referente ao assunto, executados por FRAGUAS & KUHN (1989), sintomas nítidos de deficiência foram observados para o K, Mg e B, os quais, segundo os referidos estudos, apresentaram as seguintes características de diferenciação entre deficiência mineral e as viroses estudadas:

Potássio: Na Cabernet Franc houve o surgimento de avermelhamento nas margens das folhas, que progrediu por entre as nervuras em direção ao centro daquelas. Na Riesling Renana, o sintoma foi semelhante, porém com amarelecimento das margens. Estas colorações não afetaram a totalidade do tecido foliar, mas deixaram uma faixa verde próxima as nervuras principais. Com o progresso de deficiência, os bordos chegaram a dobrar para baixo. Algumas folhas formaram necrose nos pontos de clorose. O limbo das folhas afetadas tomou um brilho vitreo na face superior. FREGONI (1980) citado por FRAGUAS & KUHN (1989) cita os sintomas de deficiência de potássio, que estão de acordo com os verificados neste trabalho. Na cv. Isabel não houve sintomas nítidos desta deficiência.

Magnésio : A sintomatologia iniciou por pontuações amareladas nos bordos das folhas das cvs. Riesling Renano e vermelhos na Cabernet Franc, que progrediram para dentro do limbo, deixando verde as nervuras primárias e secundárias, bem como uma faixa ao longo delas. No final do ciclo a clorose progrediu por todo o limbo, com excessão das nervuras e da faixa verde ao longo delas. A cultivar Isabel mostrou sintomas semelhantes, embora, devido sua rusticidade, eles tivessem sido evidenciados somente próximo ao final do ciclo vegetativo. Estes sintomas se assemelham aos resultados encontrados por FREGONI (1980), CHRISTENSEN et al., (1978) e NOGUEIRA & FRAGUAS (1984) citados por FRAGUAS & KUHN (1984).

Boro: Na Cabernet Franc os sintomas foram mais característicos: observou-se o encurtamento dos entre-nós, os quais tomaram o aspecto de zigue-zague, acompanhado de uma coloração vermelha, que iniciou através de manchas nas margens das folhas, progredindo por todo o limbo, inclusive nas nervuras . Além disso, os ramos e pecíolos mostraram um engrossamento anormal chegando os primeiros até a apresentar um fendilhamento. Manchas escuras também surgiram no sentido longitudinal dos ramos para Riesling Renano a sintomatologia foi semelhante, porém com o clorose verde-pálida e amarela. Os ramos que mostraram os sintomas mais nítidos, tiveram suas folhas com tamanho menor, quando comparadas com aquelas onde a deficiência não foi tão característica. Nos ramos e pecíolos, os sintomas de engrossamento e fendilhamento não foram tão evidentes. A cv. Isabel apenas mostrou clorose foliar, não apresentando nenhum engrossamento dos ramos e pecíolos. Estes sintomas estão de acordo com os verificados por CHRISTENSEN et al., (1978), FEGONI(1980) e NOGUEIRA & FRAGUA (1984), citados por FRAGUAS & KUHN (1984).

Pode-se concluir, então, o seguinte:

- os sintomas das viroses do enrolamento da folha e do intumescimento dos ramos diferenciam-se dos de deficiência de magnésio, potássio, e boro, principalmente pela época de aparecimento, que é bem mais precoce nas deficientes;
- as cultivares viníferas praticamente não exteriorizam os sintomas da vírose do intumescimento dos ramos, mas evidenciam a deficiência de boro. Já na cultivar Isabel ocorre o oposto.
- as diferenças sintomatológicas entre certas viroses e deficiências minerais são difíceis de serem determinadas visualmente.
- a confirmação da causa dos sintomas pode ser efetuada através de testes virológicos e de análise de tecidos.

10. CONCLUSÃO

A viticultura do Rio Grande do Sul, atualmente é uma atividade consolidada, constituindo-se numa atividade agrícola de pequenas propriedades e com mão-de-obra familiar. Segundo WRIGHT (1992), além do RS tal atividade possui importância nos estados de SC, PR, SP, MG e no Vale do Rio São Francisco (PE e BA), sendo que a produção média de vinhos e mostos nos últimos anos foi de aproximadamente 300 milhões de litros/ano, ou seja, 2 litros "per capita"/ano, evidenciando um potencial de expansão, especialmente quando comparado com o consumo de alguns países da Europa, como França e Alemanha, que chegam a consumir 60 litros "per capita"/ano. Aliado à estimativa de expansão do consumo de vinho, o suco de uva, segundo estimativas, será o derivado com maior aumento relativo de consumo até o ano 2000 (prevê-se um aumento no consumo em 114%).

Com vista nestas perspectivas bastante positivas relacionadas à vitivinicultura, deverá buscar-se, através de um aumento no padrão tecnológico (desde a produção de mudas até a embalagem de seus derivados), alcançar uma maior produtividade com mais qualidade para que assim, haja um estímulo de consumo dos produtos nacionais, já que com a integração do MERCOSUL e a redução das alíquotas de importação de vinhos e derivados provenientes de países como Uruguai e Argentina, haverá um substancial aumento das importações, o que pode vir a acarretar, de certa forma, desestímulo dos produtores.

