

Compatibilidade da enxertia em videira.

Deteção precoce através da análise de compostos fenólicos

Face ao problema da falta de compatibilidade da enxertia em videira, num projeto de investigação pioneiro foi estudada a composição fenólica de tecidos da zona de enxertia. Os resultados obtidos são promissores e revelam que a análise de três compostos fenólicos poderá ser utilizada para prever o grau de compatibilidade entre casta e porta-enxerto, por forma a selecionar atempadamente combinações viáveis a utilizar na instalação de futuras vinhas.

A enxertia é uma técnica milenar amplamente utilizada em viticultura, cuja expansão nos países do velho mundo vitivinícola remonta ao final do século XIX. Com efeito, com a devastação quase total da vinha na Europa causada pela filoxera^(*) a partir de 1860, compreendeu-se que as espécies americanas de videira eram resistentes a esta praga e, por conseguinte, começaram a ser utilizadas como porta-enxertos das variedades/castas de videira europeia – *Vitis vinifera*. Com esta prática é possível obter resistência a pragas e doenças transmitidas através do solo, bem como tolerância a certas condições desfavoráveis (como a elevada salinidade, a secura e o excesso de acidez do solo, entre outras), para além de ser assegurada a propagação, um maior rendimento produtivo e o controlo do vigor da videira (Lee et al., 2010).

O ciclo de enxertia

Atualmente, na instalação da vinha recorre-se sobretudo a videiras já enxertadas, isto é, a enxertos prontos. Estas plantas resultam da enxertia realizada na mesa, em oposição à tradicional enxertia feita no campo, cujo ciclo de produção é resumidamente composto pelas seguintes fases (Garrido, 2012) – Figura 1:

- Enxertia – recorrendo a uma máquina, procede-se ao corte e à união de uma estaca de porta-enxerto a um garfo (casta a enxertar). O tipo de enxertia mais comum é em ómega, em que o corte tem a forma da letra grega com esse nome;

- Calogénese ou estratificação – processo de soldadura do garfo e porta-enxerto numa câmara apropriada, com controlo da temperatura, da humidade relativa e da luz;
- Enraizamento – as plantas enxertadas viáveis são colocadas, na primavera, em estufa ou em viveiro para que ocorra o seu enraizamento e desenvolvimento vegetativo;
- Final do ciclo de crescimento – no final do ciclo vegetativo (novembro-dezembro), procede-se geralmente ao arranque das

Sara Canas^(1,2), Maria Assunção^(1,3), Sara Cruz⁽¹⁾, João Brazão⁽¹⁾, José Eduardo Eiras Dias⁽¹⁾
(1) INIAV, I.P.



⁽²⁾ ICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora

⁽³⁾ Laboratório de Células Vegetais, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa (ITQB/UNL)

plantas e à sua triagem, sendo depois comercializadas as que são viáveis.

Falta de compatibilidade da enxertia: um problema por resolver

Pese embora a importância da enxertia, o conhecimento adquirido sobre esta prática vitícola e o avanço da tecnologia que lhe está associada, constata-se que a enxertia nem sempre é bem sucedida, ou seja, não existe sempre compatibilidade entre a casta