Para que então as regiões vitícolas do Brasil possam alcançar padrões internacionais de competitividade, qualidade e preço, deverão buscar estabelecer uma consolidada parceria entre os setores: pesquisa, extensão, produtores e indústrias. A pesquisa, aliada à boa tecnologia, pode oferecer ao produtor rápidas e eficientes soluções. Isso pode ser verificado durante o estágio realizado na EMBRAPA/CNPBV, onde o problema das viroses em videiras, poderia ter prejudicado muito mais os produtores da região, não fosse a atuação de pesquisadores que dedicam-se à busca de soluções para tais problemas, de extrema gravidade para a região, que com técnicas cada vez mais avançadas, a medida que os recursos financeiros permitam, encontram meios de resolução. E mais do que isso, indiretamente buscam fixar o homem no campo, neste caso, o vitícola, pois só quem passa pela região e toma algum contato com a economia e com as tradições desta, é que pode ter uma noção da importância da permanência do vitícola no campo.

Também a partir do estágio realizado na EMBRAPA/CNPBV, foi possível, dentro dos parâmetros propostos, verificar mais uma vez o que sempre nos foi enfatizado enquanto alunos, ou seja, a importância da sanidade das mudas como o primeiro passo para quem pretende obter êxito em fruticultura. Isso é claramente perceptível a medida que se adentra um pouco mais a fundo o problema das viroses em videira (*Vitis spp.*), o principal objeto deste relatório, pois estas já destruíram muitos vinhedos através de um declínio gradual, mas progressivo na região vitícola do Rio Grande do Sul (e sabe-se que o mesmo ocorreu e ainda ocorre em outros estados brasileiros).

Assim, de uma forma geral, pode-se concluir que um estágio como esse que nos é cobrado no décimo e último semestre do curso de Agronomia, é fundamental para que se possa entrar em contato, mesmo que por um breve espaço de tempo, com problemas e soluções possíveis, relacionado às mais diversas áreas da agricultura; neste caso, numa área específica, que nos é permitido optar.

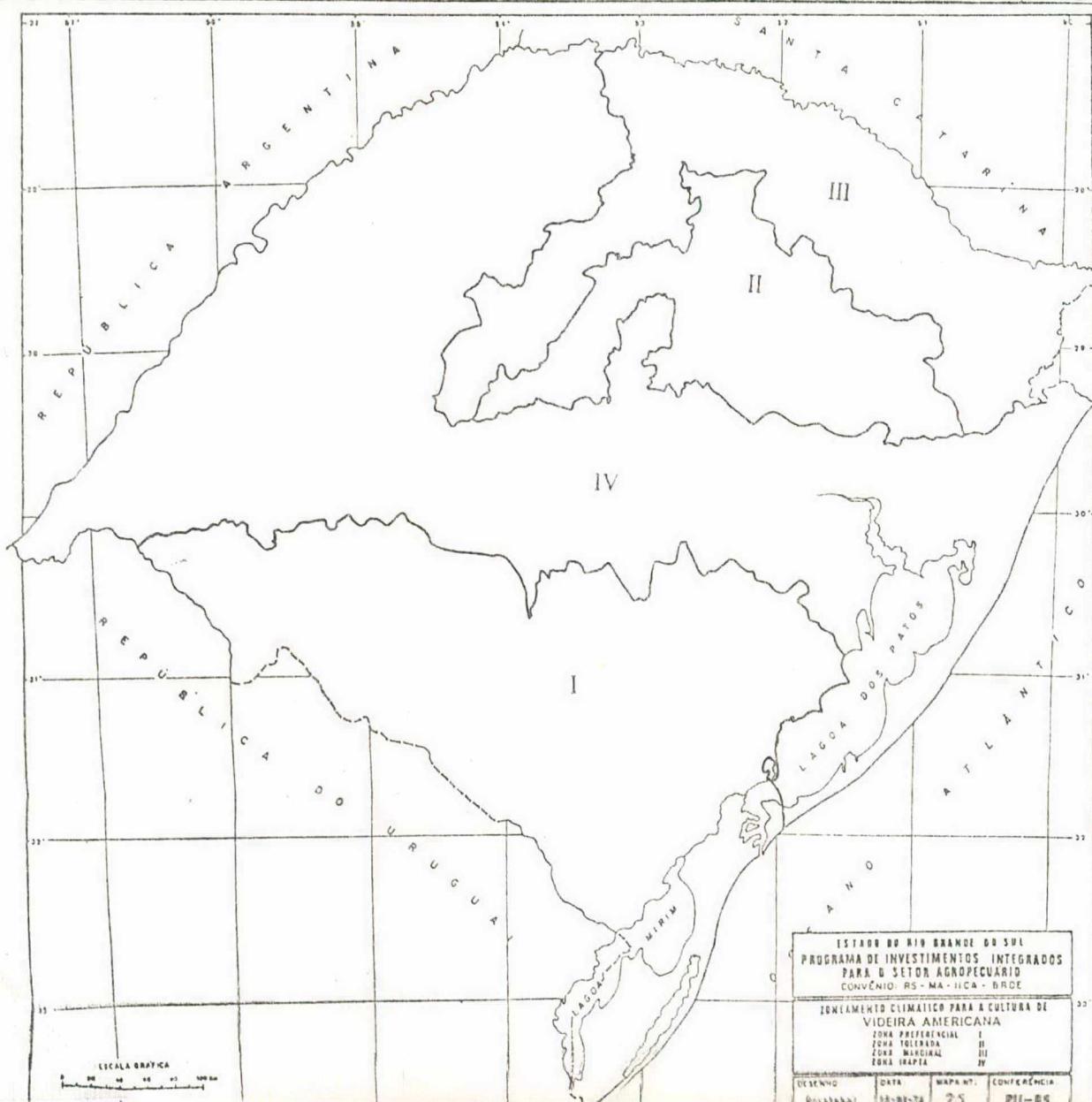
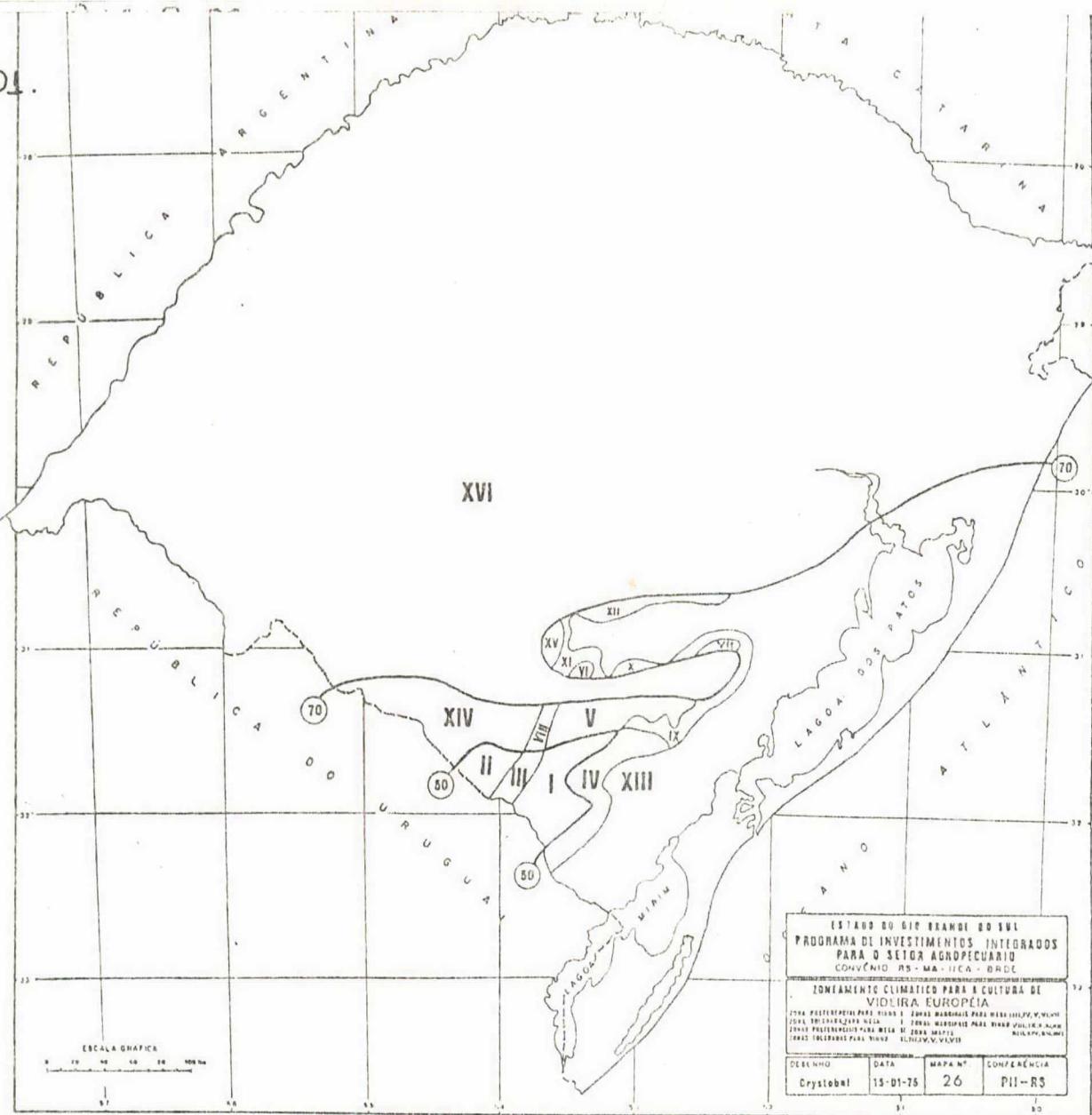
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 01- A Uva Sobe a Serra. Rev. Apoio-Micro e Pequenas Empresas, n.5, set/out, 1992, Ano I. 23-28p.
- 02- Censo Agrário/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE, Rio de Janeiro : IBGE, 1983-1984.
- 03- COSTA, A.S. et al. Compilação de Trabalhos Distribuídos em Aulas de Virologia, no Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", vol.1, Piracicaba, 1971, p.1-197.
- 04- COSTA, A.S. et al. Compilação de Trabalhos Distribuídos em Aulas de Virologia, no Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", vol.2, Piracicaba, 1971, p.198-366.
- 05- DAL CONTE, A.F. & HASS, J.C. Obtenção de Plantas de Videiras Livres de Vírus Pela Termoterapia e Multiplicação de Matrizes Com Sanidade Comprovada. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPBV, Pesquisa em Andamento nº 14, 1986, 4p.
- 06- DALMASSO, G. Viticoltura Moderna-Manuale Prático, 5a ed.rev. il, Milano: Editore Verico Hoepli, 1986, 662p.
- 07- DE ROBERTIS, E.D.P. & ROBERTIS, Jr., E.M.F. Bases da Biologia Celular Molecular, 2oed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 307p.
- 08- EINSTED, J. & PRATT, C. Grapes In: Advanced Fruit Breeding. West Lafayette, Indiana, Jules Janick and James N. Moore, 1975, 623p.
- 09- FRAGUAS, J.C. & KUHN, G.B. Diferenças Entre Sintomas de Deficiências Minerais e de Vírose da Videira. Bento Gonçalves, RS : EMBRAPA-CNPBV, Bol. Tec. 3, 1989, 15p.
- 10- FREIRE, L.M. et al. Transformações na estrutura produtiva dos Viticultores da Serra Gaúcha-1985/1991. Bento Gonçalves, RS : EMBRAPA-CNPBV. Doc. 3, 1992, 44p.
- 11- GALZY, R. Téchinique de Thermothérapie de Viroses de la Vigne. Ann. Epiphyties, 15(3):245-56, 1964.
- 12- BRIGOLETI, Jr., A. Fusariose da Videira: Resistência de Cultivares, Sintomas e Controle. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPBV, Circular Técnica, 18, 1993, 20p.
- 13- BRIGOLETI, Jr., A. & SONEGO, O.R. Principais Doenças Fúngicas da Videira No Brasil. Bento Gonçalves, RS : EMBRAPA-CNPBV, Circular Técnica, 17, 1993, 36p.
- 14- KUHN, G.B. Produção de Matrizes Produtoras e de Porta-Enxerto de Videira Livre de Vírus. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPBV, Pesquisa em Andamento, 12, 1984/a.4p.
- 15- KUHN, G.B. et al. O Cultivo da Videira. 2oed.rev. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPBV, Circular Técnica, 10, 1986/b, 42p.