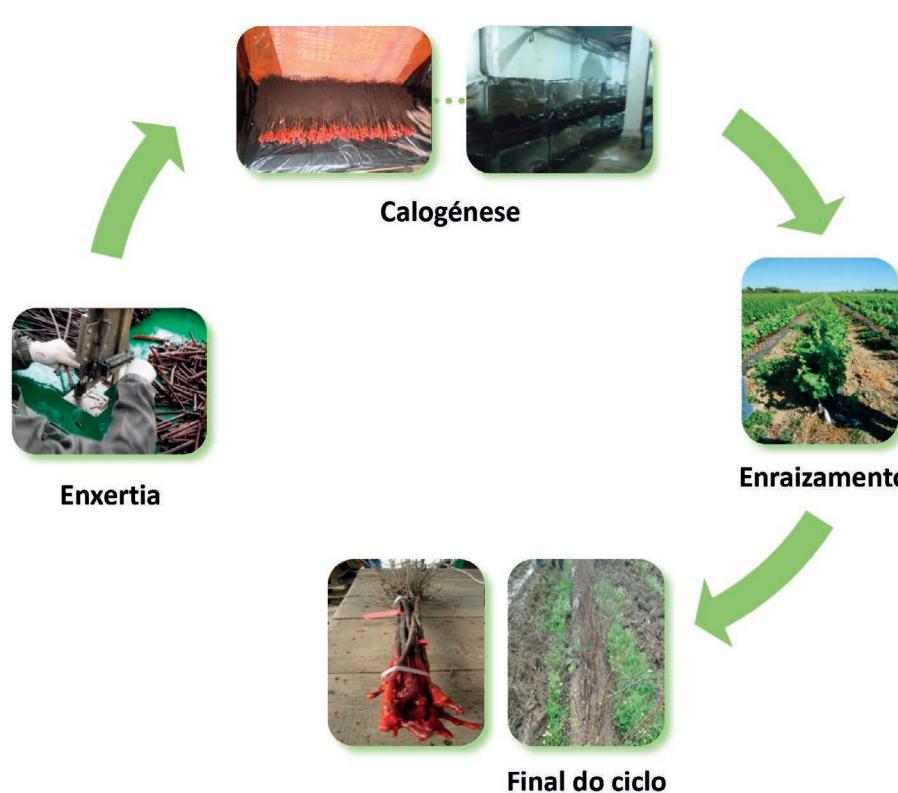


Figura 1 – Principais fases do processo de produção de enxertos prontos

^(*) A filoxera (*Dactylospheara vitifoliae*) é um inseto da ordem dos hemípteros. Também se dá o nome de filoxera à infecção da videira provocada por este inseto, que ataca as raízes da planta.

e o porta-enxerto de que resulte uma planta capaz de se desenvolver normalmente. Na prática, tem sido observado que combinações da mesma casta com diferentes porta-enxertos, ou do mesmo porta-enxerto com diferentes castas, podem exibir diversos graus de compatibilidade, isto é, distintas taxas de sucesso da enxertia (Figura 2).

Um baixo grau de compatibilidade pode traduzir-se em (Rieger, 2008):

- Diferenças entre o crescimento e/ou o vigor do garfo e do porta-enxerto;
- Amarelecimento ou vermelhidão das folhas, nas castas brancas ou tintas, respetivamente, seguido de desfolha precoce;
- Aparecimento de fendas no tecido lenhoso próximo da união do enxerto;
- Tumefação da união do enxerto;
- Existência de áreas necróticas (tecidos mortos) no tronco;
- Crescimento vegetativo reduzido;
- Definhamento e morte da planta enxertada.

E portanto, implica um prejuízo para o viveirista, quando se revela durante o ciclo de enxertia, ou para o viticultor, sendo neste caso agravado pelo facto de os sintomas surgirem em vinhas já instaladas e com um desenvolvimento aparentemente normal.

Tratando-se de um problema que afeta seriamente a viticultura à escala mundial, têm sido realizados diversos trabalhos de investigação no sentido de compreender as suas causas e de descobrir uma solução. Contudo, apesar dos importantes avanços alcan-

çados, ainda não foi encontrada uma forma de resolver este problema.

O interesse da deteção precoce. Qual o papel dos compostos fenólicos?

Face à inexistência de solução para a falta de compatibilidade em certas combinações casta/porta-enxerto, uma maneira de minimizar o prejuízo referido poderá residir na deteção precoce da mesma, ou seja, saber se a casta e o porta-enxerto são menos ou mais compatíveis através de análises dos tecidos da zona de enxertia, tão cedo quanto possível no ciclo de enxertia, para selecionar as combinações mais compatíveis.