- 16- KUHN, G.B. Identificação, incidência e Controle do Virus do Enrolamento da Folha da Videira no Estado do Grande do Sul, Fitopatol.bras.(14): 1989/c, p.220-226.
- 17- KUHN, G.B. Sanidade do material Vegetativo Utilizado para Multiplicação da Videira, In Anais: Simpósio Latino Americano de Viticultura e Enologia, 3/Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 6/Jornada Latino-Americana de Viticultura e Enologia, 4. Bento Gonçalves/Garibaldi,RS: EMBRAPA-CNPUV-ABTEV-OIV, 1991/d, p.83-98.
- 18- KUHN, G.B. Efeitos Causados Pelo Virus do Enrolamento da Folha da Videira na Cultivar Cabernet Franc. Fitopatol.bras. (17), 1992/e, p.280-283.
- 19- KUHN, G.B. Principais virus e doenças consideradas de origem viral que ocorre nos vinhedos do Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV, 1992/f, p.28.
- 20- KUHN, G.B. Manchas das nervuras das folhas da videira (Vitis spp.), doença constatada no Rio Grande do Sul. Fitopatol. bras. (17), 1992/g, p.435-440.
- 21- KUHN, G.B. Intumescimento dos ramos da videira("corky bark"), doença constatada no Rio Grande do Sul. Fitopatol. bras. (17), 1992/h.p., 399-406.
- 22- KUHN, G.B. Necrose das nervuras, doença que ocorre de forma latente na maioria das cultivares da videira no Rio Grande do Sul. Trabalho Apresentado no XXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia; Gramado, RS, 10-15/agosto de 1992/i, 14p.
- 23- KUHN, G.B. Estágio Atual da Obtenção e Distribuição de Matriizes e Material Vegetativo de Videira Livre de Virus, Hortisul, v.2, n.3, 1992/k, p.21-27.
- 24- KUHN, G.B. Seleção Sanitária da Videira. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-GEPAE, Circular Técnica, 7, 1981/j, 14p.
- 25- MARTELLI, G. & PROTA, V. Virosi della vite. Ital.Agric., v. 122. n.2, 1985, p.201-208.
- 26- OLIVEIRA, P.R.D. & CAMARGO, U.A. Recuperação de Embriões Origundos de Cruzamentos Entre Cultivares Apirenicas. In: VII Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 1993, Resumos, p.24.
27. Orientações para o controle de doenças e pragas da videira. Bento Gonçalves, RS, : EMBRAPA-CNPUV, Documento, 5, 1984, 49p.
- 28- PASSOS, I.R. da S. et al. Obtenção de Hibridos entre Cultivares Apirenas de Videira, Utilizando a Técnica de Resgate de Embriões, Rev. bras. Frutic.v.14.n.2,1992, p.215-220.
- 29- PARIS, A. et al. Bento Gonçalves e Origem e História = 98 anos de emancipação política. Bento Gonçalves, RS: Arquivo Público e Municipal. 23p.

- 30- REIS, B.G. et al. IBGE/Instituto nacional de Colonização e Reforma Agrária. Coordenadoria Regional do Rio Grande do Sul. Aspectos Gerais do Clima do Rio Grande do Sul, v.1, 1972, 186p.
- 31- Relatório Técnico Anual de Unidade de Execução de Pesquisa de Ambito Estadual de Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV-UEPAE de Bento Gonçalves. 1976, 150p.
- 32- Rio Grande do Sul. programa de Investimento Integrado Para o Setor Agropecuário, Zoneamento Agrícola, Porto Alegre, RS: Palotti, 1975, 303p.
- 33- Rio Grande do Sul/Secretaria da Agricultura. Departamento de Recursos Naturais Renováveis. Frutíferas Nativas. Porto Alegre, RS: DDIR/Diretoria Geral, 1982, 29p.
- 34- SANTOS NETO, J.R. DE A. Apirenia na videira. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV, Folheto, 0030, 1984, 14p.
- 35- SHUCK, E. et al. Seleção e Controle Sanitário de Videira em Santa Catarina Para Viroses e Anomalias Similares. Flórida - nápolis, SC: EMPASC, Bol. Tec., 42, 1988, 24p.
- 36- SORIA, S. de J. & GALLOTTI, B. J. O margarodes da videira (Eurhizococcus brasiliensis - Homoptera: Marggarodidae), biologia, ecologia e controle no Sul do Brasil. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA/CNPUV, Circular Técnica, 13, 1986, 22p.
- 37- SOUZA, J.S.I. Uvas Para o Brasil. São Paulo: Melhoramento, 1969, 454p.
- 38- Trabalhos de Desenvolvimento do Laboratório de Cultura de re- cidos de EMBRAPA-CNPUV de Bento Gonçalves, RS. VI Reunião Estadual de Biotecnologia Vegetal, 1993.
- 39- ZANUZ, M.C. et al. Efeito da Virose do Enrolamento da Folha da Videira na Composição Química do Vinho Cabernet Franc. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV, Pesquisa em Andamento, 11, 1993, 2p.
- 40- WEINBERGER, J.H. Some temperatures relation in natural break- ing of the rest of peach flower buds in the San Joaquim Valley, Califórnia. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.(91), 1967, p.9-84.
- 41- WINKLER, A.J. Viticultura. México: Compañía Editorial Conti- nental, S.A., 1965, 792p.
- 42- WRIGHT, J.T.C. Análise perspectiva da vitivinicultura brasi- leira: questões críticas, cenários para o ano 2000 e obje- tivos setoriais. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV, Docu- mentos, 6, 1992, 52p.

12. ANEXOS



Anexo 02.

Meio de Cultura para Videira (Galzy, 1964)

Volume da solução estoque para 1 l de meio

I. MACRO ELEMENTOS DE KNOP

1. Soluções estoque de Knop (p/100 l)

A. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50,0 g/l	10 ml
B. KNO_3	12,5 g/l	10 ml
C. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12,5 g/l	10 ml
D. KH_2PO_4	12,5 g/l	10 ml
E. NH_4NO_3	32,0 g/l	10 ml

II. OLIGO ELEMENTOS DE BERTHELOT

Solução modificada: contém Mo; sem H_2SO_4 ; com $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, em solução separada

2. Soluções estoque Berthelot (p/200 l)

Solução A:

$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	122 mg/l
IK	50 mg/l
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5 mg/l
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5 mg/l
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10 mg/l
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 mg/l
$\text{BeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10 mg/l
H_3BO_3	5 mg/l
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5 mg/l

3. Solução B:

$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	4,4 mg/l
--	----------

III. VITAMINAS

Solução estoque p/100 l

1 ml

Tiamina hipoclorida	100 mg/100 ml
Pentanoato de Cálcio	100 mg/100 ml
Piridoxal hidroclorido	100 mg/100 ml
Ácido nicotínico	100 mg/100 ml
Inositol	1000 mg/100 ml
Biotina*	1 mg/100 ml

IV. AGAR

8 g

V. SACAROSE

20 g

Observações: - preparo do meio na ordem crescente dos itens e esterilização do mesmo a 110°C durante 40 min.
 - conservação das soluções a $\pm 5^\circ\text{C}$
 - as soluções de vitaminas, esterilização por filtração (Milipore 0,45 μm)

* Preparar uma solução estoque (10 mg/100 ml) e utilizar 10 ml desta solução para solução final.

CNSPUV

AVALIAÇÃO DO GÊNERO PLASMA DE UVA

SAFRA 1993/94

Cultivar	Peso da uva	Nº de cachos	Nº de ceras da inflorescência	Cor da uva	Peso da uva kg/pés	Nº de pés	Observações	Acidez	
								Total	medio
Ita ita ita	100	100	100	verde	100	100	100	pH	grande

ONDE 04.

. CABERNET SAUVIGNON P. enx. 101-14 Col. V F. 7 P. 387.391

o Vegetativo					
da	23.08.89	16.08.90	20.08.91	26.08.92	
tação	Ínicio	18.09.89	23.09.90	19.09.91	20.09.92
	Término	31.10.89	23.10.90	21.10.91	19.10.92
ração	Ínicio	09.11.89	03.11.90	27.10.91	04.11.92
	Término	26.11.89	15.11.90	16.11.91	28.11.92
turação	Ínicio	17.01.90	07.01.91	05.01.92	14.01.93
	Término	01.03.90	21.02.91	18.02.92	16.02.93
eda das has	Ínicio	02.05.90	08.05.91	14.05.92	29.05.93
	Término	29.05.90	17.06.91	08.06.92	02.07.93
od. Média kg/planta	22,6 Kg	12,8 Kg	12,8 Kg	14,8 Kg	
úcares Redutores g/l °Brix	18,4	22,2	18,0	17,8	
dez Total g. ác. Tart/l meq/l	114	120	114	148	
Obs. I 1893	pH: 3,48	2,99	3,29	3,08	