É sabido que os compostos fenólicos – designação respeitante a uma família química que se encontra presente em praticamente todas as plantas – possuem um vasto conjunto de atividades biológicas. Na videira, como em outras plantas, estes compostos desempenham funções de defesa e a sua produção é desencadeada por situações de stress, como ferimentos e infecção por pragas e/ou doenças (Bennett e Wallsgrove, 1994).

Como a enxertia constitui um ferimento, provoca uma produção substancial de compostos fenólicos, que se acumulam na união do garfo/porta-enxerto e nos tecidos circundantes. A investigação realizada tem revelado ainda que estes compostos estão intensamente envolvidos em vários fenómenos que vão ocorrendo nessa zona durante o ciclo de enxertia, tais como a formação do calo de enxertia e o estabelecimento de uma

ligação funcional entre os vasos do garfo e os do porta-enxerto.

Por outro lado, trabalhos efetuados em outras espécies fruteiras têm demonstrado que a diferença na concentração de compostos fenólicos entre os tecidos do garfo e do porta-enxerto está associada ao insucesso da enxertia (Hudina et al., 2014).

Assim, uma análise química baseada na deteção de compostos fenólicos e na determinação das suas concentrações nos tecidos da zona de enxertia pode constituir uma forma de prever o grau de compatibilidade entre variedades da espécie europeia (*Vitis vinifera*) e os porta-enxertos usados.

Estratégia de investigação

Neste contexto, foi realizado um projeto de investigação(**) pioneiro, entre 2012 e 2015, sob coordenação do INIAV e com a participação do ITQB/UNL e dos Viveiros PLANSEL, em que se procurou compreender os mecanismos envolvidos na enxertia da videira e, em particular, o comportamento dos compostos fenólicos visando o estabelecimento de um processo de deteção precoce da compatibilidade garfo/porta-enxerto.

Para o efeito foi desenvolvido e validado um método de análise química, por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), que permite identificar e quantificar compostos fenólicos presentes nos tecidos da zona de enxertia: catequina, epicatequina, ácidos gálico, ferúlico, cafeico, clorogénico e sínápico (Canas et al., 2015).

O método foi então aplicado na análise de tecidos de três secções – união do enxerto, 1 cm acima (garfo) e 1 cm abaixo (porta-enxerto) – de plantas pertencentes a quatro combinações entre dois clones da casta Syrah (ENTAV-INRA/FR 470 e 383) e dois porta-enxertos (110R – clone JBP/PT 2 e SO4 – clone ENTAV-INRA/FR 157) – Figura 3. Os clones foram selecionados com base na informação publicada pelo Etablissement National Technique pour l'Amélioration de la Viticulture (ENTAV), segundo a qual o clone Syrah 383 é mais problemático (menos compatível), tal como o porta-enxerto 110R, que inclusivamente deixou de ser recomendado para a enxertia com Syrah.

O material vegetal certificado foi adquirido a um viveirista francês ou fornecido pelos Viveiros PLANSEL, tendo sido realizado neste último todo o ciclo de enxertia. No fi-



Figura 2 – Aspetto de plantas resultantes de uma combinação casta/porta-enxerto mais compatível (a) e menos compatível (b), na fase de enraizamento

(**) Projeto PTDC/AGR-PRO/118081/2010 – “Uso da sequenciação em larga escala de pequenos RNAs e análise transcriptómica no estudo da incompatibilidade da enxertia em videira (*Vitis spp.*), financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

nal das fases de calogénese (abril de 2012), de enraizamento (maio-julho de 2012) e de final do ciclo de crescimento (dezembro de 2012) procedeu-se à amostragem de quinze plantas de cada combinação, cujos tecidos de interesse foram preparados e analisados. Os dados resultantes da análise cromatográfica foram sujeitos a tratamento estatístico, que consistiu numa análise de variância (ANOVA) e num teste de comparação das médias (mínima diferença significativa). Os principais resultados obtidos são apresentados no Quadro 1.

Resultados promissores

A análise da composição fenólica dos tecidos em estudo revelou que:

- A concentração dos compostos fenólicos nas plantas enxertadas encontra-se estreitamente relacionada com a combinação casta/porta-enxerto e varia ao longo do ciclo de enxertia, o que evidencia o envolvimento destes compostos nos fenómenos menos associados à enxertia.
- De entre os sete compostos estudados, o ácido gálico, o ácido ferúlico e o ácido sinápico são os principais responsáveis pelas diferenças de composição entre as combinações casta/porta-enxerto com diferentes graus de compatibilidade. Efectivamente, uma concentração mais elevada de ácido gálico e concentrações mais baixas de ácido ferúlico e ácido sinápico permitem distinguir as combinações menos compatíveis (Syrah383/110R e Syrah383/SO4) das mais compatíveis (Syrah470/110R e Syrah470/SO4).
- Por outro lado, em resposta à enxertia, estes ácidos acumulam-se na união do enxerto e nas secções adjacentes, sendo observada uma diferença significativa da sua concentração entre os tecidos do garfo (secção acima da enxertia) e os tecidos do porta-enxerto (secção abaixo da enxertia).
- Esta diferença é mais marcada na fase de enraizamento, em que ocorre também

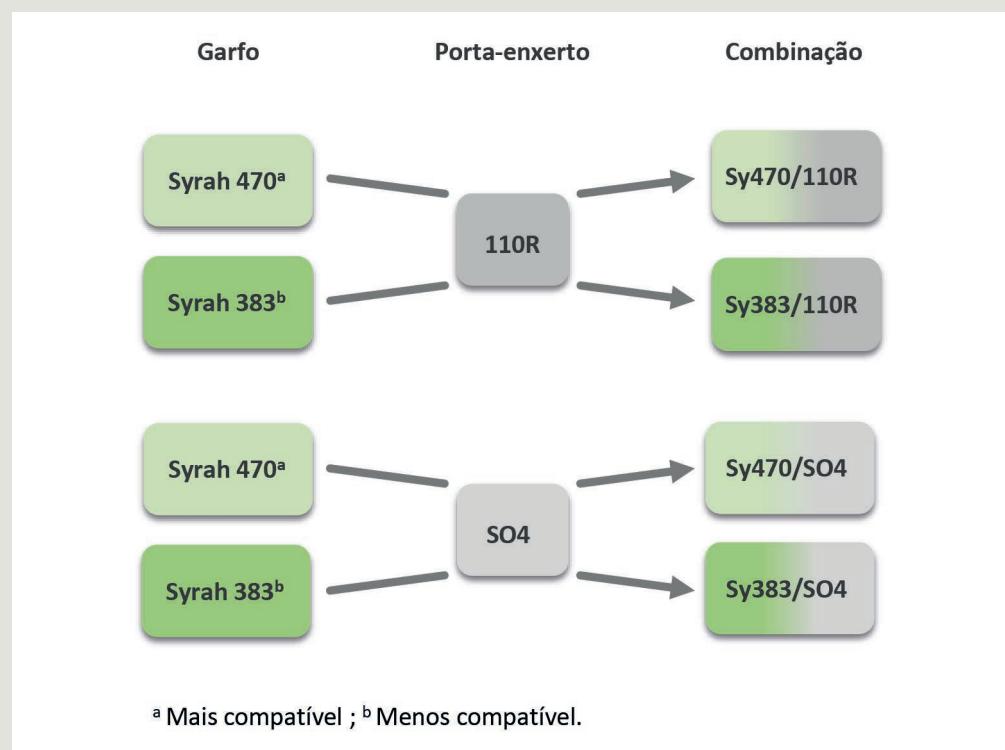


Figura 3 – Combinações garfo/porta-enxerto estudadas

maior acumulação dos compostos fenólicos analisados (elementos com função relevante no sistema de defesa da planta), provavelmente devido a uma atividade metabólica mais intensa e/ou a um maior nível de stress provocado na planta com a transferência para o campo. Estes aspectos sugerem que o enraizamento constitui a fase mais crítica do ciclo de enxertia.