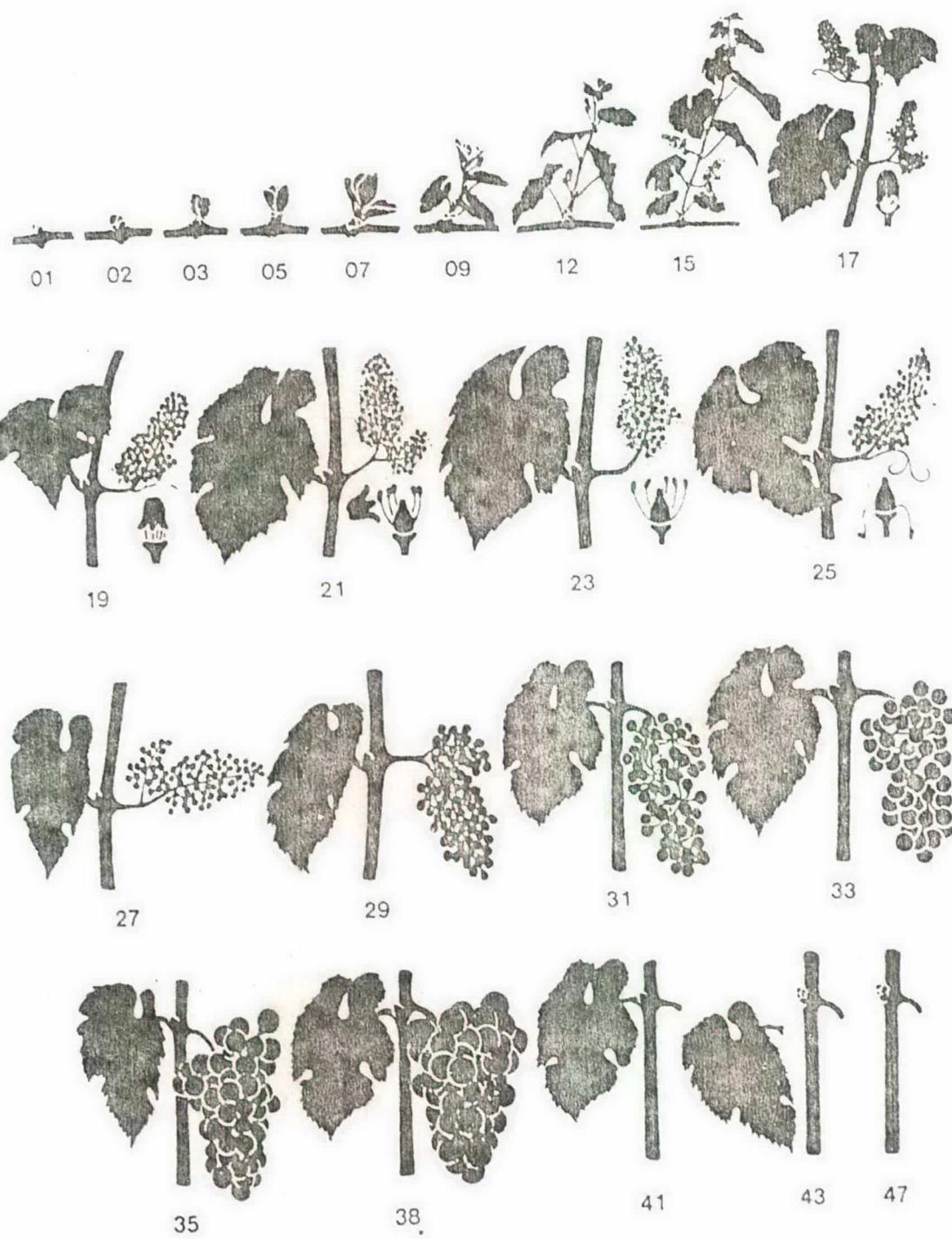
. CABERNET SAUVIGNON P. enx. 101-14 Col. V F. 7 P. 387.391

o Vegetativo					
da	27/08/84	16/09/85	20/08/86	14.08.87	17.08.88
tação	Ínicio	25/09/84	12/09/85	14/09/86	16.09.87
	Término		03/10/85	20/10/86	13.10.87
ração	Ínicio	03/11/84	24/10/85	26/10/86	03.11.87
	Término	18/11/84	04/11/85	19/11/86	20.11.87
turação	Ínicio	03/01/85	30/11/85	09/01/87	09.01.88
	Término	26/02/85	28/02/86	18/02/87	04.03.88
eda das has	Ínicio	08/05/85	03/06/86	16.05.87	14.05.88
	Término	03/06/85	16/06/86	17.06.87	16.06.88
od. Média kg/planta	91	5,0 Kg	3,8 Kg	5,213	11,3 Kg
úcares Redutores g/l °Brix	21,3	22,8	18,2	22,1	19,0
dez Total g. ác. Tart/l meq/l	(89,00)	76,0	116	120	124
Obs. (I. 1893)	pH: 3,35	pH: 3,29		3,23	

ESTÁDIOS FENOLÓGICOS DA VIDEIRA DE ACORDO COM EICHHORN E LORENZ

Gemas dormentes
Inchamento de gemas
Algodão
Ponta verde
1^o folha separada
2 ou 3 folhas separadas
5 ou 6 folhas separadas; inflorescência visível
- Alongamento da inflorescência; flores agrupadas
- Inflorescência desenvolvida; flores separadas
- Início de florescimento; 1^{as} flores abertas
- 25% das flores abertas

23 - 50% das flores abertas (pleno florescimento)
25 - 80% das flores abertas
27 - Frutificação (limpeza de cacho)
29 - Grãos tamanho "chumbinho"
31 - Grãos tamanho "ervilha"
33 - Início da compactação do cacho
35 - Início da maturação
38 - Maturação plena
41 - Maturação dos sarmentos
43 - Início da queda de folhas
47 - Final da queda de folhas



Antracose - épocas, produtos e doses para o controle e aspectos toxicológicos

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLÓGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	DOSE l.a. g/100 l	EFICIÊNCIA			DADOS TOXICOLÓGICOS			PERSISTÊNCIA SOLO AMBIENTE	CARÊNCIA OFICIAL
					VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATU- RAIS	PEIXES	ABELHAS		
ANTRACNOSE/ Esinoe ampellina	Iniciar no estádio 05	Dilianon*	Antracnona	112,5	P/C 9	7	A	?	A	NT	C	21
		Ziran	Ditiocarbamato	200	P/C 6	5	B	?	A	?	?	15
		Folpet	Ftalimida	125	C 7	7	A	?	A	NT	C	1
		Captan	Ftalimida	125	C 6	7	A	?	A	NT	C	1
		Clorotalonil	Nitrilas	200	P/C 7	7	M	?	A	B	C	7
		Tiotolanato metílico (S)	Benzimidazol	50	P/C 7	?	M	?	A	NT	C	14
		Benomil (S)*	Benzimidazol	50	P/C 7	?	M	?	A	?	M	14

Observações: a fase crítica é o inicio da brotação onde o controle é indipensável. A severidade da doença depende, principalmente, das condições locais de alta umidade e exposição a ventos. O tratamento de inverno com calda sulfocálica e a retirada das rochas do solo (térreno) poderia induzir

Mildio - episódios, produtos e doses para o controle e aspectos toxicológicos e aspectos toxicológicos e aspectos toxicológicos

do mildio, fungicidas, efeitos e doses para o controle

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLOGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	DOSE l.a. g/100 l	EFICIÊNCIA		DADOS TOXICOLÓGICOS			PERSISTÊNCIA SOLO AMBIENTE	CARENÇIA OFICIAL	
					VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATU- RAIS	PEIXES	ABELHAS		
MILDIO/ Plasmopara vitícola	Iniciar no estádio 0º	Cymoxanil +	Acetamida +	20	C8	7	A	?	?	?	C	7
		Manèb	Ditiocarbamato	160	C8	7-10	?	?	?	?	?	?
		Cobre metálico	Sulfato de cobre	250	C8	7	?	?	?	?	?	7
			Outros cípricos	100 - 150	P/C 8	7	A	?	A	NT	C	21
			Antracona	112,5	C7	7	A	?	A	NT	C	1
		Folpet	Ftalimida	120	P/C 7	7	A	?	A	NT	C	21
			Ditiocarbamato	240								
		Mancozeb	Ditiocarbamato	30	C7	7	?	?	?	?	?	
		Maneb	Ditiocarbamato	+								
		Zineb	Ditiocarbamato	30								
			Cúprico	+								
		Oxicloreto		90								
		Metalaxil (S)	Acilanina	24	P/C 9	7-10	A	?	?	?	?	
		+	Ditiocarbamato	192								
		Mancozeb										

Observações: a fase crítica está

s europeias

Podridão cinzenta - épocas, produtos e doses para o controle e aspectos toxicológicos
 Outras doenças - épocas, produtos e doses de controle e aspectos toxicológicos

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLÓGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	EFICIÊNCIA			DADOS TOXICOLÓGICOS			CARENÇIA OFICIAL
				DOSE L.d. g/100 l	VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATU- RAIS	PEIXES	
PODRIDÃO CINZENTA <i>Botrytis cinerea</i>	Iniciar no estádio 25	Iprodiona Vinclozolina Tiofanato metílico (S)	Hidantoínas Oxazolidine Benzimidazol	75 75 50	P 8 P 8 C 7	?	?	?	?	M C NT

25, 23 e 25 a eventualmente 3 ou 4 semanas antes da colheita. As cultivares europeias, principalmente
 os específicos

Outras podridões - épocas, produtos e doses para o controle e aspectos toxicológicos

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLÓGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	DOSE I.A. g/100 l	EFICIÊNCIA			DADOS TOXICOLÓGICOS			CARÊNCIA OFICIAL
					VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATU- RAIS	PEIXES	ABELHAS	
PORIDÃO UVA MADURA/ <i>Melanconium</i> <i>fulligenum</i> e PORIDÃO AMARGA/ <i>Glomerella</i> <i>ciliquata</i>	Iniciar no estádio 25	Captan Folpet Mancozeb Ditranon	Fitalimida Fitalimida Ditiocarbamato Antracrona	125 125 240 112,5	P/C 8 P/C 8 P/C 8 P/C 8	7 7 7 7	A A A A	?	A A A A	NT NT NT NT	C C C C
											1 1 21 21

Oidio - époças, produtos e doses para o controle: aspectos toxicológicos

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLÓGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	DOSE l.a. g/100 l	EFICIÊNCIA		DADOS TOXICOLÓGICOS			PERSISTÊNCIA SOLO AMBIENTE	CARÊNCIA OFICIAL	
					VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATU- RAIS	PEIXES	ABELHAS		
Oídio <i>Uncinula necator</i>	Iniciar no estádio 05	Enxofre Fenârimol (S) Triadimeton (S)	Sulfurado Pirimidina Triazol	240-320 2,4 12,5-25,0	C 8 C 8 C 8	7 ? 7	B B A	?	?	NT NT NT	?	7 15 30

Observações: realizar tratamentos específicos nos estádios 09, 19 e 29. Na realização dos tratamentos, considerar a incidência do ano anterior. Geralmente, as europeias são mais sensíveis que as americanas e híbridas. A aplicação contínua (por mais de 3 vezes) do mesmo produto sistêmico poderá induzir o aparecimento da resistência.