- Portanto, a análise dos ácidos gálico, ferúlico e sinápico pode constituir uma ferramenta muito útil para a deteção precoce da compatibilidade da enxertia em videira. A sua quantificação nas secções acima e abaixo da união do enxerto, preferencialmente na fase de enraizamento, pode ser utilizada para prever o grau de compatibilidade entre clones da casta Syrah e os porta-enxertos 110R e SO4, por forma a selecionar combinações viáveis a utilizar na instalação de futuras vinhas.

Perspetiva-se já a continuidade do estudo, envolvendo outras castas e porta-enxertos com expressão relevante no panorama vitivinícola português. ☺

Agradecimentos

Os autores agradecem à Eng.^a Teresa Roque e ao Eng. José Valadas, dos Viveiros PLANSEL, pela colaboração prestada na monitorização e manutenção das plantas, à Dr.^a Margarida Teixeira, do INIAV, pela colaboração no trabalho de campo e amostragem das plantas, bem como pela cedência das fotografias.

Bibliografia

- Bennett, R.; Wallsgrove, R.M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127, 617-633.
- Canas, S.; Assunção, M.; Brazão, J.; Zanol, G.; Eiras-Dias, J. (2015). Phenolic compounds involved in grafting incompatibility of *Vitis* spp: Development and validation of an analytical method for their quantification. *Phytochemical Analysis*, 26, 1-7.
- Garrido, J. (2012). Enxerto pronto: Uma afirmação da viti-cultura portuguesa. *AGROTEC* 5, 106-108.
- Hudina, M.; Orazem, P.; Jakopic, J.; Stampar, F. (2014). The phenolic content and its involvement in the graft incompatibility process of various pear rootstocks (*Pyrus communis* L.). *Journal of Plant Physiology*, 171, 76-84.
- Lee, J.M.; Kubota, C.; Tsao, S.J.; Bie, Z.; Echevarria, P.H.; Morra, L.; Oda, M. (2010). Current status of vegetable grafting: diffusion, grafting techniques, automation. *Scientia Horticulturae*, 127, 93-105.
- Rieger, T. (2008). Syrah vine health issues explored at UCD Symposium. *Vineyard & Winery Management*, Jan/Feb, 1-4.

QUADRO 1 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE COMPOSTOS FENÓLICOS (mg/L) EM FUNÇÃO DA FASE DO CICLO DE ENXERTIA, DA COMBINAÇÃO GARFO/PORTA-ENXERTO E DA SECÇÃO							
	Ácido gálico	Ácido ferúlico	Ácido cafeico	Ácido sinápico	Ácido clorogénico	Catequina	Epicatequina
Fase do ciclo							
Calogénese	0,86 b	0,22 a	0,54 b	6,48 a	0,04 a	21,55 c	5,09 b
Enraizamento	1,01 c	0,35 b	0,57 b	11,75 b	0,25 b	19,11 b	4,31 a
Final do ciclo	0,27 a	0,24 a	0,08 a	38,96 c	0,59 c	8,43 a	4,29 a
Combinação							
Sy470/110R	0,88 b	0,36 b	0,42 b	21,43 b	0,12 a	15,05 a	4,35 ab
Sy383/110R	1,03 c	0,24 a	0,34 a	19,10 ab	0,48 c	16,77 b	4,65 b
Sy470/SO4	0,44 a	0,24 a	0,47 b	20,79 b	0,35 b	16,97 b	5,16 c
Sy383/SO4	0,50 a	0,23 a	0,36 a	14,94 a	0,22 a	16,65 b	4,08 a
Secção							
Acima da união	0,22 a	0,33 b	0,41 b	24,61 b	0,20 a	16,17	6,26 c
União do enxerto	1,02 c	0,30 b	0,49 b	22,76 b	0,37 b	16,02	2,75 a
Abaixo da união	0,89 b	0,17 a	0,29 a	9,82 a	0,31 b	16,89	4,67 b

Para cada fator estudado (fase do ciclo, combinação, secção), valores na mesma coluna seguidos de letras distintas são significativamente diferentes ($p<0,05$).