Ondio - Épocas, produtos e doses para o controle e aspectos toxicológicos

DOENÇA/ PATÓGENO	ESTÁDIO FENOLOGICO	PRODUTO (NOME TÉCNICO)	GRUPO QUÍMICO	DOSE I.A. g/100 l	EFICIÊNCIA	DADOS TOXICOLÓGICOS			PERSISTÊNCIA SOLO AMBIENTE	CARÊNCIA OFICIAL		
						VALOR	TEMPO	HOMEM E OUTROS MAMÍFEROS	INIMIGOS NATURAIS			
Ondio uncinata necator	Iniciar no estádio 05	Enxotre Fenarimol (S) Triadimenon (S)	Sulfurado Pirimidina Triazol	240-320 2,4 12,5-25,0	C 8 C 8 C 8	7 ? 7	B B A	?	?	NT NT NT	?	7 15 30

Observações: realizar tratamentos específicos nos estádios 09, 19 e 29. Na realização dos tratamentos, considerar a incidência do ano anterior. Geralmente, as européias são mais sensíveis que as americanas e híbridas. A aplicação contínua (por mais de 3 vezes) do mesmo produto sistêmico poderá

in-DAS-ELISA

(Anexo 07)

DATA: 08/03/94.

vírus do Enrolamento da folha)

Máquina: Espectrofotômetro → regulada para
o comprimento de onda de 450 nm (tubete com extrato foliar + H₂O)

T	T	T	T	T	T	T	○	○	○	○	○
T	1	4	7	10	13	T	○	○	○	○	○
T	1	4	7	10	13	T	○	○	○	○	○
T	2	5	8	11	14	T	○	○	○	○	○
T	2	5	8	11	14	T	○	○	○	○	○
T	3	6	9	12	15	T	○	○	○	○	○
T	3	6	9	12	15	T	○	○	○	○	○
T	T	T	T	T	T	T	○	○	○	○	○

AMOSTRA	LEITURA	Nº	AMOSTRA	LEITURA
cob. Frunc - D - F8 - P4	0,154	16		
cob. Frunc - D - F8 - P8	0,145	17		
cob. Frunc - D - F4 - P7	0,147	18		
cob. Frunc - S - F9 - P3	0,098	19		
cob. Frunc - D - F2 - P2	0,215	20		
cob. Frunc - D - F6 - P9	0,137	21		
cob. Frunc - D - F1 - P7	0,164	22		
cob. Frunc - S - F4 - P6	0,104	23		
cob. Frunc - D - F2 - P1	0,159	24		
cob. Frunc - D - F5 - P4	0,129	25		
cob. Frunc - D - F10 - P9	0,169	26		
cob. Frunc - S - F6 - P5	0,098	27		
cob. Frunc - D - F7 - P7	0,145	28		
NEGATIVO PÁDRÃO	0,087	29		
POSITIVO PÁDRÃO	0,206	30		

Centro
Sadio
filos
planta

Análise

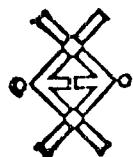
1. Anticorpo (anti body) - 13:45h - 16:45h.
2. Amostra - 17:30h - 8:30 (dia seguinte)
3. Anti body biotinylis - 8:50h - 10:50h
4. Conjugado - 11:30h - 12:30h
5. Substrato - 12:50h - 13:40h
6. Análise no Espectrofotômetro

Anexo 08

DATA INOC.	PLANTA TESTE	ORIGEM INOCULO	SINTOMAS DA TRATAMENTO		RESULTADOS
			PLANTA ORIGEM E METODO DE INOCULO	DE INOC	
29/03	MURALI	CABERNET/URU- GUAÍ-quinha	Mosáico, etc.	TAMPA FOLHA TO + CELITE	Mosáico, mosquicida, etc.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PRÓ-REITORIA DE ENSINO — PRE
COORDENADORIA GERAL DE ESTÁGIOS — CGEST



AVALIAÇÃO DO ESTAGIÁRIO
(Para uso do supervisor)

IDENTIFICAÇÃO

Nome do aluno: JULIANA CRISTINA VIECELLI

Nº. de matrícula: 8928620-0 fase: 10º

Curso: AGRONOMIA

Coordenador de estágios: PROF. PAULO GOUDIN

Nome do supervisor: ENG.-AGR. GILMAR BARCELOS KUHN

Local do estágio: EMBRAPA-CNPBV

Endereço: RUA LIVRAMENTO, 515 - CAIXA POSTAL 130 - CEP: 95700-000

Fone: (054) 451.2144 Cidade: B. GONÇALVES Estado: RIO GRANDE DO SUL

AVALIAÇÃO (nota de 1 a 10)

1. Conhecimentos gerais	9	4,0 a 4,9 = E <input type="checkbox"/>
2. Conhecimentos específicos	8	5,0 a 5,9 = D <input type="checkbox"/>
3. Assiduidade	10	6,0 a 7,5 = C <input type="checkbox"/>
4. Criatividade	9	7,5 a 8,9 = B <input type="checkbox"/>
5. Responsabilidade	10	9,0 a 10 = A <input checked="" type="checkbox"/>
6. Iniciativa	9	
7. Disciplina	10	MÉDIA
8. Sociabilidade	10	9,3

Outras observações: Teve participação efetiva mostrando interesse por outras áreas da Vitivinicultura.

Data da avaliação: 30/03/1994

S. ...
SUPERVISOR